

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger
Ecole Doctorale de Biotechnologies Végétales
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biotechnologies Végétales
Option : Biotechnologies Végétales

Effet des pgpr (pseudomonas spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire

Présentée Par : BOUKERMA Lamia

Directeur de thèse BENCHABANE M. Maître de Conférences, Université de Blida
Soutenu à l'ENSA, le : 23/01/ 2012

devant le jury composé de : Président KHELIFI L. Professeur, ENSA El Harrach Examineurs
BELKAHLA H. Professeur, Université de Blida OUNANE S.M. Professeur, ENSA El Harrach

Table des matières

REMERCIEMENTS ..	5
RESUME ..	6
ABSTRACT ..	7
ص غلم ..	8
LISTE DES ABREVIATIONS ..	9
INTRODUCTION ..	11
PARTIE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ..	13
1. PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA(PGPR) ..	13
1.1. Généralités ..	13
1.2. Pseudomonas fluorescents ..	14
2. FUSARIOSE VASCULAIRE ..	21
2.1. Processus d'infection et symptomatologie ..	22
2.2. Lutte ..	24
3. RESISTANCES DES PLANTES ..	25
3.1. Résistance non génétique ..	25
3.2. Résistance génétique ..	26
PARTIE II :MATHERIEL ET METHODES ..	39
1. MATERIEL BIOLOGIQUE ..	39
1.1. Souches bactériennes ..	39
1.2. Souche fongique ..	39
1.3. Espèce végétale ..	39
2. SOL ..	40
3. CONDITIONS D'EXPERIMENTATION ..	41
4. DISPOSITIF EXPERIMENTAL ..	41
4.1. Système split root ..	42
4.2. Système Classique ..	44
5. INOCULATION ..	44
5.1. Inoculum bactérien ..	44
5.2. Inoculum fongique ..	45
6. ANTAGONISME <i>IN VITRO</i> ..	46
7. PARAMETRES ETUDIES ..	46
7.1. Evolution de la maladie ..	47
7.2. Aspects physiologique et biochimique ..	49
7.3. Croissance et production ..	52
8. VIABILITE ET DYNAMIQUE DES PSEUDOMONAS ET DE FOL ..	52
9. ANALYSE STATISTIQUE ..	53
PARTIE III :RESULTATS ET DISCUSSIONS ..	54
1. ANTAGONISME <i>IN VITRO</i> ..	54
2. EVOLUTION DE LA MALADIE ..	57
2.1. Taux d'infection ..	57

2.2. Indice de Mckinney (sévérité) . . .	58
2.3. Comparaison entre les taux d'infection et les indices de Mckinney . . .	59
2.4. Gravité de la fusariose . . .	60
2.5. Taux de bioprotection . . .	63
2.6. Discussion . . .	65
3. ASPECTS PHYSIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE . . .	72
3.1. Chlorophylle totale . . .	72
3.2. Proline . . .	75
3.3. Protéines totales . . .	77
4. CROISSANCE ET PRODUCTION . . .	81
4.1. Croissance aérienne . . .	81
4.2. Croissance racinaire . . .	86
4.3. Production . . .	89
4.4. Discussion . . .	90
5. VIABILITE ET DYNAMIQUE DES PSEUDOMONAS ET DE FOL . . .	92
6. DISCUSSION GENERALE . . .	96
CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATION . . .	100
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES . . .	102
ANNEXES . . .	132
Annexe 1 : Fiche technique de la variété Marmande V (Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles, Staoueli, ITCMI) . . .	132
Annexe 2 : Moyennes des températures par semaine enregistrées sous serre. . .	133
Annexe 3 : Milieux de culture . . .	133
Annexe 4 : Analyse statistique des diamètres de croissance de FOL . . .	134
Annexe 5 : Analyse statistique de l'évolution de la maladie et des taux de bioprotection . . .	134
Annexe 6 : Analyse statistique des teneurs en chlorophylle . . .	135
Annexe 7 : Analyse statistique des teneurs en proline . . .	136
Annexe 8 : Analyse statistique des teneurs en protéines totales . . .	137
Annexe 9 : Analyse statistique des paramètres de croissance et de production . . .	138
Annexe 9 (suite) : Analyse statistique des paramètres de croissance . . .	139
Annexe 10 : Analyse statistique des concentrations finales bactériennes et fongiques . . .	140

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer mon entière gratitude et mon profond respect à mon promoteur Monsieur Benchabane M., Maître de conférences à l'université de Blida, d'avoir accepté la direction de ce travail. Ses grandes qualités scientifiques et ses compétences ont contribué largement dans l'élaboration de ce manuscrit et dans mon enrichissement personnel et professionnel. Je le remercie également de m'avoir enseigné dans la bonne humeur, la pratique des sciences et la rigueur au travail. Je garderai toujours le souvenir de votre enseignement et de votre humanité.

C'est avec beaucoup de reconnaissance que j'adresse mes sincères remerciements à Monsieur KHELIFI L. Professeur à l'ENSA d'El Harrach, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à Madame BELKAHLA H. Professeur à l'université de Blida et à Monsieur OUNANE S.M. Professeur à l'ENSA d'El Harrach, de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens aussi à remercier Monsieur SNOUSSI S.M. Professeur à l'Université de Blida de m'avoir accueilli au sein de son service « Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales ».

Je voudrais également remercier M^{elle} FADIL D., M^m KESRI S. et M^rAIT SAADI N., Ingénieurs des laboratoires de mycologie, de microbiologie et de biotechnologie pour leurs encouragements.

Je ne trouve pas de mots pour remercier les deux personnes les plus chères dans ma vie : ma mère et mon père. Sans eux, sans leur amour, leur sacrifice, leur patience et leur confiance, je ne serais jamais arrivée là. Vous êtes la lumière de ma vie, je vous aime énormément, merci beaucoup, que Dieu vous bénisse et vous garde.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi à mes frères et ma sœur ainsi qu'à toute ma famille, pour leurs soutiens tout au long de ce travail.

Je voudrais également exprimer mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce manuscrit, par leurs aides et leurs conseils, particulièrement : MEGATELI S., ABBAD M., BEN HALIMA S., TOUMI K. et LAMINE S.

Effet des PGPR (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire

RESUME

Certaines bactéries bénéfiques de la rhizosphère (rhizobactéries) contribuent à la gestion des maladies des plantes, avec des pratiques respectueuses de l'environnement, en stimulant les défenses naturelles chez l'hôte et/ou en assurant le biocontrôle direct des bioagresseurs.

L'objectif de ce travail consiste à mettre en évidence l'induction de la résistance systémique et le biocontrôle chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*), en utilisant deux souches rhizobactériennes (*Pseudomonas fluorescens* C7R12 et *Pseudomonas putida* DS131). A cet effet, l'essai préliminaire d'antagonisme *in vitro* a montré des inhibitions appréciables et variables de la croissance mycélienne, selon les souches bactériennes et selon les milieux de culture, avec un maximum d'inhibition de 47,13 %. L'expérimentation *in situ* a été réalisée en deux systèmes : split root pour l'induction de la résistance systémique et classique pour le biocontrôle. Les effets bénéfiques des rhizobactéries appliquées ont été démontrés avec un ralentissement d'évolution et du développement de la maladie. Des taux de bioprotection considérables sont notés, notamment en système split root. Ces taux se révèlent particulièrement importants en réduction des indices de McKinney (sévérités) (37,17 % à 71,88 %) que des niveaux d'infection (7,41 % à 35,83 %). La gravité de la fusariose vasculaire a enregistré une réduction notable des degrés symptomatologiques chez les plants bactérisés par rapport aux témoins positifs. En plus de ces effets de biocontrôle et d'induction de la résistance systémique, l'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents a engendré des situations de phytostimulations se traduisant par des gains dans la biomasse et une nette amélioration des aspects physiologique et biochimique (chlorophylle totale, proline et protéines totales). Globalement, nos résultats montrent que l'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents induit une tolérance chez les plants de tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire, selon les potentialités exprimées, en stimulant les défenses naturelles et/ou en agissant par antagonisme direct sur le parasite.

Mots clés : *Pseudomonas* spp. fluorescents, Bioprotection, Induction de la Résistance Systémique, Phytostimulation.

Effect of PGPR (*Pseudomonas* spp. fluorescents) on biocontrol and the induction of systemic resistance (ISR) in tomato against fusarium wilt

ABSTRACT

Some beneficial bacteria in the rhizosphere (rhizobacteria) contribute to the management of plant diseases with environmentally friendly practices, stimulating the natural defenses in the host and/or by direct biocontrol of pest.

Our objective is to demonstrate the induction of systemic resistance and biocontrol in tomato against fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*), using two strains of rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* C7R12 and *Pseudomonas putida* DS131). For this purpose, the preliminary test of antagonism in vitro showed significant inhibitions and variable mycelial growth, according to the bacterial strains and in the culture media, with maximum inhibition (47,13 %). The in situ experiment was conducted in two systems: split root for the induction of systemic resistance and classical for biocontrol. The beneficial effects of rhizobacteria applied have been demonstrated with a slowdown of evolution and development of the disease. Considerable rates of bioprotection are noted, in particular in split root system. These rates are especially important in reducing indices McKinney (severity) (37,17 % to 71,88 %) than the levels of infection (7,41 % to 35,83 %). The gravity of fusarium wilt has been a significant reduction in symptomatology degrees compared to positive controls. In addition to these effects of biocontrol and induction of systemic resistance, the application of *Pseudomonas* spp. fluorescents has led to situations of phytostimulation resulting in gains in biomass and a significant improvement in physiological and biochemical aspects (total chlorophyll, total protein and proline). Globally, our results show that the application of *Pseudomonas* spp. fluorescents induced tolerance in tomato plants against fusarium wilt, as the potential expressed by stimulating the natural defenses and/or acting in direct opposition to the parasite.

Key words: *Pseudomonas* spp. fluorescents, Bioprotection, Induction of Systemic Resistance, Biophytostimulation.

ص خ لم

إستعمال البكتريا الجذرية (*Pseudomonas spp. fluorescents*) في المكافحة البيولوجية و تفعيل المقاومة الجهازية لدى نبات الطماطم ضد مرض الذبول الفرسبلي

بعض البكتيريا النافعة المتلازمة في نعالشها في المنطقة الملاصقة لجذور النبات تساهم في الوفاية من الأمراض النباتية بتطبيقات محافظة للبيئة، و ذلك بتحفيز القدرات الدفاعية الطبيعية لدى النبات و/أو المكافحة الحيوية المباشرة ضد الطفيليات.

الغرض من هذه الدراسة هو إظهار مفعول تنشيط القدرات الدفاعية الطبيعية الجهازية و المكافحة البيولوجية لدى نبت الطماطم ضد مرض الذبول الفرسبلي (*Fusarium. oxysporum f. sp. lycopersici*)، وذلك باستخدام سلالتين من البكتيريا النافعة (*Pseudomonas putida* DS131 و *Pseudomonas fluorescens* C7R12). النتائج المخبرية الأولية أظهرت أثر ايجابي في توقيف النمو الفطري وذلك باختلاف السلالات البكتيرية و الأوساط المغذية، مع تثبيت كحد أقصى 47.13٪. التجربة الميدانية أجريت في نظامين : split root : للتنشيط المقاومة الطبيعية و classique من أجل المكافحة البيولوجية. وقد أظهرت النتائج آثار مفيدة لتطبيق البكتيريا النافعة وذلك بتباطؤ ظهور وتطور المرض. نسب حماية حيوية ملموسة قد سجلت و خاصة في نظام split root. هذه النسب هي ذات أهمية خاصة في الحد من شدة خطورة المرض (37.17٪ إلى 71.88٪) بالمقارنة مع مسؤيات ظهوره (7.41٪ إلى 35.83٪). بالإضافة إلى هذه الآثار الإيجابية في من المكافحة الحيوية وتحفيز المقاومة الطبيعية، تطبيق البكتيريا النافعة حقق زيادة في الكتلة الحيوية وتحسين في الجوانب الفسيولوجية والبيوكيميائية (مجموع الكلوروفيل، البرولين ومجموع البروتين). عموماً، نتاجنا تظهر أن تطبيق البكتيريا النافعة *Pseudomonas spp. fluorescents* يجعل نبات الطماطم مقاوم لمرض الذبول الفرسبلي، وذلك من خلال تحفيز الدفاعات الطبيعية و/أو المكافحة البيولوجية للطفيلي.

الكلمات المفتاحية : *Pseudomonas spp. fluorescents*، تحفيز الدفاعات الطبيعية، المكافحة البيولوجية و تحسين نمو النبات.

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ACC** : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
- **A** :Absorbance
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AHL**: N-acyl homoserines lactones
- **AIA** : Acide indole 3-acétique
- **AJ** : Acide jasmonique I
- **ARN**: acide ribonucléique
- **ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique
- **AS** : Acide salicylique
- **A. thaliana**: Arabidopsis thaliana
- **BABA** : Acide β -aminobutyrique
- **C** : Degré de Celcius
- **cm**: Centimètre
- **cfu**: Colony Forming Unit
- **DAPG** : 2,4diacetylphoroglucinol
- **ECF δ** : Extra cytoplasmic sigma factors
- **ETS** :Effector-triggered susceptibility
- **ETI**:Effector-triggered immunity
- **ET**: Ethylène
- **FOL** : *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*
- **HCN** : Acide cyanhydrique
- **h**: heure
- **INA**: Acide 2,6-dichloroisonicotinique
- **IRS** : Induction de la résistance systémique
- **ISR** : Induced Systemic Resistance
- **g** : Gramme
- **MF**: Matière fraîche
- **mg**: Milligramme
- **ml** : Millilitre
- **mm** :Millimètre
- **NPR1**: Non-Expressor of Pathogenesis-Related Genes1
- **PAL**: Phénylalanine ammonia-lyase
- **P/MAMP**: Pathogen or Microbe-Associated Molecular Patterns
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **P. fluorescens** : Pseudomonas fluorescens
- **PGPR**: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
- **pH** : potentiel Hydrique

- **PHL**: 4-diacetylphloroglucinol
- **PO**: Peroxidase
- **PPO** : Polyphénol oxydase
- **PR** : Pathogenesis-Related
- **PRR**: Pattern-recognition receptors
- **PTI**: PAMP-triggered immunity
- **QS**: Quorum sensing
- **RH** :Réaction d'hypersensibilité
- **ROS** :Reactive oxygen species
- **SAR** :Systemic Aquired Resistance
- **SDN** : Stimulateurs des défenses naturelles des plantes
- **µg** : Microgramme

INTRODUCTION

L'importance des dégâts occasionnés aux cultures par les bio-agresseurs contraint l'agriculteur de recourir à des mesures de protection, où la lutte chimique par l'usage de pesticides de synthèse à toujours constituer la solution la plus appropriée à mettre en œuvre, dans des conditions économiques supportables. Ainsi, le recours aux intrants chimiques est devenu indispensable en raison de leur contribution dans l'augmentation et l'amélioration des productions agricoles (Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et al., 2005).

Globalement, à l'échelle mondiale malgré les bonnes volontés appelant et même exigeant la diminution des pesticides en agriculture, le volume de ces produits ne cesse d'augmenter dans la balance commerciale. L'utilisation abusive de ces produits chimiques a soulevé de grands problèmes écologiques (Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et al., 2005). Ces interventions présentent des effets néfastes sur l'environnement, en favorisant le développement de la résistance aux matières actives utilisées et peuvent être à l'origine de grands problèmes de santé, liés aux résidus de pesticides dans les denrées alimentaires (El Guilli et al., 2009).

En Algérie, pour améliorer les rendements et renforcer leurs potentiels productifs, nos agriculteurs augmentent de plus en plus le nombre et la qualité des matières actives, surtout avec l'installation de diverses firmes multinationales. Déjà en 2006, environ 400 produits phytosanitaires ont été homologués en Algérie (Bouziani, 2007). Toutefois, quelques analyses ont été effectuées sur des échantillons d'eau prélevés dans notre pays (Staoueli et Annaba) ont montré que la concentration de certaines molécules organochlorées et organophosphorées dépasse les valeurs préconisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Bordjiba, 2009).

La création de génotypes végétaux résistants semble efficace et remédiable pour une telle situation mais son utilisation reste très limitée à quelques types de maladies, notamment avec le développement de nouveaux types de pathogènes résistants et les possibilités d'écroulement de cette résistance génétique (Louvet, 1979). Selon Corbaz, (1981), il a fallu 15-16 ans pour l'obtention de variétés résistantes et trois à quatre ans pour l'apparition de nouvelles races !

Pour faire face à ces problèmes, ces limitations et pour une exploitation durable des agro-écosystèmes, des solutions alternatives sont donc recherchées. De nouvelles stratégies biotechnologiques ont pour but d'introduire de micro-organismes 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 ont ouvert de nouvelles voies pour une agriculture durable et plus respectueuse de l'environnement (Gust et al., 2010). Ces dernières années l'induction de la résistance par les microorganismes phytobénéfiques est largement exploitée (Baluska et Ninkovic, 2010).

Le contrôle biologique des maladies telluriques par l'introduction de micro-organismes 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 (PGPR, Plant Growth Promoting Rhizobacteria), notamment *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été exploités comme des inoculants pour l'induction

de la résistance systémique chez les plantes, le biocontrôle, la biofertilisation et la phytostimulation (Choudhary et al., 2009).

Dans ce contexte, notre objectif consiste à exploiter les potentialités des PGPR (*Pseudomonas fluorescens* C7R12 et *Pseudomonas putida* DS131), afin de mettre en évidence leurs effets de biocontrôle et d'induction de la résistance systémique chez les plants de tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire.

La tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) constitue la plante hôte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, considérée comme un modèle, largement utilisé dans des études relatives à l'induction de la résistance systémique et le biocontrôle par les PGPR (Fuchs et al., 1997 ; M'piga et al., 1997; Siddiqui et al., 2006). En plus, cette plante est l'un des légumes les plus importants dans l'alimentation humaine et le plus consommé dans le monde après la pomme de terre (Nelson, 2008).

Le genre *Fusarium* renferme de nombreux agents pathogènes, connus par leur virulence et leur agressivité sur diverses espèces végétales. La fusariose vasculaire de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* est parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, provoquant des pertes appréciables (Alabouvette, 1986, 1999). La maîtrise de cette pathologie végétale demeure inefficace en l'absence de génotypes réellement résistants, en plus de la difficulté du contrôle chimique du pathogène, qui envahit la plante par voie systémique (trachéomyose), leurs structures fongiques sont difficiles à atteindre dans le sol (conservation durable).

PARTIE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA(PGPR)

1.1. Généralités

Les interactions microorganismes-plantes dans la rhizosphère ont une grande influence sur l'état sanitaire des plantes et sur la qualité des sols. Ces micro-organismes peuvent s'associer aux racines et aider la plante à tolérer les stress abiotiques et biotiques, notamment le déficit hydrique, les déséquilibres nutritionnels et les attaques des phytopathogènes (Jaizme-Vega et al., 2004). La lutte biologique contre les maladies cryptogamiques ou bactériennes des plantes fait souvent appel aux communautés bactériennes vivant dans le sol, particulièrement celles adaptées aux rhizosphères (rhizobactéries) (Suty, 2010), qui peuvent intervenir dans l'amélioration de la croissance et la protection des plantes (Leinhos, 1994 ; Zahir et al., 2004 ; Ryu et al., 2007). L'ensemble de ces rhizobactéries est regroupé sous le terme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) (Kloepper et Schroth, 1978 ; Kloepper et al., 1980).

Les PGPR sont caractérisés par une capacité d'adaptation physiologique et métabolique polyvalente (Sturz et Christie, 2003), formant un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques de la rhizosphère (Soltani, 2010). Ces rhizobactéries varient selon leur degré de proximité à la racine et l'intimité de l'association. En général, elles peuvent être séparées en PGPR extracellulaires, existant dans la rhizosphère ou dans l'espace intercellulaire du cortex racinaire (bactéries non symbiotiques) et des PGPR intracellulaires, qui pénètrent dans les cellules racinaires, généralement sont spécialisés dans la nodulation (bactéries symbiotiques) (Gray et Smith, 2004). Les genres connus comme PGPR : *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* (Fernando et al., 2005), *Serratia* (Liu et al., 1995), *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Caballero-Mellado et al., 2004).

L'installation des PGPR dans la rhizosphère est influencée par les substances libérées par les racines des plantes (Figure 1) (Prescott et al., 2003 ; Sturz et Christie, 2003). Ces rhizobactéries non seulement augmentent en nombre lorsque ces éléments nutritifs deviennent disponibles mais leur assemblage et leur fonction changent aussi (Prescott et al., 2003).

Dans les dernières décennies, l'utilisation des PGPR est devenue une alternative pour améliorer la production agricole (Vargas et al., 2009). Ces bactéries 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, ajouté à leurs mécanismes d'action bénéfiques, ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (Siddiqui, 2003), le renforcement des

capacités défensives des plantes contre les maladies (Van Loon et al, 1998), elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick et al., 1999).

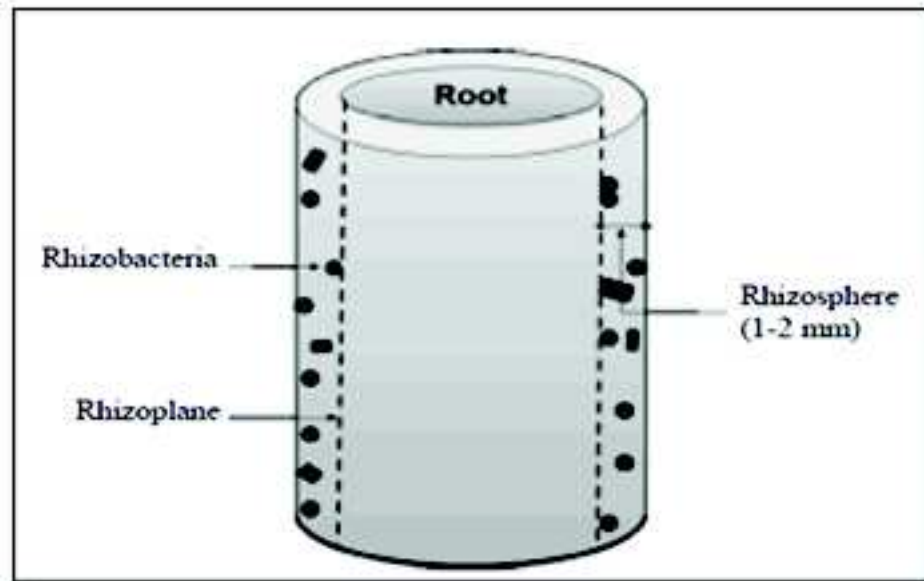


Figure 1 : Schéma représentant la rhizosphère (Vega, 2007)

Selon Somers et al., (2004), les PGPR peuvent se regrouper comme biofertilisants, phytostimulateurs, sont utilisés dans la formulation de biopesticides et forment d'importants rhizoremediateurs, en dégradant les composés xénobiotiques dans les sols contaminés (Jacobsen, 1997). Traditionnellement, les mécanismes d'action des PGPR sont regroupés en mécanismes directs et indirects (Iqbal et al., 2008 ; Khakipour et al., 2008 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009). Bien que la différence entre les deux n'est pas toujours évidente. En général, les mécanismes indirects se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs interagissent avec la plante et affectent directement son métabolisme (Iqbal et al., 2008). Les mécanismes directs sont : la production de molécules stimulatrices (substances volatiles et phytohormones), l'amélioration de l'assimilation des éléments nutritifs (libération du phosphate et d'oligo-éléments à partir de source insoluble, la fixation non-symbiotique de l'azote et la stimulation de la formation des symbioses) et l'induction des mécanismes de résistance aux maladies. Les effets indirects consistent à lutter contre les agents pathogènes en interagissant directement avec ces derniers, ce qui réduit l'intensité de la maladie (Jacobsen, 1997).

1.2. *Pseudomonas* fluorescents

Les *pseudomonas* sont parmi les bactéries les plus importantes dans la rhizosphère (Misko et Germida, 2002), sont des bacilles à Gram négatif de 0,5-1,3 μm de diamètre (Eyquem et al., 2000). Le genre *Pseudomonas* a été décrit en 1894 (Migula, 1894), englobe des bactéries ubiquitaires possédant une grande diversité, incluant des espèces saprophytes et parasites (Lefrère et Rouger, 2000 ; Choudhary et al., 2009). Ces bactéries se caractérisent par un métabolisme aérobie strict, certaines souches ont une respiration anaérobie avec le nitrate comme accepteur terminal d'électrons et/ou l'arginine. Les *pseudomonas* sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (Eyquem et al., 2000 ; Haas et Défago,

2005), sont rarement immobiles et sont non sporulés. La plupart des *Pseudomonas* se cultivent à 30 °C et se caractérisent par une croissance lente à 4 °C (Eyquem et al., 2000).

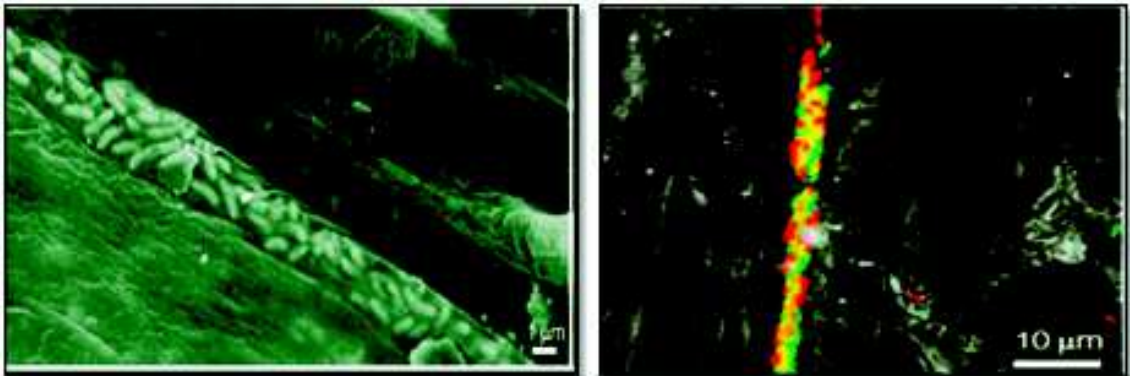


Figure 2 : Colonisation des racines par *Pseudomonas fluorescens* WCS365

A : Micrographie électronique à balayage d'une microcolonie de *Pseudomonas fluorescens* WCS365 sur la racine de la tomate (Chin-A-Woeng et al., 1997). B : Analyse microscopie confocale à balayage de la colonisation des racines de tomate par *P. fluorescens* WCS365, qui exprime des protéines autofluorescentes. Deux dérivées de WCS365 exprimant soit la protéine fluorescente bleu-vert (cellules rouges) ou la protéine fluorescente jaune (cellules vertes) ; le chevauchement des couleurs rouge et vert est indiqué en jaune (Bloemberg, 2000).

Différents critères ont été utilisés pour l'élaboration d'un système de classification des espèces de *Pseudomonas*. Ces bactéries ont été caractérisées phénotypiquement, en se basant sur plusieurs caractéristiques : la morphologie, la pigmentation, la réaction aux colorants et les exigences nutritionnelles (Jonhson et Palleroni, 1989 ; Palleroni, 1993). Pour élucider la réelle classification de ces pseudomonas, il est important de les caractériser génotypiquement (De Ley et De Vos, 1984). En 1973 Palleroni distingue cinq groupes par hybridation ARN/ADN. Les études taxonomiques se sont ensuite succédées en utilisant l'hybridation ADN/ADN et le séquençage de l'ARNr 16S afin d'aboutir à de profonds remaniements créant de nouvelles espèces et de nouveaux genres (Eyquem et al., 2000). Ces pseudomonas appartiennent à la sous-classe gamma Proteobacteria, à la famille des Pseudomonaceae et au genre *Pseudomonas*. Le genre *Pseudomonas* stricto sensu correspond au groupe I d'homologie d'ARNr de Palleroni qui englobe toutes les espèces fluorescentes (Palleroni, 1983, 1993).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été étudiés depuis des décennies pour leurs effets bénéfiques sur la stimulation de la croissance et la suppression efficace des maladies telluriques des plantes (Bakker et al., 2007). Ces rhizobactéries possèdent de nombreuses caractéristiques qui permettent leur utilisation dans la protection des cultures agricoles (Weller, 2007) ; elles montrent de multiples propriétés : l'utilisation efficace des exsudats racinaires, la colonisation et la multiplication dans la rhizosphère, la spermosphère et à l'intérieur des cellules végétales (Weller et al., 2002). La diversité métabolique des *Pseudomonas* spp. fluorescents confère à ces bactéries une plasticité importante pour s'adapter à de différents environnements (Latour et Lemanceau, 1997 ; Misko et Germida, 2002), ce qui implique leur utilisation comme biofertilisants, phytostimulateurs et agents de lutte biologique (Misko et Germida, 2002). Ces rhizobactéries fluorescentes sont devenues un modèle important pour les études écologiques de la rhizosphère et l'analyse du métabolisme secondaire bactérien (Coullerot et al., 2009).

1.2.1. Modes d'action

Durant la colonisation du système racinaire des plantes, les *Pseudomonas* fluorescents peuvent agir sur les phytopathogènes par leurs actions antagonistes en produisant des substances antimicrobiennes (Haas et Défago, 2005) et des enzymes lytiques des parois des champignons (Diby et al., 2005a ; Siddiqui et al., 2005). Comme ils peuvent exécuter leurs actions bénéfiques directement sur les plantes, en induisant leurs défenses naturelles (Haas et Défago, 2005 ; Van Loon et al., 1998) et/ou par la stimulation de leur croissance (Figure 3) (Derylo et Skorupska, 1993 ; Park et al., 2009).

1.2.1.1. Interaction *Pseudomonas*-pathogènes

L'utilisation des antagonistes microbiens contre les parasites des plantes dans les productions agricoles a été proposée comme solution de rechange ou complémentaire aux pesticides chimiques (Fernando et al., 2005). L'antagonisme a été mis en évidence par Kloepper et al., (1980), qui ont montré que *P. fluorescens* et *P. putida* exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des champignons et des bactéries telluriques. Ces rhizobactéries ont présenté une forte colonisation des racines de plusieurs plantes et une augmentation significative de leur rendement (Kloepper et al., 1980).

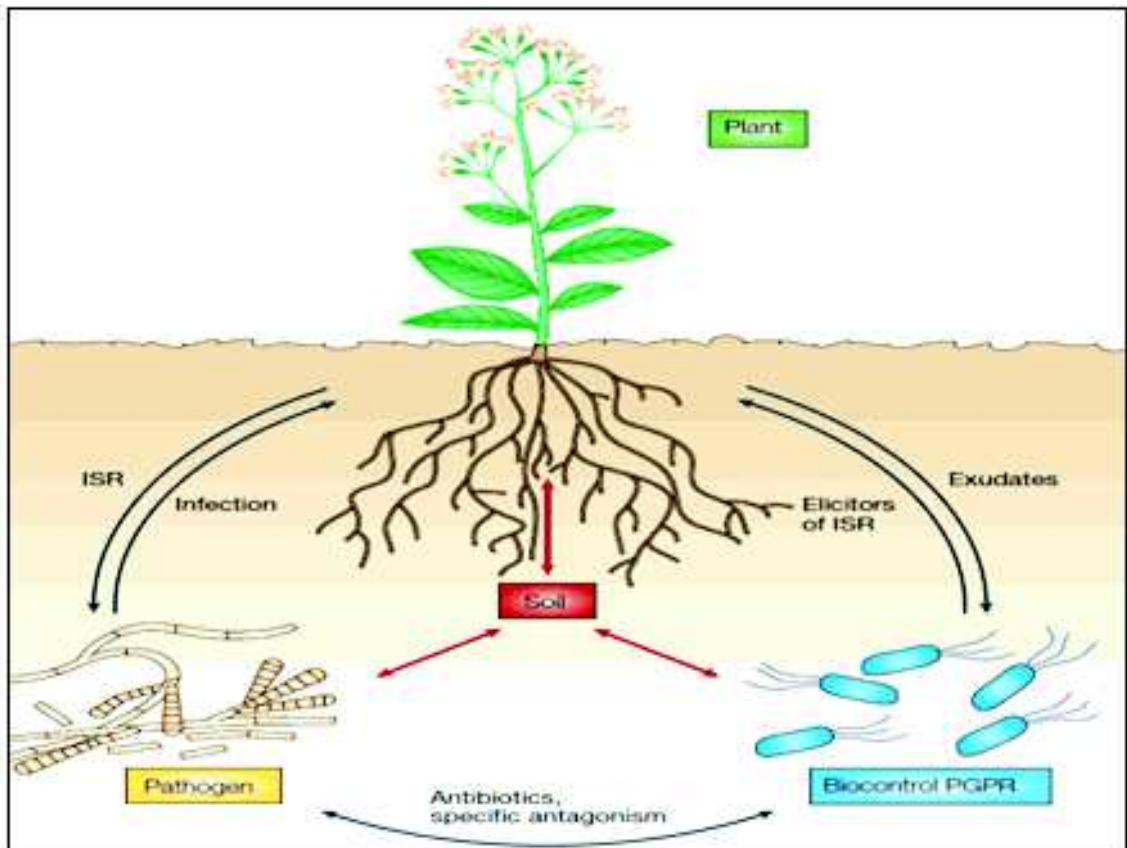


Figure 3 : Interactions entre les PGPR, la plante, le pathogène et le sol (Haas et et Défago, 2005)

Ces partenaires interagissent entre eux par des signaux biotiques et abiotiques, dont beaucoup sont encore inconnus.

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

Compétition trophique et spatiale

La colonisation des systèmes racinaires par *Pseudomonas* spp. fluorescents implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption sur les racines et enfin une compétition pour les substances nutritifs (Jacques et al., 1993). Les pseudomonas se caractérisent par une capacité élevée à extraire le fer du sol pour leurs besoins nutritionnels (Latour et Lemanceau, 1997 ; Whipps, 2001). Dans des conditions de carence en fer, ces bactéries synthétisent les sidérophores (pyoverdine et pyochiline), qui chélatent le fer ; ces molécules sont aussi nécessaires à la croissance. Cette chélation réduit la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieaux et al., 2003; Suty, 2010). La réduction de la maladie peut être le résultat d'une colonisation importante des racines ou des sites de l'infection par ces rhizoactéries bénéfiques, ce qui réduit l'espace nécessaire à la croissance du pathogène (Jacques et al., 1993 ; Suty, 2010). Ces caractéristiques expliquent leur aptitude à s'installer en nombre et durablement sur et à proximité des racines (Latour et Lemanceau, 1997).

Métabolites antimicrobiens

Les pseudomonas excrètent des molécules qui inhibent la croissance des phytopathogènes : les antibiotiques (Jacques et al., 1993). Ces métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne, la physiologie cellulaire et/ou la sporulation des agents phytopathogènes (Lepoivre, 2003). Plusieurs antibiotiques sont synthétisés par les pseudomonas, tels que l'acide phénazine-1-carboxylique, 2,4-diacetylphoroglucinol (DAPG), oomycine, pyoluteorine, pyrrolnitrine, kanosamine, zwittermycine-A et pantocine (Fernando et al., 2005).

Les *Pseudomonas* fluorescents produisent d'autres métabolites, de nature volatile qui peuvent interférer avec la croissance des phytopathogènes, il s'agit de l'acide cyanhydrique (HCN) (Jacques et al., 1993), un métabolite essentiel dans le biocontrôle par les pseudomonas (Weller, 2007 ; De Coste et al., 2010).

1.2.1.2. Interaction *Pseudomonas*-plantes

Les pseudomonas peuvent renforcer la résistance des plantes, en induisant leurs capacités défensives naturelles, ce qui confère à l'hôte une meilleure tolérance vis-à-vis des attaques ultérieures par les agents pathogènes (Bakker et al., 2007). Les *Pseudomonas* fluorescents sont capables de synthétiser différents métabolites secondaires, qui peuvent influencer positivement la croissance des plantes et sont impliqués également dans les relations de reconnaissance entre ces bactéries et les plantes (Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et al., 2004).

Phytohormones

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). De même, la production des

cytokinines par les *Pseudomonas* a été signalée par plusieurs auteurs (Arkhipova et al., 2005; Karadeniz et al., 2006; Aslantas et al., 2007).

- Enzymes

Les *Pseudomonas* produisent de l'ACC désaminase (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) qui hydrolyse le précurseur de synthèse de l'éthylène (Rifat et al., 2010). A cet effet, la quantité de l'éthylène produite par la plante est réduite, ce qui favorise l'élongation des racines (Penrose et al., 2001 ; Rifat et al., 2010).

- Vitamines

La stimulation de la croissance des plants de trèfle est due à la sécrétion de vitamines B par *Pseudomonas* sp. 267 (Derylo et Skorupska, 1993). La synthèse de ces vitamines par les *Pseudomonas* spp. fluorescents est affectée par la nature de la source de carbone, le pH et la température (Marek-Kozaczuk et Skorupska, 2001).

- Assimilation phosphatée et azotée

Pseudomonas spp. fluorescents peuvent solubiliser le phosphore (Rosas et al., 2006 ; Park et al., 2009). La solubilisation du phosphore par ces rhizobactéries fluorescentes peut être due à l'excrétion de protons (en assimilant l'ammonium) et la production d'acides organiques (Park et al., 2009). Il a été constaté une absorption significative du phosphore et de l'azote par les plants du poivron noir bactérisés par les *Pseudomonas* fluorescents (Diby et al., 2005b). Ces effets stimulent la croissance (Jacques et al., 1993 ; Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et al., 2004) et augmente le rendement des cultures (Rodríguez et Fraga, 1999).

1.2.2. Régulation du métabolisme secondaire

Les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la plante et l'environnement sont associés à la production des métabolites secondaires (antibiotiques, sidérophores, phytohormones) dont la synthèse est influencée par le métabolisme basal (Latour et Lemanceau, 1997). Les facteurs environnementaux : la température, le pH et l'humidité affectent la production des substances antimicrobiennes (Shanahan et al., 1992a ; Georgakopoulos et al., 1994) et des sidérophores (Ravel et Cornelis, 2003 ; Varma et Chincholkar, 2007). Le rôle de ces substances dans la lutte biologique reste à élucider dans les conditions naturelles de l'environnement, selon les aspects fonctionnels des communautés rhizobactériennes (Fernando et al., 2005).

Dans leurs actions phytostimulatrice et biocontrôle, les *Pseudomonas* fluorescents forment des microcolonies qui constituent un biofilm sur les sites préférés des exsudats racinaires (Choudhary et Johria, 2009). Ces microcolonies communiquent les unes avec les autres selon le processus biologique : quorum sensing (QS) et agissent de manière coordonnée (Choudhary et Johria, 2009 ; Babalola, 2010). Le QS est un mécanisme de communication entre les cellules, il est utilisé par de nombreuses bactéries afin de surveiller leur densité de population et pour réguler l'expression des gènes (Miller et Bassler, 2001; Keller et Surette, 2006). Chez les bactéries à Gram négatif, le QS implique la production des N-acyl homoserines lactones (AHL) (Steindler et al., 2008). Les AHL sont des molécules autoinductrices qui s'accumulent dans le milieu extracellulaire, lorsque le nombre de ces molécules atteint un seuil de concentration critique (le quorum), la réponse se déclenche en menant à l'expression des gènes (Sharma et al., 2003). La régulation par le QS joue un rôle primordial dans la physiologie et le développement des bactéries (Miller et Bassler, 2001). Ce phénomène contrôle plusieurs phénotypes dans l'interaction plantes-bactéries

pathogènes (Von Bodman et al., 2003), il contrôle également les phénotypes liés aux PGPR : la production des composés antimicrobiens, l'induction de résistance systémique chez les plantes (Liu et al., 2008 ; Girard et al., 2006) et la production des sidérophores (Cornelis, 2008).

1.2.2.1. Métabolites antimicrobiens et enzymes extracellulaires

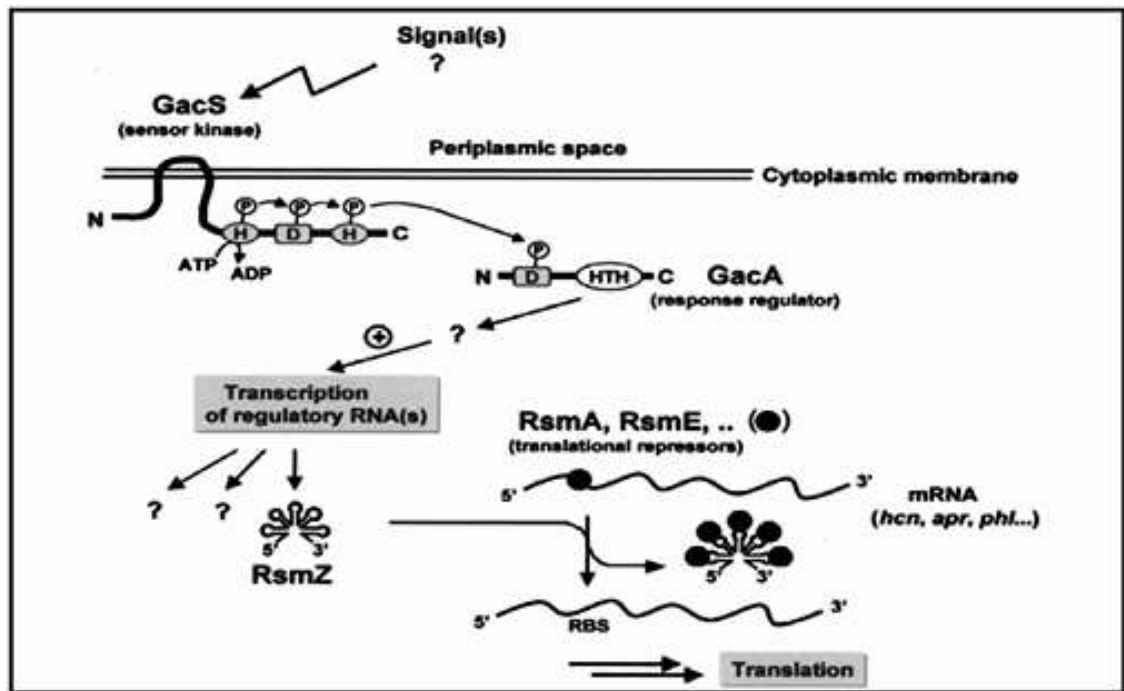
Le contrôle de l'expression des gènes est un mécanisme essentiel pour la modulation de la production des métabolites secondaires (Schnider et al., 1995). Des activateurs et des répresseurs spécifiques sont nécessaires pour la régulation de la transcription des gènes des métabolites de biocontrôle (Delany et al., 2000). Chez *P. fluorescens*, l'expression de 2,4-diacetylphloroglucinol (PHL) et la pyoluteorine est contrôlée positivement par les régulateurs de transcription PhIF et PltR respectivement (Brodhagen et al., 2004; Maurhofer et al., 2004). Les gènes responsables de la synthèse des antibiotiques sont très conservés chez les *Pseudomonas* (Fernando et al., 2005).

Chez plusieurs souches de *Pseudomonas*, l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse des métabolites secondaires et des enzymes extracellulaires est positivement régulée par la protéine kinase GacS et un régulateur de réponse apparentée GacA (Figure 4) (Heeb et Haas, 2001). GacS est une protéine transmembranaire typique qui répond aux stimuli environnementaux par une autophosphorylation des acides aminés, qui se transfère de GacS à l'acide aminé de GacA (Corbell et Lopper 1995 ; Aarons et al., 2000 ; Heeb et Haas, 2001). Le régulateur GacA contient un motif de liaison à l'ADN, qui peut activer ou réprimer les gènes directement par la liaison au promoteur du gène cible (Aarons et al., 2000). Le système GacS/GacA est impliqué dans la régulation post transcriptionnelle des métabolites extracellulaires de lutte biologique (Haas et al., 2002), au niveau de l'initiation de la traduction (Blumer et al., 1999). L'implication du système GacS/GacA dans la transduction du signal a été vérifiée par l'utilisation des mutants *gacS/gacA*, chez *P. fluorescens* Pf-5 (Hassan et al., 2010) et chez *P. fluorescens* F113 (Delany, 1999). Ces mutants expriment faiblement ou même ne peuvent pas synthétiser le PHL, l'HCN et les exoprotéases ; leur action en biocontrôle est fortement diminuée dans plusieurs pathosystèmes (Haas et al., 2002).

1.2.2.2. Sidérophores

Les sidérophores sont des métabolites essentiels pour la régulation du fer (Fallahzadeh-Mamaghani et al., 2009). Ces molécules sont des transporteurs des ions ferriques à l'intérieur des cellules microbiennes. Les Pyoverdines sont des sidérophores complexes, produites par les *Pseudomonas* fluorescents (Ravel et Cornelis, 2003 ; Cornelis et al., 2008) ; elles sont composées par un chromophore dihydroxyquinoline fluorescent associé à un peptide de longueur et de composition variables (Figure 5)(Ravel et Cornelis, 2003).

Les pyoverdines des *Pseudomonas* fluorescents ont une forte affinité pour le Fe³⁺, elles chélatent et transportent ces ions ferriques à travers la membrane bactérienne externe via un transporteur (Meyer et Hornsperger, 1978). Par la suite, le Fe³⁺ est réduit en Fe²⁺ dans le cytoplasme (Simeoni et al., 1987).



Activation de la kinase sensor GacS par des signaux inconnus qui déclenchent la phosphorylation (H [His]→ D [Asp]→ H [His] dans GacS→ D [Asp] dans GacA, ce qui active GacA). La phosphorylation de GacA contrôle positivement la transcription d'ARN régulateurs comme RsmZ qui va séquestrer avec les répresseurs de la traduction comme RsmA, ce qui rend le RBS (ribosome binding site) accessible à la traduction de *hcn*, *apr* et *phl* et donc la biosynthèse de HCN, protéase alcaline et PHL respectivement.

Figure 4: Modèle proposé de la voie de transduction du signal impliquant le système GacS/GacA chez *P. fluorescens* CHA0 (Haas et al., 2002).

Divers mécanismes sont utilisés par les bactéries pour émettre la signalisation des conditions extracytoplasmiques de l'environnement vers le cytoplasme. Ces mécanismes activent les facteurs sigma extracytoplasmiques (extra cytoplasmic sigma factors, ECF δ), qui mobilisent l'ARN polymérase à des gènes spécifiques afin d'exprimer des protéines appropriées en réponse à l'environnement (Brooks et. Buchanan, 2008). Ces facteurs sigma sont de petites protéines de régulation, une composante essentielle de l'ARN polymérase, qui détermine la sélectivité des polymérases pour les promoteurs (Heimann, 2003). La régulation de la production de la pyoverdine et la chélation du fer dépend de deux facteurs extracytoplasmiques sigma : PvdS et Fpvl (Ravel et Cornelis, 2003). L'expression des gènes *pvdS* et *fpvl* est contrôlée par le répresseur transcriptionnel Fur (Vasil et Ochsner, 1999 ; Redly et Poole, 2003), c'est une protéine régulatrice de la chélation des ions ferriques, son action est dépendante de Fe²⁺ (Delany et al., 2001).

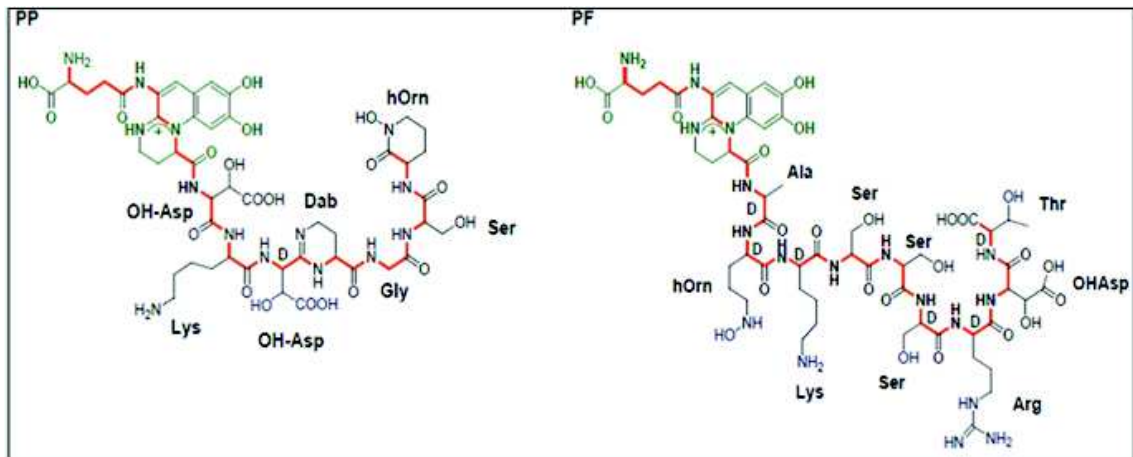


Figure 5 : Structures chimiques de la pyoverdine de *Pseudomonas putida* (PP) et de *Pseudomonas fluorescens* (PF) (Ravel et Cornelis, 2003).

Le chromophore dihydroxyquinoline est représenté dans sa forme d'acide carboxylique (lignes vertes). D-acides aminés sont en violet et les lignes rouges montrent le squelette peptidique.

La capacité des *Pseudomonas* spp. à produire les sédirophores est dépendante de la teneur en fer et le type de source de carbone dans le milieu (Djibaoui et Bensoltane, 2005). Dans des conditions d'excès de fer, *P. aeruginosa* réprime la transcription des gènes de facteurs sigma extracytoplasmiques (Ravel et Cornelis, 2003; Visca et al., 2007). Dans ces conditions le répresseur Fur se lie à une région très conservée (Fur box), se situe en amont des gènes de régulation du fer, ce qui bloque la transcription. Par contre, en cas d'une carence en fer, le répresseur Fur est détaché et les gènes sont transcrits (De Lorenzo et al., 1988; Prince et al., 1993 ; Hunt et al., 1994).

Selon certaines études, la régulation de la synthèse des sidérophores n'implique pas le système GacS/GacA. Chez *P. fluorescens* Pf-5, la production des siderophores et d'autres aspects d'homéostasie du fer sont significativement élevés chez les mutants *gacA* que dans le type sauvage (Hassan et al., 2010). Egalement, chez *P. fluorescens* PfG32R, les mutants *gacS* ou *gacA* peuvent synthétiser des sidérophores (Alit-Susanta et al., 2006).

2. FUSARIOSE VASCULAIRE

Les fusariums sont des champignons telluriques qui se trouvent dans la plupart des sols, notamment cultivés et font partie de la microflore rhizosphérique. La plupart sont saprophytes, alors que certains sont bien connus par leur effet néfaste (Fravel et al., 2003). Ces champignons sont filamenteux, imparfaits (Elias et al., 1993) et caractérisés par une reproduction asexuée, en produisant trois types de spores : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores (Figure 6) (Ohara et al., 2004 ; Nadasles, 2010). *Fusarium oxysporum* appartient au phylum : *Ascomycota*, classe : *Ascomycète*, ordre : *Hypocreales* et le genre *Fusarium* (Leslie, 1995).

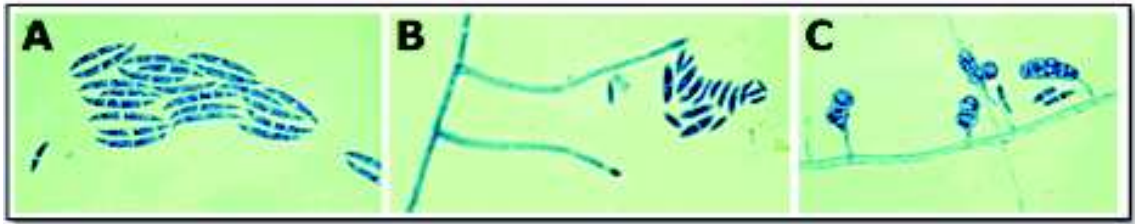


Figure 6: Conidies de *Fusarium* (Nadales, 2010).

La caractérisation morphologique, microscopique et culturale des *Fusarium* n'est pas suffisante pour les mettre en évidence (Leong et al., 2009). Plusieurs méthodes basées sur des caractères génétiques ont été développées afin de caractériser les souches de ce champignon, qui ont montré l'existence d'une grande diversité touchant cette population tellurique (Fravel et al., 2003). Les espèces de *Fusarium* sont divisées en différentes formes spéciales (*forma specialis* sp.), spécifiques selon leurs plantes hôtes (Steve et al., 2004).

Les souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* sont responsables de la pourriture des racines et le flétrissement de plusieurs espèces végétales (Inoue et al., 2002 ; Fravel et al., 2003 ; Berrocal-Lobo et Molina, 2007), y compris les cultures herbacées, ligneuses (Moretti, 2009 ; Lee et al., 2010) et ornementales (Aboul-Soud et al., 2003).

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder & Hans (FOL) est l'agent responsable du flétrissement vasculaire des cultures de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) à travers le monde (Snyder et Hansen, 1940). FOL a été caractérisé pour la première fois en 1895 en Angleterre par Masee. Les souches pathogènes de ce champignon causent d'importantes pertes économiques (Aboul-Soud et al., 2003 ; Ohara et al., 2004). Au moins 32 pays avaient signalé la maladie, qui est particulièrement grave dans les pays à climat chaud. Cette maladie a souvent détruit des cultures entières des tomates cultivées (Etebarian, 1992).

Le flétrissement fusarien de la tomate est causé par trois races de FOL, connues et nommées dans l'ordre de leur découverte (race 1, race 2, et race 3), qui se distinguent par leur pathogénicité différentielle aux cultivars de tomate (Elias et Schneider, 1991 ; Mes et al., 1999).

En Algérie, certains travaux ont été effectués à travers les zones de culture de la tomate ont révélé l'existence de la fusariose vasculaire en particulier dans les régions des littorales algérois (Tebibel, 1979 ; Saloum, 1986 ; Setti, 1986 ; Boumediene, 1991).

2.1. Processus d'infection et symptomatologie

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* colonise les tissus vasculaires de la tomate en pénétrant directement par les racines (Inoue et al., 2002). Les chlamydospores de ce champignon se conservent très longtemps et souvent très profondément dans le sol ; leur germination peut être déclenchée par les exsudats racinaires de la tomate (Kamilova et al., 2008). Potentiellement, les nutriments utiles dans ces exsudats racinaires peuvent contenir des acides organiques : dont le principal est l'acide succinique, l'acide citrique, malique et lactique. Dans ces rhizodépôts, on retrouve également en faible concentration : le glucose, le xylose, le fructose ainsi que les acides aminés (Lugtenberg et al., 2001). Les composés phénoliques font partie des exsudats racinaires, qui semblent être impliqués dans l'inhibition que dans la stimulation de la croissance mycélienne (Steinkellner et al., 2005). Après la germination des spores de FOL, les tubes germinatifs se développent pour

envahir le système racinaire ; à l'intérieur de la racine ce champignon se développe à travers le xylème, conduisant au flétrissement ensuite à la mort de la plante ([Cranshaw](#) et al., 1998). Chez la tomate les blessures favorisent et régularisent l'infection. Les températures de l'agressivité peuvent être différentes selon les couples hôte-parasite : 30 °C pour *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et 18-20 °C pour *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ([Messiaen](#) et al., 1991).



Figure 7 : Quelques symptômes causés par FOL (Blancard, 2009).

1 : Chloroses sectorielles ; le jaunissement semble se diffuser à partir de nervures dont certaines brunissent légèrement. **2** : La chlorose unilatérale est typique d'une maladie vasculaire. **3** : Jaunissement de plusieurs folioles situées sur un même côté de la feuille. **4** : Le jaunissement gagne progressivement plusieurs pétioles situés sur un côté du rachis foliaire.

F. oxysporum f. sp. *lycopersici* provoque plusieurs symptômes ([Messiaen](#) et al., 1991 ; [Blancard](#) et al., 2009). Il affecte les jeunes plantes où il occasionne un ralentissement de croissance, le flétrissement et le jaunissement des feuilles basses et les tissus vasculaires seront fortement brunis. Bien que souvent les plantules finissent par se dessécher et mourir. Sur les plantes adultes se sont les vieilles feuilles qui expriment les premiers symptômes et quelques folioles présentent des chloroses sectorielles. Par la suite, le jaunissement gagne l'ensemble du limbe et s'étend à d'autres folioles situées sur le même côté des feuilles. Les pétioles et la tige présentent également un jaunissement longitudinal qui s'amplifie progressivement et donne naissance à une lésion nécrotique affectant un seul côté de la tige sur plusieurs centimètres. Une coupe réalisée sur la tige permet de dégager les vaisseaux et de constater qu'ils ont une teinte brune très marquée, la moelle ne semble pas affectée (Figure 7) ([Blancard](#) et al., 2009).

2.2. Lutte

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 (Bulit et al., 1967).

Généralement, le contrôle de la maladie se réalise par la combinaison de plusieurs techniques : lutte génétique, lutte chimique et lutte biologique ([Kavanagh](#) , 2005).

2.2.1. Lutte génétique

Le contrôle génétique inclut l'utilisation de variétés résistantes, ces variétés constituent une solution fondamentale dans la gestion de la fusariose de la tomate ([Cranshaw](#) et al., 1998). La Marmande VF est une variété commercialisée, caractérisée par sa résistance au *Verticillium* et au *Fusarium* (Messiaen et Messiaen-Pagotto, 2010).

2.2.2. Lutte chimique

Traditionnellement, la lutte chimique est basée sur l'utilisation du bromure de méthyle ([Kavanagh](#) , 2005). Plusieurs autres fongicides ont été utilisés pour lutter contre FOL : bénomyl, carbendazime, prochloraze, le fludioxonil, bromuconazole et l'azoxystrobine (Amini et Sidovich, 2010). L'utilisation des produits chimiques est considérée comme une pratique conventionnelle pour résoudre le problème de la fusariose. Les fongicides chimiques ont des effets néfastes sur l'environnement, sur la santé humaine et sur d'autres organismes non visés, y compris les formes de vie bénéfiques. Il ya donc une préoccupation croissante envers la toxicité et le potentiel de ces produits chimiques sur l'agriculture (Abdel-Salam et al., 2007).

2.2.3. Biocontrôle

Dans les dernières années, les scientifiques ont tourné leur attention vers l'exploitation du potentiel des organismes bénéfiques pour la protection des végétaux (Choudhary et Johria, 2009 ; Nakkeeran et al., 2005). Le biocontrôle implique l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par les organismes nuisibles aux productions végétales (Suty, 2010). La lutte microbiologique est basée sur l'utilisation de microorganismes non pathogènes ; elle semble être prometteuse en raison de l'ubiquité de ces microorganismes dans les agrosystèmes, leur grande variété, la diversité dans leurs mécanismes d'action, leur grande capacité de colonisation des racines des plantes et aussi leur capacité d'adaptation aux contraintes environnementales (Suty, 2010). L'introduction de microorganismes bénéfiques dans le sol ou dans la rhizosphère a été proposée pour le contrôle biologique des maladies d'origine telluriques (Cook, 1993 ; Dunne et al., 1996). Ce type de lutte offre un contrôle de la maladie, qui ne peut pas être assuré par d'autres stratégies. Les progrès récents dans les techniques moléculaires et

microbiologiques contribuent davantage dans la compréhension des mécanismes d'action pour une meilleure exploitation des agents de biocontrôle (Choudhary et Johria, 2009).

Plusieurs bactéries et champignons isolés à partir de la rhizosphère ont montré leurs capacités à lutter contre le flétrissement fusarien de la tomate, en produisant divers métabolites secondaires : *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, *Burkholderia cepacia* (Larkin et Fravel, 1998), *Penicillium* spp. et *Aspergillus* spp. (Cal et al., 1995) et *Pseudomonas* spp. fluorescents (Larkin et Fravel, 1998 ; Ramamoorthy et al., 2002 ; Someya et al., 2006).

La caractérisation d'un petit nombre de souches de *Pseudomonas* fluorescents isolées en Algérie a démontré un potentiel significatif d'antagonisme *in vitro* contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Toua, 1992 ; Benchabane et al., 2000 ; Larbaoui, 2003).

Tableau 1 : Exemples de suppression des fusarioses par *Pseudomonas* fluorescents (Lemanceau et Alabouvette, 1993).

<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.	Plantes hôtes
<i>Pseudomonas</i> sp.B10, A12 P. fluorescens PF36	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lini	Lin
<i>P. putida</i> A12, N1R <i>Pseudomonas</i> sp. 346, 712 et B10	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. cucumerinum	Concombre
<i>P. putida</i> A12 P.fluorescens WCS374	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. conglutinans	Radis
<i>P. putida</i> G8-32 et R17-FP2 <i>Pseudomonas</i> sp. C7 et QP-5	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. radices lycopersici	Tomate
<i>P. fluorescens</i> H237 <i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. dianthi	Œillet

3. RESISTANCES DES PLANTES

La résistance des plantes peut être définie comme une faculté de n'être que peu ou pas malade, lorsque la plante est en présence du parasite et que les conditions sont favorables à l'infection (Corbaz, 1990).

3.1. Résistance non génétique

La résistance non génétique des plantes peut être une conséquence du milieu, de l'âge de la plante, la nature et la quantité des éléments nutritifs.

3.1.1. Résistance ou sensibilité en fonction de l'âge

L'âge de la plante au moment de l'infection influence grandement l'importance des dégâts, l'action de *Fusarium* est plus développée sur des jeunes plants de pois (Corbaz, 1990). Les jeunes plants de coton sont résistants au *Verticillium dahliae* et deviennent sensibles en vieillissant. Ce phénomène serait dû à l'inhibition du mycélium dans les jeunes tissus par la présence de catéchine, gallocatéchine, isoquercitrine et des tannins en plus forte concentration que dans les vieilles feuilles (Howell et al., 1976).

3.1.2. Résistance ou sensibilité en fonction de la nutrition

Si l'état nutritionnel de la plante n'a que peu d'influence sur le degré de la maladie chez les variétés très résistantes et celles très sensibles, c'est un facteur important chez les variétés modérément sensibles ou partiellement résistantes (Corbaz, 1990).

Les parois cellulaires représentent une barrière dont l'efficacité est réduite par un excès d'azote. Une fertilisation abondante en azote comme une carence en potassium, réduit la teneur de la plante en composés phénoliques toxiques pour les parasites et abaisse la production des phytoalexines. Le phosphore favorise *Septoria nodorum* sur les épis de blé ; les carences en phosphore favorisent le piétin échaudage (*Gaeumannomyces graminis*) (Corbaz, 1990).

3.2. Résistance génétique

Quelques soient les modalités de défense utilisées par la plante pour se défendre contre les agents pathogènes, l'issue peut être compatible ou incompatible. La défense peut être efficace et conduit à un rejet du pathogène, dans ce cas la plante est résistante et l'interaction entre les deux partenaires est incompatible. En revanche, durant une interaction compatible, le pathogène n'est pas affecté ou il est modérément affecté par les mécanismes de défense, la plante est dite sensible (Robert et Catesson, 2000).

Plusieurs déterminants génétiques chez les pathogènes ou chez les plantes peuvent influencer la nature de l'interaction entre la plante et les pathogènes (Prell et Day, 2001). Des études croissantes ont montré que les plantes réagissent à la même situation qu'aux animaux et possèdent une résistance basale, une composante du système immunitaire inné, qui permet aux plantes de se défendre contre les organismes pathogènes (Szatmari et al., 2006). La vitesse de détection de l'agent pathogène est fondamentale dans la résistance des plantes, car une détection trop lente est souvent responsable de la sensibilité de la plante (Jones et Dangl, 2006).

Globalement, les interactions entre les agents phytopathogènes et leurs hôtes permettent de regrouper les réponses des plantes selon la capacité des pathogènes de s'installer et de se développer en résistance ou sensibilité avec des degrés variables.

3.2.1. Résistance non hôte

La résistance complète d'une espèce végétale vis-à-vis de toutes les souches d'une espèce pathogène est désignée par la résistance non hôte (Holub et Cooper, 2004). Cette résistance décrit l'immunité entière d'une plante vis-à-vis des espèces pathogènes non adaptées (Lipka et al., 2005). La résistance non hôte constitue la forme de résistance la plus durable (Nürnberger et al., 2004 ; Nürnberger et Lipka, 2005) et la plus courante des résistances aux maladies, qui est exprimée par les plantes contre la majorité des micro-organismes potentiellement pathogènes (Mysore et Ryu, 2003). Dans ce cas, les agents pathogènes ne réussissent jamais à établir l'invasion de la plante et l'expression de la maladie (Prell et Day, 2001 ; Holub et Cooper, 2004). La résistance non-hôte pourrait être due, entre autre à l'inefficacité d'effecteurs du pathogène (Jones et Dangl, 2006). Malgré sa grande importance biologique, l'architecture moléculaire de la résistance non hôte reste largement inexplorée (Zellerhoff et al., 2010).

La résistance basale des plantes est fondée sur la reconnaissance d'éliciteurs (Ingle et al., 2006). Cette reconnaissance consiste en la perception des molécules microbiennes conservées dénommées pathogen ou microbe-associated molecular patterns (PAMP/

MAMP). Bien que les immunologistes utilisent couramment le terme PAMP mais le terme MAMP est considéré comme plus précis, car ils ne sont pas réservés seulement aux agents pathogènes (Ausubel, 2005). Les MAMP sont constitutivement présents chez les microorganismes par ce qu'ils sont considérés comme principaux composants structuraux des cellules microbiennes et de la motilité bactérienne (Egusa et al., 2009). Les MAMP comprennent :

- Chez les bactéries : La flagelline, les lipopolysaccharides (Ingle et al., 2006 ; Mishina et Zeier, 2007) et le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) (Ingle et al., 2006)
- Chez les champignons : La chitine, β -glucane et l'ergostérol (Ingle et al., 2006)

Ces éliciteurs sont reconnus par des récepteurs spécifiques : pattern-recognition receptors (PRR). Dans ce cas l'immunité est dite : PAMP-triggered immunity (PTI). Le manque de perception des PAMP chez les plantes conduit à leur sensibilité aux parasites, ce qui démontre l'importance de la reconnaissance des PAMP dans l'induction de la résistance contre les agents pathogènes (Schwessinger et Zipfel, 2008 ; Zipfel, 2008). Cette reconnaissance conduit à des événements de signalisation qui déclenchent les capacités défensives innées (Chisholm et al., 2006 ; Ingle et al., 2006 ; Schwessinger et Zipfel, 2008 ; Zipfel, 2008). L'efficacité de cette immunité réside dans la systématisation et la circulation de la résistance (Van Wees et al., 2008).

3.2.2. Résistance hôte

Durant la coévolution entre les plantes et les microbes, les agents pathogènes ont acquis la capacité de surmonter la résistance non-hôte par l'injection des protéines effectrices dans les cellules végétales, ce qui annule la PTI (PAMP-triggered immunity), favorise la croissance des pathogènes et le développement de la maladie (Chisholm et al., 2006 ; Göhre et Robatzek, 2008). Ces effecteurs ciblent les composants spécifiques de la régulation du système immunitaire basal (Ingle et al., 2006). Les protéines effectrices sont injectées dans l'apoplaste ou directement dans le cytoplasme des cellules de la plante hôte, menant à une réaction dite : effector-triggered susceptibility (ETS) (Chisholm et al., 2006 ; Göhre et Robatzek, 2008).

Lorsque les parasites sont capables de franchir les barrières de la reconnaissance non-spécifique (Prell et Day, 2001) et en réponse à la livraison des protéines effectrices, certains cultivars ont développé des protéines de résistance (R) (Chisholm et al., 2006 ; Ingle et al., 2006). Ces protéines reconnaissent des effecteurs particuliers, conduisant à un autre type d'immunité : effector-triggered immunity (ETI) (Chisholm et al., 2006). C'est une reconnaissance spécifique entre un produit du gène de résistance (R) dominant chez la plante hôte et un produit du gène d'avirulence (Avr) dominant du pathogène (Lauge et al., 1998 ; Mahé et al., 2009), d'où le concept « gène pour gène » de Flor (Flor, 1971). Cette reconnaissance conduit à une réaction d'hypersensibilité (RH) au niveau du site d'infection, ce qui isole le pathogène des autres parties de la plante hôte (Durand-Tardif et Pelletier, 2003 ; Lauge et al., 1998 ; Mahé et al., 2009). La RH est une réaction locale qui tend à circonscrire le pathogène et donne lieu à une cascade de signaux, activant une résistance générale et non spécifique chez la plante hôte dite systémique, c'est la résistance systémique acquise (Systemic Acquired Resistance, SAR) (Durrant et Dong, 2004).

La résistance systémique acquise est un phénomène qui permet à la plante de stimuler ses propres mécanismes de défense et est généralement activée à la suite d'une infection primaire par un agent pathogène nécrotrophe (Lepoivre, 2003) ou un agent chimique. Le concept de la SAR, en raison de son importance a été largement étudié dans ces dernières

années afin de développer la résistance aux maladies fongiques, bactériennes et virales des plantes cultivées (Percival, 2001).

La résistance hôte ne touche que certaines races d'une espèce pathogène et peut activer des mécanismes de défense hautement spécifiques vis-à-vis de l'agent pathogène. Il s'agit du deuxième niveau de reconnaissance des plantes. Elle est liée à la détection spécifique de races pathogènes par de variétés des plantes hôtes, c'est la résistance spécifique race/cultivar (Prell et Day, 2001).

La figure ci-dessous montre un modèle en Zig-zag qui illustre le système immunitaire des plantes selon Jones et Dangl, (2006). En phase (1), la plante détecte les éliciteurs M/PAMP par les récepteurs PRR, ce qui déclenche la PTI, la résistance basale. En phase (2), les agents pathogènes victorieux délivrent des effecteurs qui interfèrent avec la PTI, il en résulte une sensibilité ETS, développement de la maladie. En phase (3), un effecteur est reconnu par une protéine de résistance, activant alors une résistance spécifique, ETI. En phase (4), des races de l'agent pathogène ayant modifiées l'effecteur et/ou acquis de nouveaux effecteurs, permettant d'annuler l'ETI, ce qui mène au développement de la maladie (ETS). En phase (5), de nouvelles protéines de résistance pourront reconnaître les nouveaux effecteurs, entraînant alors à nouveau l'induction de l'ETI.

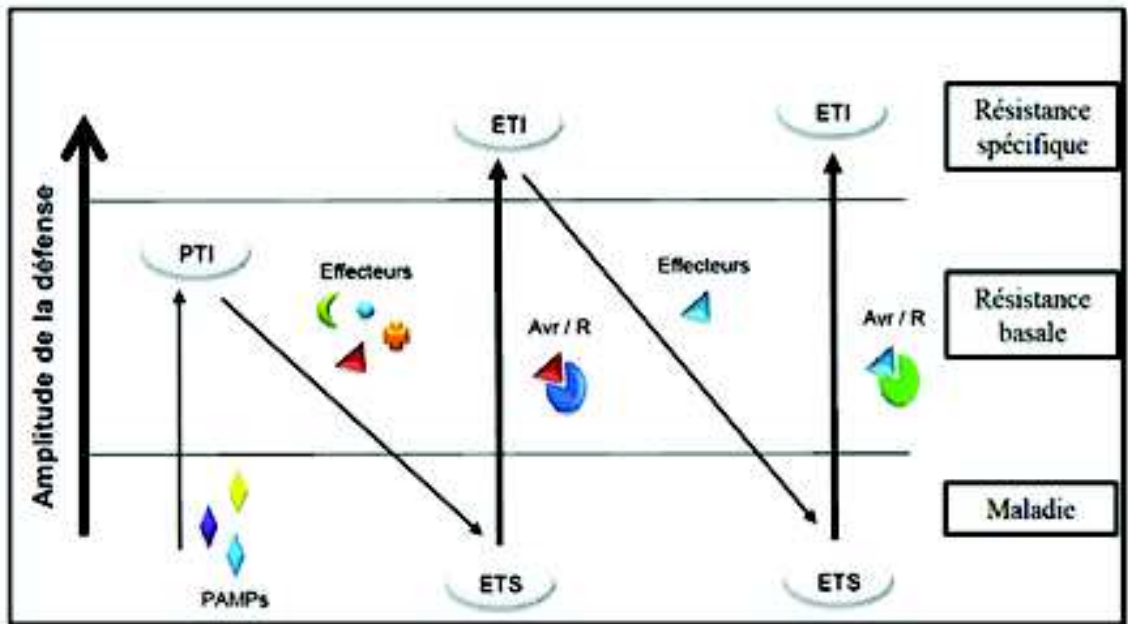


Figure 8 : Modèle en Zig-zag illustrant le système immunitaire des plantes (Jones et Dangl, 2006)

3.2.3. Résistance systémique induite

3.2.3.1. Intérêt

Les souches de *Pseudomonas* fluorescents possèdent une importance agricole et économique comme agents de lutte biologique, en grande partie en raison de leur capacité à produire des métabolites secondaires (Moynihan et al., 2009).

Plusieurs PGPR sont commercialisés : *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et d'autres *Bacillus* spp. ; différentes méthodes de formulation sont utilisés pour leur formulation (Nakkeeran et al., 2005). Les stratégies de biocontrôle

associées à l'induction de la résistance systémique (IRS) donnent de grands espoirs. Certains PGPR induisant l'IRS sont actuellement utilisés comme produits biopesticides telle que la souche *Bacillus subtilis* GBO3 (Kodiak®, Gustafson Company, USA) (Raupach et Kloepper 2000).

Grâce à une connaissance suffisante des mécanismes de défense, il a été possible d'identifier les éliciteurs ou les messagers chimiques induisant la résistance des plantes. On appelle ces composés qui présentent un grand intérêt en protection des cultures : stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN) (Klarzynski et Fritig, 2001).

Iodus 40R est un SDN développé par des laboratoires français Saint-Malo, Goëmar. La substance active de l'Iodus 40R est la laminarine, cette molécule est extraite d'une algue (*Laminaria digitata*). Elle est utilisée telle quelle, sans modification chimique. Il s'agit d'une molécule naturelle qui est biodégradable, sans danger et très faiblement toxique d'où l'absence de classement toxicologique et de phase de risque pour l'Iodus 40R. Cette préparation est homologuée sur le blé contre l'oïdium, le piétin-verse et la septoriose (Blanchard et Limache, 2005).

3.2.3.2. Généralités

Les PGPR peuvent éliciter les mécanismes de défense inductibles des plantes, qui permettent de mieux se défendre vis-à-vis d'une attaque ultérieure par les organismes pathogènes (Alström, 1991 ; Van Peer et al., 1991 ; Van Loon et al., 1998 ; Pieterse et al., 2000, 2001 ; Bakker et al., 2003 ; Verhagen et al., 2004 ; Jurdan et al., 2008 ; Rudrappa et al., 2010). Cette résistance induite se produit à l'échelle locale et systémique, elle permet la gestion rapide et efficace de l'invasion du phytopathogène (Jakab et al., 2001). Cet état de défense est connu par l'induction de la résistance systémique (Induced Systemic Resistance, ISR). L'ISR est peu spécifique et peut protéger les plantes contre un large spectre d'agents pathogènes (Pieterse et al., 2000 ; Verhagen et al., 2004 ; Rudrappa et al., 2010). La résistance induite par les PGPR constitue une "vaccination" systémique qui réduit la sensibilité des plantes aux pathogènes (Kloepper et al., 2004; Ongena et Thonart 2006 ; Bakker et al., 2007; Rudrappa et al., 2010).

L'induction de la résistance systémique a été vérifiée par l'inoculation du pathogène et des PGPR spatialement séparée. Par exemple, les bactéries au niveau des racines et le pathogène sur les feuilles, ou par l'utilisation des systèmes racinaires en split, afin d'éviter toute interaction physique entre les deux agents (Bakker et al., 2007). L'ISR a été mise en évidence chez l'œillet (*Dianthus caryophyllus*), après la colonisation racinaire avec *Pseudomonas fluorescens* WCS417, les plants d'œillet ont développé une résistance contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Cette résistance systémique a été illustrée contre les champignons, les bactéries et les virus chez plusieurs plantes (Van Loon et al., 1998).

Tableau 2: Exemples de l'induction de la résistance systémique par les *Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis des fusarioses vasculaires.

Effet des pgpr (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire

Fusarium oxysporum spp.	Pseudomonas spp. fluorescents	Plantes hôtes	Références
F. oxysporum f. sp. Ciceri	P. fluorescens spp.	Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>)	Saikia et al., (2003, 2005)
F. oxysporum f. sp. raphani	P. fluorescens WCS417	Radis (<i>Raphanus sativus</i>)	Hoffland et al., (1996)
F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici	P. fluorescens 63-28	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	M'piga et al., (1997)
F. oxysporum f. sp. lycopersici	P. putida LSW17S	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Ahn et al., (2007)

3.2.3.3. Expression de la résistance systémique induite

La résistance systémique induite est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise (Van Loon et al., 1998 ; Van Wees et al., 1999 ; Jourdan et al., 2008), tout comme dans le cas de la SAR, les réactions de défense de l'ISR permettent de mieux se défendre vis-à-vis d'une agression ultérieure. L'activation simultanée de la SAR et de l'ISR offre une capacité défensive renforcée en comparaison à chaque résistance seule (Van Wees et al., 2000). Ces deux types de résistances induites sont efficaces contre un large spectre d'agents pathogènes (Ton et al., 2001, 2002 ; Yan et al., 2002). L'expression phénotypique de l'ISR peut être divisée en quatre étapes principales (Jourdan et al., 2008).

1. La perception par la plante des molécules bactériennes responsables de l'élicitation de l'ISR
2. La transmission du signal nécessaire à la systémisation du phénomène chez la plante
3. La mise en alerte (priming) de la plante au niveau systémique, qui dans la plupart des cas n'est pas accompagnée de grandes modifications de l'activité transcriptionnelle avant l'attaque du pathogène
4. L'expression du ou des mécanisme (s) de défense sensu stricto induits, permettant de limiter voire d'inhiber la pénétration du pathogène dans les tissus de l'hôte végétal

A. Déterminants bactériens

L'induction de la résistance systémique par les PGPR est basée sur la reconnaissance spécifique entre des éliciteurs rhizobactériens et la plante (Pieterse et al., 2001 ; Van Loon et al., 2008). Ces rhizobactéries possèdent une diversité de molécules élicitrices de l'ISR ; si un déterminant ne parvient pas à provoquer la résistance systémique, ou n'est pas produit selon certaines conditions, d'autres caractères peuvent encore être efficaces. Dans de tels cas, les divers déterminants peuvent être différemment régulés (Bakker et al., 2007). Les molécules élicitrices de la résistance peuvent être soit des composants de la surface cellulaire bactérienne, soit des métabolites excrétés par les PGPR (Van der Ent et al., 2009a).

- Composants de la surface cellulaire

Lipopolysaccharides

Les Lipopolysaccharides (LPS) des bactéries à Gram négatif sont des molécules clés, jouant de multiples rôles dans les interactions plantes-microbes. La perception des LPS par les cellules végétales déclenche les réactions de défense ou la mise en alerte des plantes (Molinari et al., 2009). Chez *A. thaliana*, les LPS des *Pseudomonas* spp. fluorescents semblent être impliqués dans l'induction de la résistance systémique vis-à-vis de *P. syringae* pv. *tomato* (Bakker et al., 2003 ; Meziane et al., 2005). Le rôle de ces déterminants

bactériens a été mis en évidence chez **les plantes d'œillet** traitées avec des cellules soit viables, soit tuées par la chaleur ou encore avec des LPS isolés de *P. fluorescens* WCS417, après l'inoculation avec *Fusarium* spp., une accumulation importante des phytoalexines a été détectée par rapport aux plantes témoins (Reitz et al., 2000).

- Flagelles

Les flagelles sont des structures rigides, constitués par la flagelline, responsables de la mobilité bactérienne (Baudry et Brézellec, 2006). Les flagelles de *P. putida* WCS358 sont impliqués dans la stimulation des capacités défensives, leur rôle a été étudié chez *Arabidopsis*, le haricot, la tomate en appliquant des flagelles isolés et en utilisant des mutants immobiles (Meziane et al., 2005). La reconnaissance de la flagelline chez les plantes se réalise via le récepteur : flagelline-sensitif 2. Cette reconnaissance est spécifique, par exemple *Arabidopsis* WS-0 est insensible à la flagelline des *Pseudomonas* (Gómez-Gómez et al., 1999).

- Métabolites sécrétés

- Antibiotiques

En plus de leur rôle antimicrobien, les antibiotiques favorisent le déclenchement de la résistance systémique (Maurhofer et al., 1992 ; Fernando et al., 2005). Chez *Arabidopsis*, l'ISR vis-à-vis de *P. syringae* pv. *tomato* dépend du DAPG produit par *P. fluorescens* Q2-87 (Weller et al., 2004). L'importance de cet antibiotique dans la stimulation des réactions de défense a été mise en évidence par des mutants qui ne peuvent pas synthétiser le DAPG, qui ont montré leur incapacité à provoquer l'ISR (Iavicoli et al., 2003 ; Weller et al., 2004). L'ISR peut être déclenchée en réponse à la perception de 2,4-diacétylphloroglucinol (PHL) (Iavicoli et al., 2003) et de l'acide cyanhydrique (HCN) (Jacques et al., 1993). Ongena et ses collaborateurs ont montré que les lipopeptides, les surfactines et les fengycines peuvent être impliqués dans l'éllicitation de l'ISR (Ongena et al., 2007).

- Substances volatiles

L'exposition des plantules d'*Arabidopsis* à un mélange de composés organiques volatiles de *Bacillus* spp. a réduit significativement la gravité de la maladie causée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* par rapport aux plants témoins. L'exposition à ces composés pendant moins de quatre jours a été suffisante pour activer l'ISR (Ryu et al., 2004).

- Sidérophores

Chez de nombreux *Pseudomonas*, en plus de leur rôle dans la chélation du fer (Alka et Murali, 2008), les sidérophores sont impliqués dans l'induction de la résistance systémique. L'action de ces métabolites dans l'ISR a été signalée chez *P. putida* WCS358, avec une bioprotection significative d'*Eucalyptus urophylla* vis-à-vis du flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) (Ran et al., 2005).

B. Voies de signalisation et systémisation de la résistance

Les éliciteurs des PGPR ressemblent aux PAMP d'origine bactérienne (Van Loon et Bakker, 2006). De fortes homologies existent entre le mécanisme de perception des M/PAMP dérivés du pathogène qui déclenchent la résistance basale (M/PAMP-triggered immunity) et le mécanisme de perception des éliciteurs rhizobactériens. Ceci suggère que les PGPR sont également reconnus par un système immunitaire similaire (Van der Ent et al., 2009a).

La reconnaissance entre la plante et un micro-organisme ou l'un de ses composants enclenche la production d'une cascade de signaux et de messagers chimiques, qui à leur tour régulent les modifications de l'expression des gènes de défense (Klarzynski et Fritig, 2001). Ces modifications conduisent à l'expression d'une résistance systémique après avoir perçu un éliciteur au niveau local (Heil et Walters, 2009). La première réponse de cette reconnaissance est un ensemble de flux d'ions à travers la membrane plasmique et la production d'espèces réactives d'oxygène, suivie par l'activation séquentielle des gènes et l'accumulation de produits de défense (Jabs et al., 1997).

Selon l'étude Bordiec, (2010), la bactérie PGPR, *Burkholderia phytofirmans* PsJN est capable de coloniser le système racinaire de la vigne. Tout d'abord, le contact des cellules de la vigne avec cette bactérie induit une alcalinisation du milieu, la libération des espèces réactives oxygénées et azotées et une expression de gènes de défense, une accumulation de composés phénoliques. Les résultats obtenus démontrent que cette bactérie est perçue par les cellules de la vigne, cette perception engendre une stimulation de son immunité. Par ailleurs, l'interaction entre la souche PsJN et la vigne confère à la plante une protection vis-à-vis de certains stress.

- Flux ioniques

La perception d'un éliciteur par les cellules végétales entraîne une dépolarisation membranaire rapide et transitoire, c'est un ensemble de flux d'ions à travers la membrane plasmique : influx de H^+ et de Ca^{2+} (Kadota et al., 2004). Cet influx a été également observé chez le tabac après avoir perçu d'éliciteurs de *P. putida* WCS358 et de *P. fluorescens* WCS417 (Van Loon et al., 2008). De même, il a été signalé un efflux de Cl^- (Kikuyama et al., 1997 ; Kadota et al., 2004) et de K^+ (Bolwell et al., 2002).

- Espèces réactives d'oxygène

Les plantes génèrent des espèces réactives d'oxygène (Reactive oxygen species, ROS) qui sont considérées comme des régulateurs clés de la croissance et du développement (Shetty et al., 2009). Ces espèces sont aussi produites au cours de l'interaction hôte-pathogène et participent dans les voies de signalisation des réactions de défense (Hancock et al., 2002 ; Shetty et al., 2009). Les espèces réactives les plus importantes sont : l'oxygène singulet (1O_2), le radical hydroxyperoxy ($HO_2\cdot$), l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($OH\cdot$) (Shetty et al., 2009). La production des ROS a été observée dans une suspension cellulaire de tabac à la suite de la reconnaissance d'éliciteurs de *Pseudomonas* spp. fluorescents (Van Loon et al., 2008).

Les ROS sont synthétisées avec un niveau contrôlé qui mène à une réponse définie comme l'activation des protéines kinases et la régulation de l'expression des gènes. Ces espèces jouent un rôle clé dans l'orchestration de la résistance localisée (RH) (Hancock et al., 2002).

- **Phosphorylations et déphosphorylation**

Le processus de phosphorylation et de déphosphorylation est un mécanisme commun de la transduction du signal chez les plantes qui relie la perception des signaux extracellulaires avec leurs réponses définitives. Les Mitogen-Activated Protéines kinase (MAPK) constituent l'un des principaux systèmes de phosphorylation, que les plantes utilisent pour résister aux stress biotiques et abiotiques. Ce système est composé de plusieurs classes de kinases, ayant chacune un rôle différent dans la transduction du signal (Cvetkovska et al., 2005).

En cas d'un stimulus, Les MAPK sont activés par les ROS, ces protéines sont impliquées dans l'activation de l'expression des gènes de défense. La faible fonction des MAPK conduit à une régulation négative de la résistance aux agents pathogènes (Zhang et Klessig, 2001).

· Signalisation hormonale

Les mécanismes de défense des plantes sont régulés par un réseau complexe des voies de signalisation, impliquant plusieurs régulateurs (Bruce et Pickett, 2007). Trois molécules signales clés sont responsables dans l'induction de la résistance chez les plantes : l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (AJ) et l'éthylène (ET) (Pieterse et Van Loon, 1999 ; Ton et al., 2001, 2002 ; Kunkel et Brooks, 2002 ; Pieterse et Van Loon, 2007 ; Jalloul et al., 2009). Ces molécules sont impliquées dans deux principales voies de signalisation de défense contre les pathogènes : une voie AS-dépendante et une voie AS-indépendante, qui nécessite l'AJ et l'ET (Figure 9). Ces voies fonctionnent de manière dépendante et sont influencées l'une par l'autre dans un réseau complexe d'interactions (Kunkel et Brooks, 2002).

L'interconnexion et la coordination entre ces voies de signalisation sont des éléments clés pour une expression optimisée de la résistance des plantes (Jalloul et al., 2009). Les deux voies de signalisation, que ce soit dépendante ou indépendante de l'acide salicylique, confèrent une grande régulation potentielle pour l'activation de multiples mécanismes de résistance (Pieterse et Van Loon, 1999). Les mécanismes de ces voies ne sont pas assez clairs et il reste encore beaucoup à comprendre et à illustrer (Bruce et Pickett, 2007).

· Voie dépendante de l'acide salicylique

L'acide salicylique est un régulateur clé de la SAR, l'induction de cette résistance nécessite l'accumulation de l'AS (Ton et al., 2001, 2002 ; Yan et al., 2002). L'importance de cette accumulation a été démontrée par l'utilisation des plantes transgéniques NahG, qui expriment le gène salicylate hydroxylase nahG bactérien, rendant les plantes incapables d'accumuler l'AS. Dans ce cas, les plantes NahG ne peuvent pas déclencher la SAR (Gaffney et al., 1993 ; Ryals et al., 1996). L'application exogène de l'AS, ou d'un de ses analogues : BTH (benzothiadiazole) ou INA (2,6- acide dichloroisonicotinique) conduit à l'induction de la SAR. De même, l'utilisation des mutants qui ne peuvent pas synthétiser l'AS : sid1 et sid2 à confirmer l'indispensabilité de l'AS pour la stimulation de la SAR (Wildermuth et al., 2001). Cette résistance n'est pas efficace contre tous les pathogènes, elle n'est pas significative contre *Botrytis cinerea* ou *Alternaria alternata* (Ryals et al., 1996).

· Voie indépendante de l'acide salicylique

Dans les dernières années, la recherche sur les voies de signalisation de défense qui sont activées par les PGPR a révélé que l'AJ et l' ET sont des acteurs primordiaux qui pilotent l'ISR. Le rôle de ces molécules a été démontré chez *Arabidopsis thaliana* avec *P. fluorescens* (Pozo et al., 2008 ; Ton et al., 2001, 2002 ; Yan et al., 2002 ; Van der Ent et al., 2009b) et chez le riz (Vleesschauwer et al., 2008). Certaines rhizobactéries peuvent activer la voie de l'AS-dépendante en produisant de l'AS dans la surface racinaire (Pieterse et al., 2001), ce qui augmente l'efficacité de l'ISR (Lepoivre, 2003 ; Bakker et al., 2007). L'analyse du niveau local et systémique de l'acide jasmonique et de l'éthylène a démontré que l'ISR n'est pas associée à un changement de la teneur de ces molécules signales, ce qui indique que l'ISR n'induit pas la synthèse de ces phytohormones (Pieterse et al., 2000). Plusieurs études suggèrent que le rôle de l'AJ et l'ET dans l'ISR est basé sur une sensibilité accrue à ces hormones, plutôt que sur une augmentation de leur production (Pieterse et al., 2001 ;

Verhagen et al., 2004 ; Tuzun et Bent, 2006). Il a été montré que *Pseudomonas fluorescens* WCS417r est incapable d'éliciter l'ISR chez les mutants d'*Arabidopsis* de réponse à l'AJ : *jar1* (jasmonic acid resistant1), *eds8* (enhanced disease susceptibility) et *coi1* (coronatine insensitive1) (Pieterse et al., 1998 ; Ton et al., 2002 ; Pozo et al., 2008) et des mutants de réponse à l'ET : *etr1* (ethylene response 1) et *ein2* (ethylene insensitive 2) (Pieterse et al., 1998). L'ISR est stimulée chez les plantes *NahG*, montrant que ce phénomène est indépendant de l'AS (Pieterse et al., 2001).

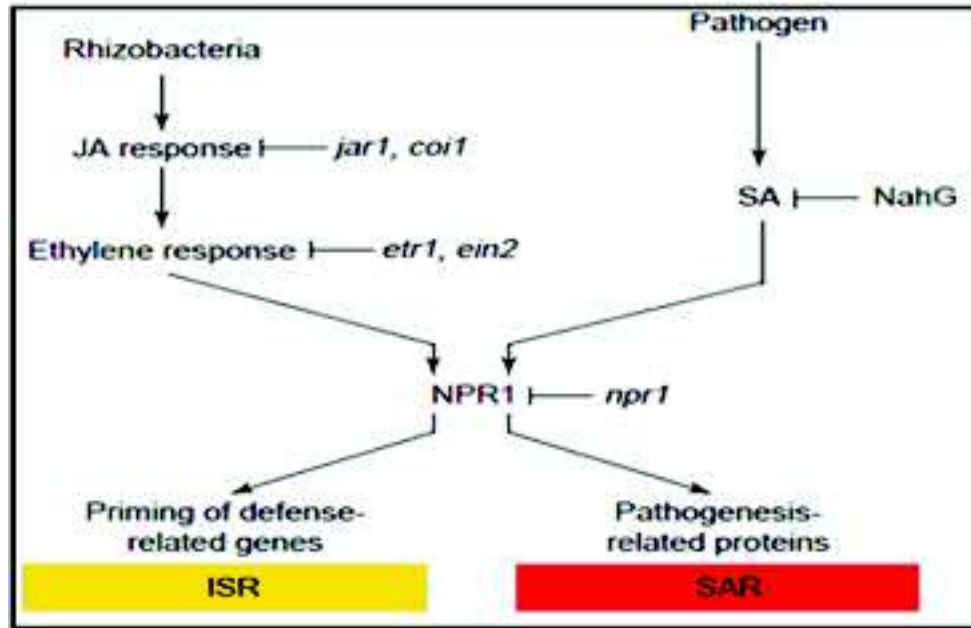


Figure 9 : Voies de transduction du signal de la SAR et de l'ISR (Pieterse et al., 1998)

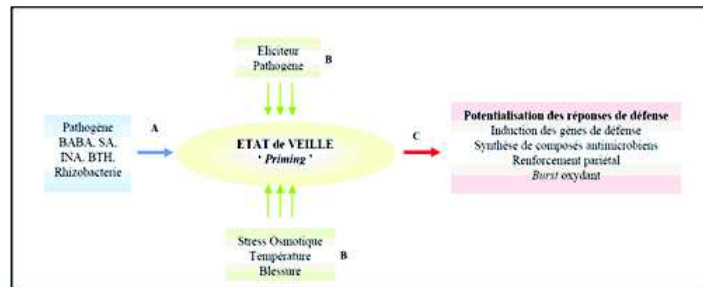
NPR1 (Non-Expressor of Pathogenesis-Related Genes1)

Les NPR1 sont des cofacteurs responsables de la reprogrammation transcriptionnelle du génome végétal induite par les phytopathogènes (Shearer et al., 2009). Les NPR1 activent la transcription des protéines de défense PR (Pathogenesis-Related) (Cao et al., 1994). La surexpression de ces protéines renforce la résistance des plantes aux maladies (Friedrich et al., 2001). Il a été constaté que l'ISR exige les NPR1, qui sont impliqués dans la perception de plus d'un signal (Pieterse et al., 2001). De même pour la SAR mais leur rôle n'est pas identique (Van Wees et al., 2000), ce qui suggère que les NPR1 sont nécessaires dans la régulation et la connexion entre les voies des défenses induites (Figure 9) (Dong, 2004 ; Pieterse et Van Loon, 2007 ; Pieterse et al., 2009). L'action des NPR1 est liée à une régulation dans le noyau pour l'expression de la SAR (Dong, 2004), par contre, le rôle de ces protéines dans la voie de signalisation dépendante de l'AJ et l'ET est attribué à une fonction cytosolique (Stein et al., 2008). Toutefois, le mécanisme moléculaire exacte par lequel les NPR1 exercent leur rôle dans la voie AJ/ET reste à élucider (Van der Ent et al., 2009b).

C.Priming (Mise en alerte)

Une caractéristique commune de la résistance systémique élicitee par les rhizobactéries est le priming : la potentialisation des réponses de défense (Figure 10). Ce phénomène a été signalé par plusieurs auteurs (Conrath et al., 2002 ; Goellner et Conrath, 2008 ; Pavlo et al., 2010 ; Tonelli et al., 2011). Priming est un état physiologique qui permet aux plantes d'exprimer plus rapidement et efficacement leurs propres réactions de défense (Beckers et Conrath, 2007 ; Ton et al., 2009 ; Van der Ent et al., 2009b ; Pavlo et al., 2010) et

permet également d'économiser leur énergie (Pavlo et al., 2010). Cet aspect a été associé à différentes formes de résistances aux situations de stress rencontrées (Bruce et Pickett, 2007 ; Ton et al., 2009). La mise en alerte peut se déclencher à la suite d'une attaque par un pathogène nécrotrophe ou encore par un traitement avec des composants naturels ou synthétiques. Bien que ce phénomène soit connu depuis des années, il n'a été apprécié que récemment (Beckers et Conrath, 2007 ; Van der Ent et al., 2009b ; Pavlo et al., 2010).



A : Mise en état d'alerte (Priming), B : Exposition secondaire à un stress biotique ou abiotique, C : Potentialisation des réponses. Chez les plantes, le traitement avec l'acide salicylique, le BABA (acide β -aminobutyrique), l'INA (acide 2,6-dichloroisocotinique) ou le BTH (acibenzolar-S-méthyl) prépare les cellules à réagir plus rapidement et plus efficacement aux agressions ultérieures.

Figure 10 : Phénomène de potentialisation chez les plantes supérieures (Conrath et al., 2002).

Les réactions de défense de l'ISR sont exprimées uniquement sous l'effet d'une attaque par des agents pathogènes, renforçant le niveau de résistance aux envahisseurs rencontrés (Van der Ent et al., 2009b). Le priming peut expliquer l'absence des changements de l'expression des gènes de défense en absence du pathogène chez les plantes bactériées (Pieterse et al., 2001). Cette caractéristique chez les plantes supérieures indique une certaine capacité de mémoire (Bruce et al., 2007).

Ton et ses collaborateurs suggèrent que les facteurs de transcription jouent un rôle important dans la régulation et le fonctionnement du priming. L'induction de la mise en alerte des plantes peut déclencher une accumulation accrue de ces facteurs, on peut supposer que ces facteurs de transcription restent inactifs jusqu'à ce que la plante sera exposée à un agent pathogène, parce que les mécanismes de défense ne sont pas directement exprimés lors de l'induction de ce phénomène, (Ton et al., 2009). L'exposition à un agent inducteur peut activer un ou un ensemble de gènes, des modifications au niveau des métabolites de signalisation ou des facteurs de transcription ou encore les changements épigénétiques pourraient jouer un rôle dans la mise en alerte, en permettant des changements à long terme dans l'expression des gènes (Bruce et al., 2007).

Concernant la potentialisation des gènes, Van Wees et ses collaborateurs ont testé l'expression des gènes connus liés à la défense chez *Arabidopsis* : les gènes de réponse à l'AS (PR-1, PR-2, et PR-5), le gène induit par l'ET (Hel), les gènes de réponse à l'ET et l'AJ (ChiB et Pdf1.2) et les gènes induits par l'AJ (Atvsp, LOX1, Lox2, PAL1, et PIN2). L'infection par le pathogène virulent *P. syringae* pv. tomato DC3000 induit l'expression de la plupart des gènes testés. Le déclenchement de la SAR par la même souche du pathogène avirulente induit l'expression potentialisée des gènes inductibles par l'AS. L'ISR ne potentialise qu'un seul gène induit par l'acide jasmonique. Les autres gènes sensibles à l'AJ n'ont pas été potentialisés, ce qui suggère que l'ISR n'active que certains gènes spécifiques (Van Wees et al., 1999).

Chez *Arabidopsis* l'expression de l'ISR par *Pseudomonas fluorescens* WCS417r exige l'existence d'un locus désigné ISR1 (Pieterse et al., 2001). L'analyse des feuilles

d'*Arabidopsis* après la colonisation des racines avec *P. fluorescens* WCS417r, montre une amélioration de la capacité à convertir le précurseur de l'éthylène (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) en l'éthylène. Cette amélioration mène à une expression potentialisée des gènes sensibles à l'éthylène (Pdf1.2 et Hel) (Hase et al., 2003).

C.Mécanismes de défense

Certains mécanismes de défense sont constitutifs alors que d'autres sont induits (Klarzynski et Fritig, 2001). A cause de l'adaptation des agents pathogènes aux structures passives de défense, les plantes ont évolué une diversité de molécules bioactives, nouvelles et différentes pour combattre les organismes nuisibles (Arnason et Bernard, 2010).

Enzymes liées à l'ISR

L'induction de la résistance systémique chez les plantes par les PGPR a été remarquée par l'augmentation transitoire de la teneur en certaines enzymes. Parmi ces enzymes : la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), la peroxidase (PO) et la polyphénol oxydase (PPO) (Umamaheswari et al., 2009 ; Liang et al., 2011). La PAL est l'une des enzymes jouant un rôle important au cours du développement de la défense (Song et Wang, 2008), enzyme clé de la voie phénylpropanoïdes conduisant à l'accumulation des phytoalexines (Rosa et al., 2005). L'augmentation ou la diminution de l'activité de la PAL est bien corrélée avec le degré de résistance de la tomate ainsi que la teneur totale en phénol (Umesha, 2006). Les PO sont de nature glycoprotéine, se trouvent dans les vacuoles (Passardi et al., 2005). Ces PO sont surexprimées afin de limiter la propagation de l'infection en créant des obstacles structurels (Passardi et al., 2005) : la formation de la lignine, la subérine et la réticulation des composants de la paroi cellulaire et ils sont impliqués dans la synthèse des phytoalexines (Almagro et al., 2009). Ces enzymes peuvent générer un environnement hautement toxique en produisant massivement les ROS et les espèces réactives azotées (Passardi et al., 2005). Les PPO sont impliquées dans la résistance aux maladies par l'hydroxylation des monophénols en quinones qui sont souvent plus toxiques pour les micro-organismes (Tableau 7) (Gandia-Herrero et al., 2005).

Renforcement de la paroi

Les cellules végétales peuvent renforcer leur paroi pecto-cellulosique, ce qui constitue un obstacle efficace pour limiter les agents pathogènes (Hancock et al., 2002 ; Heil et Bostock, 2002 ; Christian et Somerville, 2009). La chitine et la subérine, constituent les premières lignes de défense des plantes (Conrath et al., 2002). Les dépôts formés sont riches en papilles, ce qui épaissit la paroi cellulaire des plantes. Ces derniers se composent essentiellement de callose (β -1,3 glucane), impliqués dans plusieurs processus fondamentaux du développement des plantes. Les papilles ne peuvent pas arrêter complètement les pathogènes, mais peuvent ralentir l'invasion de l'agent pathogène (Christian et Somerville, 2009).

Tableau 3 : Mécanismes de défense stimulés par *Pseudomonas* spp. fluorescents chez les plantes.

<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	Hôtes/pathogènes	Mécanismes de défense	Références
<i>P. fluorescens</i> CHA0 <i>P. aeruginosa</i> 7NSK2	Vigne (<i>Vitis vinifera</i>) / <i>Botryti cinerea</i>	ROS et phytoalexines	Verhagen et al., (2010)
<i>P. fluorescens</i> WCS417r	<i>Arabidopsis thaliana</i> / <i>Hyaloperonospora arabidopsis</i>	Callose	Van der Ent et al., (2009a)
<i>P. fluorescens</i> PF10	Banane (<i>Musa</i> sp) / <i>F. oxysporum</i> f. sp <i>cubense</i>	PAL, PO, chitinase, β 1-3 glucanase et composés phénoliques	Thangavelu et al., (2003)
<i>P. corrugata</i> 13 <i>P. aureofaciens</i> 63-28	Concombre(<i>Cucumis sativus</i>) / <i>Pythium aphanidermatum</i>	PAL, PO et PPO	Chen et al., (2000)
<i>P. putida</i> BTP1	Concombre (<i>Cucumis sativus</i>) / <i>Pythium aphanidermatum</i>	Composés phénoliques, phytoalexine et d'autres	Ongena et al., (2000)
<i>Pseudomonas</i> spp.	Thé (<i>Camellia sinensis</i>) / <i>Exobasidium vexans</i>	PO, PPO, PO, chitinase et composés phénoliques	Saravanakumar et al., (2007)
<i>P. fluorescens</i> Pf1	Vigne (<i>Vitis vinifera</i>) / <i>Uncinula necator</i>	PO, PPO et chitinase	Sendhilve et al., (2007)

- Phytoalexines

Les phytoalexines sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire (Macheix et al., 2005), présentant une activité antimicrobienne nette et sont synthétisées à la suite d'une attaque par un agent pathogène (Heil et Bostock, 2002 ; Mert-Türk, 2002 ; Macheix et al., 2005 ; Flors et Nonell, 2006). Les propriétés antimicrobiennes des phytoalexines suggèrent qu'elles sont importantes dans la défense des plantes. Le rôle de ces composés dans la défense a été révélé à travers plusieurs approches expérimentales : le niveau des phytoalexines par rapport à la cessation de la croissance des agents pathogènes, la quantification des phytoalexines au niveau du site de l'infection et la relation de la virulence du pathogène à la tolérance des phytoalexines (Mert-Türk, 2002).

Parmi les phytoalexines phénoliques on trouve : les coumarines, les ptérocarpanes et les stilbenes. La nature des phytoalexines produites par la plante est généralement caractéristique de l'espèce végétale indépendamment de l'agent pathogène inducteur (Macheix et al., 2005). Ces métabolites représentent un moyen très économique pour se défendre, parce que le carbone et les ressources énergétiques ne sont renvoyés vers la synthèse des phytoalexines, que lors d'une d'attaque par des agents pathogènes (Flors et Nonell, 2006).

- **Protéines PR (Pathogenesis-Related)**

Plusieurs protéines sont impliquées dans la stratégie de défense des plantes, les protéines PR constituent un groupe induit par différents stimuli. Ces protéines occupent un rôle important dans la résistance des plantes et l'adaptation aux stress (Edreva et al., 2005). Elles s'accumulent dans les tissus des plantes à la suite d'une attaque par les pathogène ([Lepoivre](#) , 2003 ; Gomez-Ariza et al., 2007). Les protéines PR ont été découvertes dans les feuilles de tabac infectées par le virus de la mosaïque. Le groupe de ces protéines comprend des enzymes hydrolytiques : les protéines PR-2 (la glucanase) et PR-3 (la chitinase) (Ding et al., 2001 ; Elvira et al., 2008). Ainsi que d'autres types comme : PR-5(osmotin-like protein) et PR-16 (germin-like protein) (Elvira et al., 2008).

- Espèces réactives d'oxygène

La stimulation du métabolisme oxydatif dans les cellules végétales est une forme de défense induite à la suite des attaques par les agents pathogènes (**Levine et al ., 1994 ; Liu et al ., 2010**) . Les ROS présentent une toxicité directe vis-à-vis des pathogènes que sur les cellules végétales. L'inhibition du pathogène par ces espèces est possible parce que la concentration endogène des ROS mesurée est avoisinante à la dose létale pour l'agent pathogène (Lepoivre, 2003).

PARTIE II :MATHERIEL ET METHODES

1. MATERIEL BIOLOGIQUE

1.1. Souches bactériennes

Dans notre étude nous avons utilisé deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (Tableau 4, Figure 11). Ces bactéries sont des souches de référence de la Collection Française de Bactéries Phytopathogènes (CFBP). Il s'agit de *Pseudomonas fluorescens* bv. II CFBP 5759 ou C7R12, mutant de la souche sauvage C12 ; résistant à la rifampicine (Eparvier et al., 1991) ; souche modèle, caractérisée par sa compétence écologique et sa capacité de biocontrôle (Mirleau et al., 2001). *Pseudomonas putida* bv. A CFBP 5741 ou DS131 est une souche isolée à partir du sol (Dijon, France), utilisée dans des travaux de biocontrôle (Lamanceau, 1992).

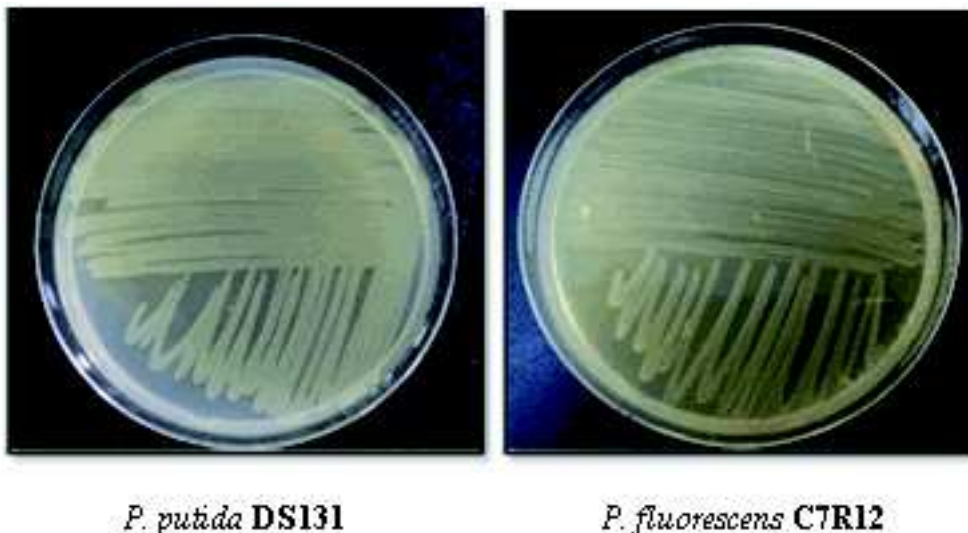


Figure 11 : Cultures des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur milieu King B.

1.2. Souche fongique

La souche fongique utilisée dans notre expérimentation est *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* **MUCL 43876 issue de la Mycothèque** de l'Université Catholique de **Louvain (MUCL)** (Tableau 4, Figure 12). Cette forme est responsable du flétrissement vasculaire de la tomate (Duyvesteijn et al., 2005 ; Michielse et al., 2009).

1.3. Espèce végétale

Notre étude a été effectuée sur la variété Marmande V de tomate (Annexe 1), plante hôte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Le choix de cette variété s'est basé sur sa

sensibilité à ce pathogène. Une désinfection de la semence a été réalisée selon la technique de [Messiaen](#) et al., (1991), en trempant les graines de tomate dans l'hypochlorite de sodium à 2° pendant 10 min, puis rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile et séchées par un papier filtre stérile.

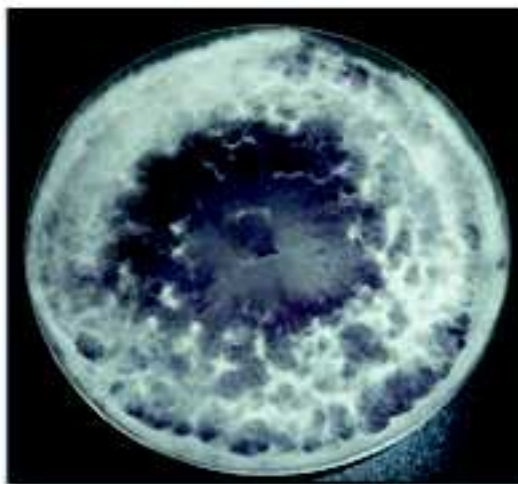


Figure 12 : Culture de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* sur milieu PDA

Référence		Origine d'isolement	Origine géographique	Année d'isolement
<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	C7R12	Lin <i>Linum usitatissimum</i>	France	1989
	DS131	Sol	France	Non donnée
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Snyder & Hansen	MUCL 43876	Tomate <i>Lycopersicon esculentum</i> L.	Maroc	1974

Tableau 4 : Souches bactériennes et fongique

2. SOL

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé au niveau de la station expérimentale du département d'Agronomie de l'Université de Blida. Le sol a subi un séchage et un tamisage (5 de diamètre) afin d'éliminer les éléments grossiers et d'assurer une granulométrie homogène. Pour éliminer la microflore native, le sol a été désinfecté selon la technique adoptée par Peltier (1996), Gauissou et al., (1998), à l'étuve (1 h à 120 °C).

3. CONDITIONS D'EXPERIMENTATION

L'expérimentation a été réalisée au niveau de la station expérimentale du département d'Agronomie de l'Université de Blida sous serre en polycarbonate, aérée par des fenêtres latérales et chauffée par des radiateurs. Le semis a été réalisé dans des pots marron en plastique de 11,5 cm de hauteur et de 12 cm de diamètre et d'une contenance de 600 g. Les pots ont été désinfectés par l'hypochlorite de sodium (2 °) et leur fond a été recouvert d'une couche de gravier de 1 cm d'épaisseur, pour assurer un bon drainage. Ensuite, les pots ont été remplis par le substrat désinfecté (2/3 sol + 1/3 tourbe). Le semis a été réalisé à raisons de trois graines par pot, avec un arrosage quotidien. Durant la période d'expérimentation, des relevés thermiques ont été notés, montrant des fluctuations remarquables (Annexe 2).

4. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Nous avons adopté un dispositif expérimental en trois blocs aléatoires complets (blocs 1, 2 et 3) (Figure 13), chaque bloc est composé des quatorze traitements étudiés, chaque traitement est représenté par dix plants par bloc, soit 30 plants par traitement (Tableau 5). Ce dispositif a été réalisé avec deux systèmes : split root et classique (non split root). La distribution des traitements au sein des trois blocs a été effectuée aléatoirement.



Figure 13 :dispositif expérimental

4.1. Système split root

Splitroot, est une méthode où le système racinaire est sectionné en deux ou plusieurs parties qui sont exposées à différentes conditions. Cette technique a été utilisée afin de caractériser la réaction d'une plante aux conditions hétérogènes (Sobeih et al., 2004). Le splitroot permet également de mettre en évidence l'effet d'un traitement localisé sur une partie de la racine et de déterminer les modifications physiologiques et moléculaires induites sur l'autre partie du système racinaire (Pervent et Nacry, 2008).

Dans notre expérimentation, afin de mettre en évidence l'induction de la résistance par les *Pseudomonas* spp. fluorescents, nous avons utilisé un système split root, décrit par plusieurs études (Liu et al., 1995 ; Fuchs et al., 1997 ; Ongena et al., 2000 ; Dutta et al., 2008).

	Traitements	Lot (A)	Lot (B)
Split root	T-	H ₂ O	H ₂ O
	T+	FOL	FOL
	T ₁	C7R12	FOL
	T ₂	DS131	FOL
	T ₃	C7R12 + DS131	FOL
	T ₄	C7R12	C7R12
	T ₅	DS131	DS131
	Classique	T-*	(H ₂ O)*
T+*		(FOL)*	
T ₁ *		(FOL + C7R12)*	
T ₂ *		(FOL + DS131)*	
T ₃ *		(FOL + C7R12 + DS131)*	
T ₄ *		(C7R12)*	
T ₅ *		(DS131)*	

* système classique.

Tableau 5 : Traitements appliqués

- T- : Témoin négatif (sain), plants traités avec l'eau distillée stérile dans les lots (A) et (B)
- T+ : Témoin positif (malade), plants infestés avec FOL dans les lots (A) et (B)
- T₁ , T₂ et T₃ : Plants bactérisés respectivement avec les souches C7R12, DS131 et leur combinaison dans le lot (A) et infestés avec FOL dans le lot (B)
- T₄ et T₅ : Plants bactérisés respectivement avec les souches C7R12 et DS131 dans les lots (A) et (B)
- T-* : Témoin négatif (sain); plants traités avec l'eau distillée stérile
- T+* : Témoin positif (malade); plants infestés avec FOL
- T₁ *, T₂ *, T₃ * : Plants bactérisés respectivement avec les souches C7R12, DS131 et leur combinaison et infestés avec FOL
- T₄ * et T₅ * : Plants bactérisés respectivement avec les souches C7R12 et DS131

L'induction de la résistance systémique par cette technique, implique l'incision du système racinaire de la plante en deux parties, positionnées respectivement sur deux compartiments (Pervent et Nacry, 2008), ce qui assure la séparation spatiale et physique entre le pathogène et l'antagoniste, alors que leurs actions s'exercent sur le même plant (Van Peer, 1991 ; Van Loon et al., 1998).

Mode opératoire

Au stade plant 40 jours après le semis, les plants sont déposés soigneusement, tout en se débarrassant du sol y adhérant. À l'aide d'un scalpel stérile la partie basale de la racine pivotante est éliminée et une incision est pratiquée à ce niveau, on obtient deux touffes racinaires séparées et de taille similaire. L'endroit de l'incision a été recouvert par un parafilm. Chaque partie est ainsi replantée dans un pot individuel, formant deux lots (A) et (B). Les souches bactériennes ont été appliquées dans le lot (A) selon les traitements et FOL a été inoculé dans le lot (B) (Figure 14).

4.2. Système Classique

Dans le but de comparer les activités de nos microorganismes, nous avons réalisé un système classique "non split" (Figure 13). Dans ce système, FOL et les souches bactériennes ont été inoculés ensemble. Théoriquement, les actions de biocontrôle et d'ISR s'expriment conjointement sans distinction.

5. INOCULATION

5.1. Inoculum bactérien

À partir de cultures conservées sur milieu King B (Annexe 3), les souches bactériennes ont été purifiées avec plusieurs repiquages à 30 °C pendant 24 h. À l'aide d'une anse de platine stérile, la crème bactérienne âgée de 48 h est raclée délicatement et mise en suspension dans 400 ml de l'eau distillée stérile, une bonne homogénéisation est pratiquée. Pour déterminer la concentration de cette suspension, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 600$ nm (Vijayan et al., 2006). Cette suspension a été ajustée par l'eau distillée stérile à une concentration de 10^8 cfu/ml et une quantité de 20 ml a été appliquée dans chaque pot (Ongena et al., 2002). Un rappel bactérien a été effectué 7 jours après la bactérisation.

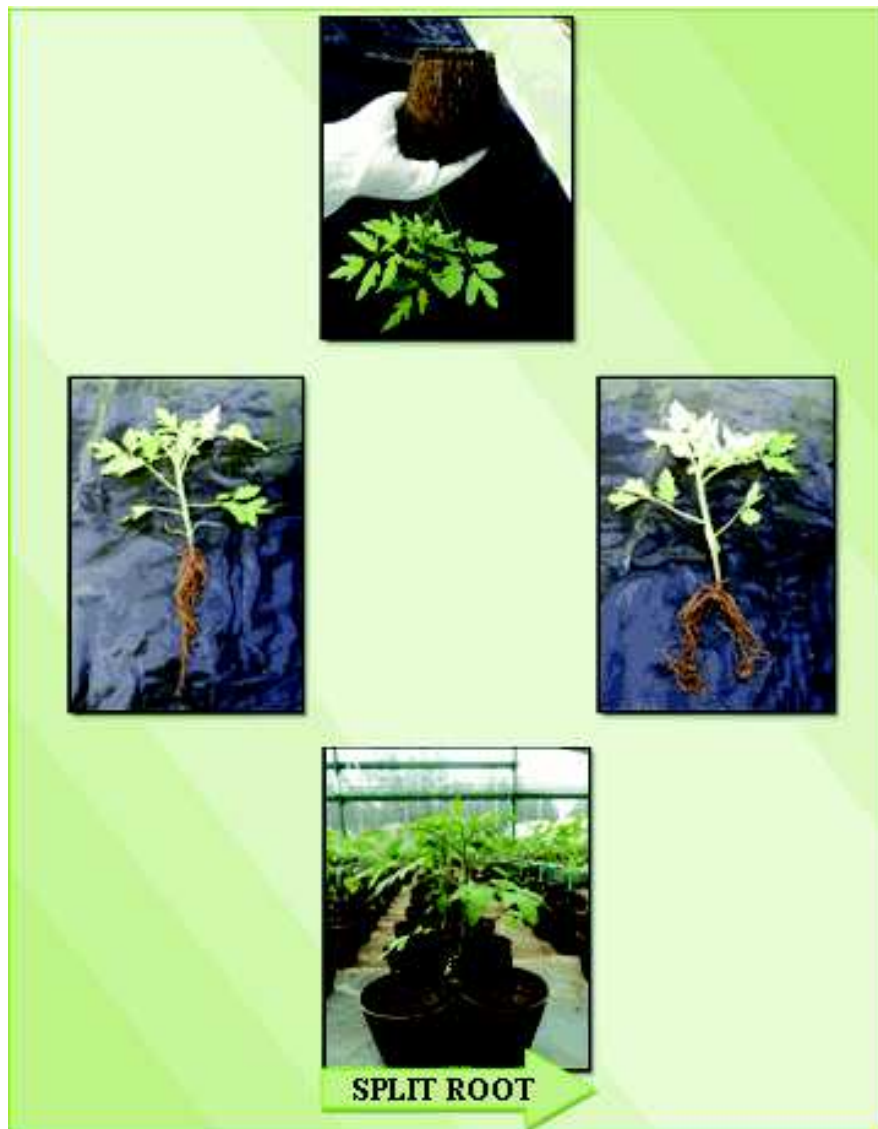


Figure 14 : Etapes de préparation des plants de tomate selon le système split root

5.2. Inoculum fongique

Afin de préparer l'inoculum nécessaire à l'infestation artificielle, FOLa été d'abord cultivé sur le milieu PDA gélosé (Potato Dextrose Agar) (Annexe 3) et incubé à 25 °C jusqu'au remplissage de la boîte de Pétri (7 jours) (Moya et *al.*, 2004). Les cultures obtenues sont raclées et mises en agitation dans le milieu nutritif PDA liquide (Annexe 3) pendant 8 jours (Tello-marquina et Alabouvette, 1984). La suspension obtenue a été ajustée par l'eau distillée stérile à une concentration de 10^6 conidies/ml à l'aide de la cellule de Malasseze. Selon Musoni et *al.*, (2010), une quantité de 20 ml de cette suspension a été appliquée dans chaque pot. D'après Liu et *al.*, (2008), l'infestation a été réalisée quatre jours après la bactérisation. Un rappel fongique a été effectué 7 jours après l'application de la suspension cryptogamique.

6. ANTAGONISME *IN VITRO*

Un essai préliminaire d'antagonisme *in vitro* a été réalisé, ce test consiste en la vérification et l'estimation des actions antagonistes des *Pseudomonas* spp. fluorescents. L'activité antagoniste vis-à-vis de FOLa été étudiée sur trois milieux nutritifs : milieu PDA favorable au développement de FOL, le milieu King B favorable au développement des *pseudomonas* et le milieu mixte équilibré composé de parts égales des deux premiers milieux (King B + PDA).

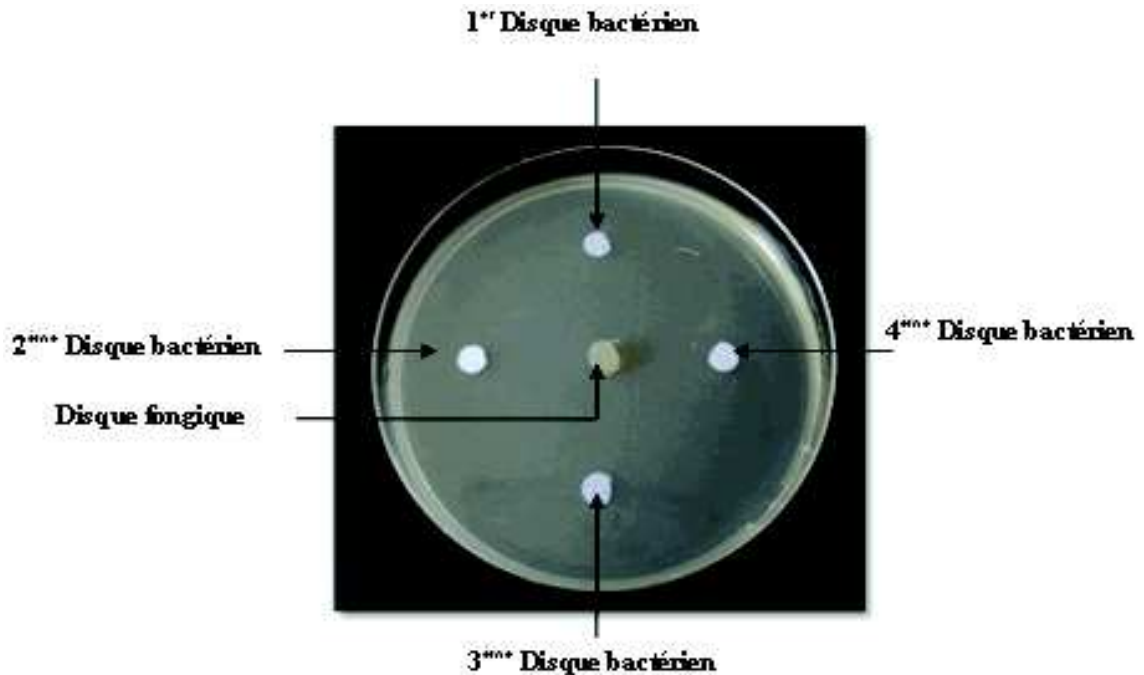


Figure 15: Essai d'antagonisme *in vitro* entre *Pseudomonas* spp. et *Fusarium* spp.

L'essai d'antagonisme *in vitro* consiste à mettre au centre d'une boîte de Pétri un disque gélosé de FOL (5 mm de diamètre) d'une culture de 7 jours sur milieu PDA (Annexe 3) et quatre disques de papier filtre (5 mm de diamètre) stérile imbibés de crème bactérienne d'une culture de 24 h sur milieu King B (Annexe 3) dans la périphérie à une distance de 2,8 cm du centre de la boîte de Petri (Figure 15). Le but de cet essai était de vérifier la capacité des *Pseudomonas* spp. fluorescents à réduire la croissance mycélienne. Après 7 jours d'incubation à 25 °C, les mensurations des diamètres de croissance de FOL ont été effectuées afin évaluer les effets d'inhibition.

7. PARAMETRES ETUDIÉS

- Pour mettre en évidence et d'estimer les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur le biocontrôle, l'induction de la résistance systémique et la phytostimulation, nous nous sommes intéressés au suivi de trois types de paramètres concernant la maladie, les aspects physiologique et biochimique, la croissance et la production.

- Evolution de la maladie : Nous avons fixé quatre types d'analyses, le taux d'infection, l'indice de Mackinney (la sévérité), la gravité et le taux de bioprotection
- Aspects physiologique et biochimique : Pour évaluer l'aspect général de la plante nous avons procédé au dosage de la chlorophylle totale, la proline et les protéines totales
- Croissance et production : L'appréciation s'est orientée sur les mensurations des biomasses fraîches et sèches de la partie aérienne et racinaire, la longueur des racines, la hauteur des plants et le nombre de fruits par plant.

7.1. Evolution de la maladie

Durant notre expérimentation, un suivi quotidien des symptômes a commencé 24 h après l'application de la suspension fongique pendant une période de 43 jours (Tableau 6, Figure 16). La notation des symptômes typique de la fusariose vasculaire a été réalisée individuellement sur chaque plant pour évaluer les paramètres de la maladie selon des formules définies.

7.1.1. Taux d'infection

Ce taux exprime le pourcentage des plants malades, relativement au nombre total des plants (N) examinés et le nombre des plants malades (n) (Manikandan et *al.*, 2010)

$$\text{Taux d'infection (\%)} = (\sum n / N) \times 100$$

n : Nombre des plants malades

N : Nombre total des plants observés

Tableau 6 :Echelle d'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de la tomate

Tableau 6 :Echelle d'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de la tomate

Classe	Symptômes
« 0 »	Pas de symptômes
« 1 »	Jaunissement unilatéral
« 2 »	Jaunissement généralisé
« 3 »	Flétrissement unilatéral Décoloration longitudinale et unilatérale de la tige
« 4 »	Flétrissement généralisé
« 5 »	Mortalité

7.1.2. Indice de McKinney (Sévérité)

La sévérité de la fusariose vasculaire a été évaluée par le calcul de l'indice de Mckinney (Mckinney et *al.*, 1923).

$$\text{Indice de McKinney (\%)} = [\sum (f \cdot v) / N \cdot X] \times 100$$

f : Classe de l'infection (1 à 5)

v : Nombre des plants par chaque classe

N : Nombre total des plants observés

X : Valeur la plus élevée de l'échelle d'évaluation (5).

7.1.3. Gravité de la maladie

Dans le but d'estimer la valeur de la classe moyenne des symptômes de la fusariose vasculaire, nous avons appliqué la formule de Ippolito (Ippolito, 2010).

$$G = \sum (f \cdot v) / n$$

G : Gravité de la maladie

f : Classe de l'infection (1 à 5)

v : Nombre des plants par chaque classe

n : Nombre des plants malades



Figure 16 : Symptomatologie typique de la fusariose vasculaire de la tomate

7.1.4. Taux de bioprotection

Les taux de bioprotection expriment les pourcentages de réduction de l'infection et de l'indice de McKinney par rapport aux plants malades (témoins positifs). Ces taux ont permis d'apprécier l'effet des PGPR appliqués sur l'inhibition de la fusariose vasculaire de la tomate.

7.2. Aspects physiologique et biochimique

La chlorophylle totale, la proline et les protéines totales, ont été dosés dans le but d'estimer l'effet de l'apport des PGPR et de FOL sur l'état général des plants de tomate.

Afin de suivre la progression et le comportement de l'action des PGPR appliqués, les dosages ont été réalisés en six périodes définies selon l'évolution de la symptomatologie. L'objectif étant d'apprécier l'évolution des paramètres étudiés juste et quelques semaines après la bactérisation et l'infestation

Période 1 : 4 jours de bactérisation ; 55 jours de plantation

Période 2 : 7 jours de bactérisation ; 3 jours d'infection ; 59 jours de plantation

Période 3 : 17 jours de bactérisation ; 13 jours d'infection ; 69 jours de plantation

Période 4 : 25 jours de bactérisation ; 21 jours d'infection ; 77 jours de plantation

Période 5 : 34 jours de bactérisation ; 30 jours d'infection ; 86 jours de plantation

Période 6 : 43 jours de bactérisation ; 39 jours d'infection ; 95 jours de plantation

Pour réaliser les dosages, un échantillon représentatif de feuilles médianes a été pris à partir des trois blocs, en adoptant un dispositif en randomisation totale avec trois répétitions pour chaque traitement.

7.2.1. Chlorophylle totale

La chlorophylle est un pigment vert, responsable de la capture de l'énergie lumineuse utilisée dans la photosynthèse (Hopkins, 2003), assure la croissance des plantes en combinant l'eau et le gaz carbonique nécessaires à l'élaboration de sucres et d'amidon, source d'énergie indispensable au métabolisme de la plante (Vallée et al., 1999). En raison de la symptomatologie caractérisant la fusariose vasculaire, exprimant un jaunissement indicateur de disparition progressive de la chlorophylle. Il a été procédé au dosage de ce pigment, jouant un rôle principal dans la croissance végétale.

Les teneurs en chlorophylle totale ont été déterminées par la méthode de Francis et al., (1970), qui consiste à broyer 100 mg de matière fraîche (MF) de chaque répétition dans un mortier, en utilisant 10 ml d'une solution de 75 % d'acétone et de 25 % d'éthanol (40 %). Ensuite, la solution obtenue a été mise dans des tubes à essais hermétiquement fermés et conservés pendant 48 h à 4 °C à l'abri de la lumière. La lecture des absorbances avec le

surnageant apparu a été réalisée à la longueur d'onde de $\lambda = 663$ nm pour la chlorophylle a et à la longueur d'onde de $\lambda = 645$ nm pour la chlorophylle b.

$$\text{Chlorophylle a (mg/g MF)} = [12,7 A_{(663)} - 2,69 A_{(645)}] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{Chlorophylle b (mg/g MF)} = [22,9 A_{(645)} - 4,68 A_{(663)}] \times V/(1000 \times W)$$

$$\text{Chlorophylle totale (a + b)} = [20,2 A_{(645)} + 8,02 A_{(663)}] \times (V/1000W)$$

A : Absorbance

V : Volume de la solution extraite

W : Masse de la matière fraîche

7.2.2. Proline

la synthèse de la proline est une mesure adaptative prise par les plantes, qui peut être une réponse aux stress abiotiques (Csonka, 1988) ou biotiques (Slama et al., 2006). L'application des *Pseudomonas* sp. augmente la teneur en proline chez les plantes (Kohler et al., 2008) et également dans des conditions salines (Naz et Bano, 2010). La proline peut être impliquée dans l'induction de la résistance systémique chez les plantes (Niranjan et Shetty, 2004). Dans notre expérimentation, nous avons dosé la proline, afin de caractériser la réponse des plants de tomate à la suite de l'application des microorganismes, soit bénéfiques soit pathogènes ou leur association, qui peuvent conduire à un déséquilibre de

l'environnement rhizosphérique, ou encore leur implication dans la résistance, en menant la plante à surexprimer la proline.

La proline a été dosée selon la technique utilisée par Monneveux et Nemmar, 1986. Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique. La proline se couple avec la ninhydrine formant un complexe coloré. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon. Ce dosage consiste à mettre 100 mg de matière fraîche végétale dans des tubes à essai et d'ajouter 2 ml de méthanol (40 %). Les tubes couverts (pour éviter la volatilisation de l'alcool) sont portés au bain-marie à 85 °C pendant 60 min. Après refroidissement, 1 ml de la solution a été prélevé de chaque tube, auquel nous avons ajouté 1 ml d'acide acétique et 25 mg de ninhydrine et 1 ml d'un mélange de (120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique). Les tubes à essai sont portés à l'ébullition durant 30 min. Après refroidissement des solutions, ajouter 5 ml de toluène dans chaque tube et agiter au vortex, ce qui conduit à l'apparition de deux phases, la phase supérieure a été prélevée et additionnée avec 5 mg de sulfate de sodium, laisser au repos pendant 48 h.

La lecture de l'absorbance (A) des échantillons avec le spectrophotomètre à été effectuée à la longueur d'onde de $\lambda = 528$ nm. La détermination de la teneur de la proline est réalisée selon la formule suivante:

$$\text{Proline } (\mu\text{g/g MF}) = A_{528} \times 0,62$$

7.2.3. Protéines totales

Les protéines totales peuvent exprimer des situations métaboliques selon les états de croissance et les aspects physiologique et biochimique qui les accompagnent. Ces métabolites peuvent s'accumuler dans des conditions de contrainte hydrique (Zerrad et al., 2008), sont plus élevées à la suite de l'application de pesticides (Bordjiba, 2009). Les mécanismes de protection élicités par les plantes en réponse à l'agression parasitaire peuvent être le résultat d'une néosynthèse de protéines (Martinez, 1997). L'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents induit la synthèse des protéines, qui sont impliquées dans les mécanismes de défense des plantes (Ramamoorthy et al., 2001). A cet effet, nous cherchons à mettre en évidence éventuellement la relation entre la teneur en protéines totales et la résistance.

Pour déterminer la teneur en protéines totales nous avons appliqué le protocole de Jones et al., (1989) : 100 mg de matière végétale fraîche a été finement broyé dans 6 ml d'une solution de NaOH (pH 12,8 ; N 0,1), les échantillons sont agités pendant 3 secondes sur un agitateur vortex et laissés à extraire 30 min à la température ambiante. Ensuite, les échantillons sont remixés et centrifugés pendant 5 min à grande vitesse (> 5000g) (Jones et al., 1989). La lecture de l'absorbance a été réalisée avec le surnageant obtenu à deux longueurs d'onde : $\lambda = 280$ nm et $\lambda = 260$ nm (Walker, 2002).

$$\text{Protéines totales (mg/ml)} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$$

7.3. Croissance et production

A la fin de notre expérimentation, des paramètres de croissance et de production ont été analysés afin d'évaluer l'effet phytostimulateur des *pseudomonas* appliqués.

- Les parties aériennes des plants ont été coupées à partir du collet, la hauteur des plants (du collet à l'apex), le poids frais des (tige+feuilles) et des fruits, le nombre de fruits par plant ont été déterminés.
- Les racines sont secouées et lavées pour les débarrasser du substrat y'adhérant, étalées soigneusement et leurs longueurs sont mesurées à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à l'extrémité du chevelu racinaire. Ensuite, le poids frais a été déterminé pour chaque plant.
- La matière sèche de la biomasse aérienne et racinaire a été estimée à l'étuve à 75 °C jusqu'à ce que le poids se stabilise.

8. VIABILITE ET DYNAMIQUE DES PSEUDOMONAS ET DE FOL

A la fin de notre expérimentation, des échantillons du sol rhizosphérique et de système racinaire sont prélevés, afin de s'assurer de la présence des microorganismes appliqués et d'estimer leur dynamique. Ces prélèvements ont été effectués à partir de plants où chaque microorganisme a été appliqué seul, pour vérifier la dynamique par rapport aux plants de tomate. Pour chaque souche bactérienne ou fongique, trois échantillons représentatifs ont été prélevés. Les prélèvements ont été conservés dans des conditions stériles au réfrigérateur à 4 °C.

Pour déterminer la présence des microorganismes appliqués, les parties racinaires sont débrassées du sol y'adhérant, découpées en courts fragments, rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile, séchées sur papier filtre stérile et sont déposés aseptiquement sur les milieux nutritifs gélosés PDA pour FOL ou King B pour PGPR. L'incubation a été effectuée à 30 °C pendant 24 à 48 h pour les PGPR et à 25 °C durant trois à cinq jours pour le FOL.

L'estimation de la dynamique des microorganismes appliqués est nécessaire. La méthode utilisée est basée sur les suspensions-dilutions du sol rhizosphérique et des fragments racinaires. Cette méthode permet d'estimer la concentration finale des microorganismes au niveau de la rhizosphère et des racines, sachant que la concentration initiale était de 10^8 cfu/ml pour les bactéries et de 10^6 conidies/ml pour l'agent fongique. A cet effet, nous avons adopté la procédure de dénombrement suivante:

1g de racine ou du sol rhizosphérique a été pesé et mis dans un tube à essais contenant 9 ml de l'eau distillée stérile (dilution 10^{-1}). Homogénéiser au vortex, à partir de cette dilution une série de dilutions successives a été réalisée avec l'eau distillée stérile jusqu'à la dilution 10^{-11} pour les PGPR et 10^{-5} pour le FOL. Les ensemencements ont été effectués avec les dilutions : 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} , 10^{-9} et 10^{-11} pour les PGPR et 10^{-2} , 10^{-4} et 10^{-5} pour le FOL. Une quantité de 0,1 ml pour chaque dilution a été ensemencée dans des boîtes de Pétri contenant le milieu King B ou le milieu PDA avec trois répétitions pour chaque dilution. L'étalement a été réalisé par des billes en verre stériles. Le dénombrement a été effectué

sur des colonies apparues après 24 h pour les bactéries et 3 à 5 jours pour le FOL. La concentration de la solution mère a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration (cfu/ml) ou (conidies/ml)} = \text{Nombre de colonies / Volume} \times \text{Dilution}$$

9. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Statistical Analysis System (SAS, version 9.0, 2004). Tous les paramètres analysés ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) et sont comparés par le test de Newman-Keuls. Les paramètres de l'évolution de la maladie et les paramètres de croissance ont été analysés par bloc tandis que, les aspects physiologique et biochimique ont été analysés par randomisation totale avec trois répétitions.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. ANTAGONISME IN VITRO

L'effet antagoniste des PGPR testés a été évalué à travers la réduction des diamètres de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Le résultat de cet essai préliminaire a montré une activité inhibitrice appréciable et variable selon les souches des *Pseudomonas* spp. fluorescents et selon les milieux de culture, induisant des taux d'inhibition relativement élevés (Tableau 7). L'analyse statistique des diamètres de la croissance mycélienne a révélé une différence très hautement significative entre les traitements (Annexe 4). Selon le test de Newman-Keuls, les moyennes ont été classées en cinq groupes homogènes (a, b, c, d et e) avec trois chevauchements (ab, bc et cd) (Figure 17).

Milieux	Diamètres de croissance de FOL (cm)			Taux d'inhibition de FOL (%)	
	Témoin	C7R12	DS131	C7R12	DS131
King B	7,67 ± 0,29 (ab)	4,13 ± 0,15 * (e)	6,83 ± 0,80 (cd)	46,15	10,95
PDA	7,30 ± 0,22 (bc)	6,50 ± 0,00 (d)	7,27 ± 0,19 (bc)	10,96	0,41
King B + PDA	8,00 ± 0,00 (a)	4,23 ± 0,21 (e)	8,00 ± 0,00 (a)	47,13	0

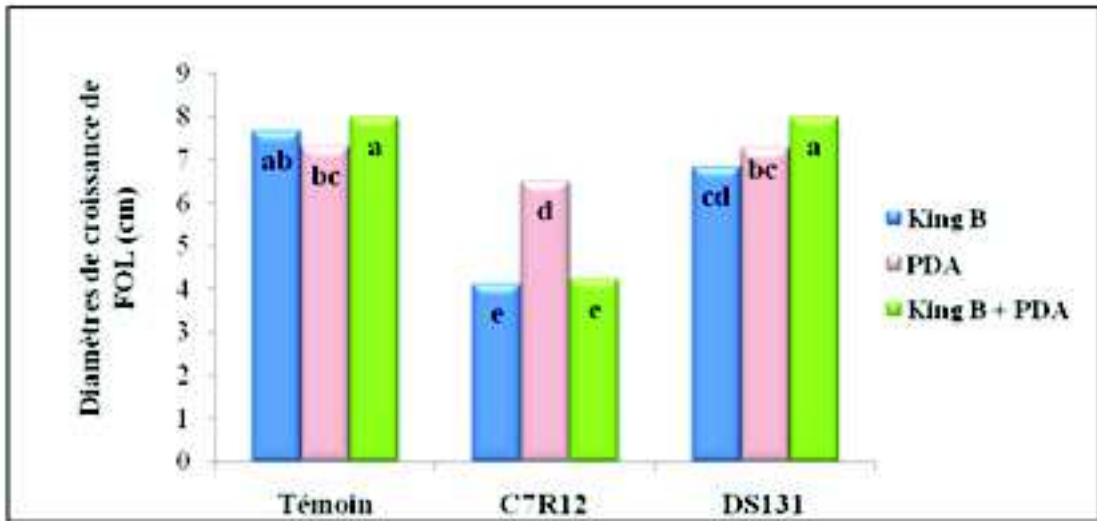
*Ecart type issu des trois répétitions

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Tableau 7: Activités antagonistes entre *Pseudomonas* spp. et *Fusarium* spp

Comparativement à la croissance mycélienne du témoin en l'absence des antagonistes, la souche C7R12 a présenté une activité inhibitrice notable et nettement supérieure par rapport à la souche DS131, où nous avons enregistré des diamètres faibles de la croissance mycélienne, avec un effet plus marquant sur le milieu King B (4,13 cm) et le milieu mixte (King B + PDA) (4,23 cm). L'effet de cette souche sur le milieu PDA est moins important, avec un taux de régression de 10,96 %. La souche DS131 n'a montré aucun effet d'antagonisme sur les milieux PDA et mixte, alors qu'une faible réduction significative est enregistrée sur le milieu King B (6,83 cm) (Figure 18).

Les valeurs



Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 17: Activités antagonistes entre *Pseudomonas* spp. et *Fusarium* spp

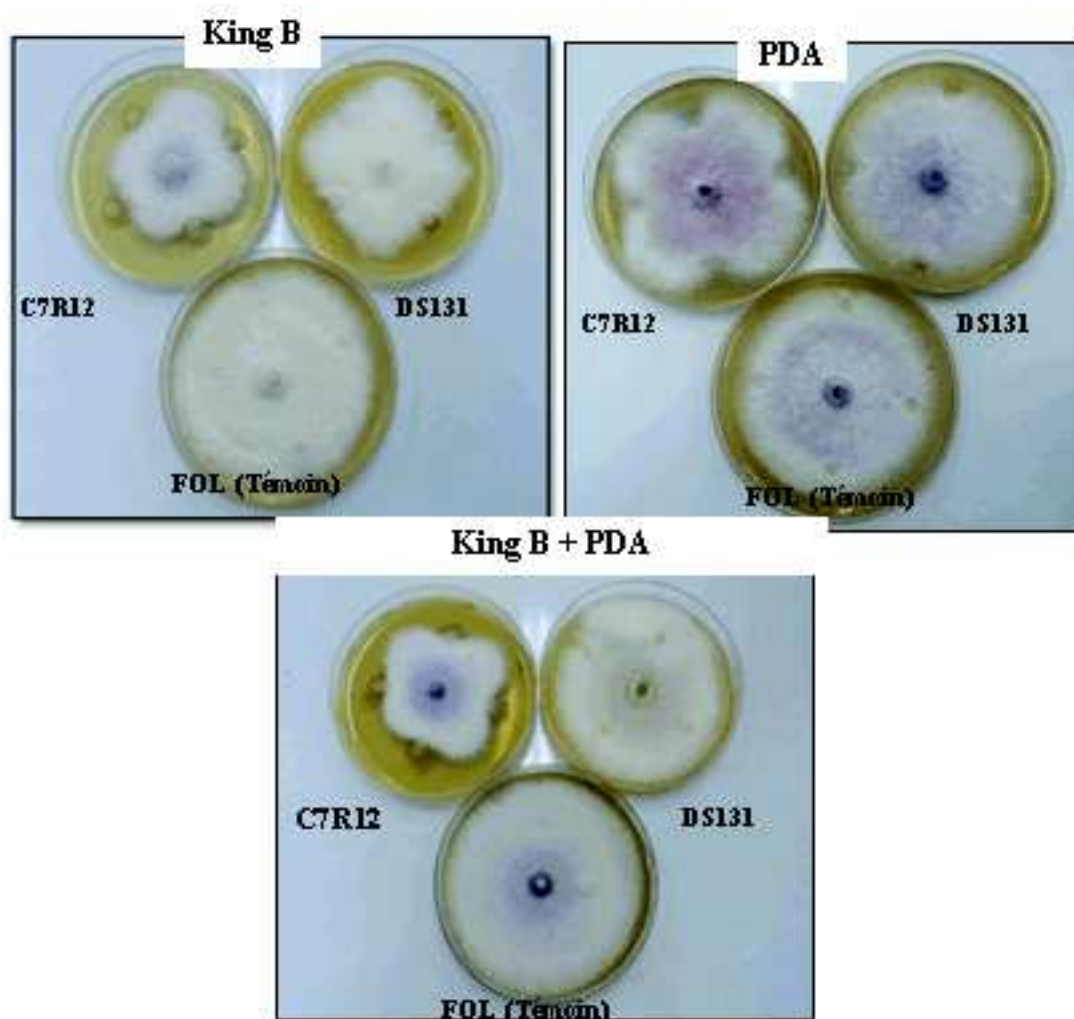


Figure 18: Antagonisme *in vitro* entre *Pseudomonas* spp. et *Fusarium* spp

Le test d'antagonisme *in vitro* a permis d'estimer le potentiel inhibiteur des souches C7R12 et DS131 de *Pseudomonas* fluorescents vis-à-vis de la souche phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Cette évaluation a révélé des intensités inhibitrices variables selon les souches antagonistes et la nature des milieux. La C7R12 réduit fortement la croissance mycélienne de FOL sur les milieux King B (46,15 %) et mixte (47,13 %), tandis qu'une faible inhibition est constatée sur le milieu PDA. L'activité inhibitrice de la souche DS131, n'a été significative que sur le milieu King B.

Plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été signalées par leur effet antagoniste (Lepoivre 2003 ; Fernando et al., 2005 ; Reddy et Rao, 2009), notamment vis-à-vis de plusieurs espèces de *Fusarium* où les travaux de Farhan et al., (2010) rapportent un maximum d'inhibition de 94,6 %. Egalement, cette activité bio-inhibitrice a été constatée vis-à-vis de *Dematophora necatrix* (Cazorla et al., 2006) et de *Penicillium* (Etebarian et al., 2005).

Les PGPR antagonistes agissent sur les agents pathogènes en empêchant leur développement par l'inhibition de leur germination et/ou leur sporulation et/ou en interférant avec leurs éléments de pathogénicité (Haas et Défago, 2005 ; Suty, 2010). Cet antagonisme se révèle particulièrement de compétition pour les éléments nutritifs et l'espace (Nakkeeran

et *al.*, 2005 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009), la production d'antibiotiques (antibiose) et d'enzymes lytiques (parasitisme) (Denton, 2007 ; Suty, 2010).

Pseudomonas spp. fluorescents produisent le DAPG, un antibiotique à large spectre vis-à-vis des virus, des bactéries et des champignons (Kwak et al., 2011). Ce métabolite antimicrobien est efficace contre *Phytophthora ultimum* (Lepoivre, 2003) et *Gaeumannomyces graminis var. tritici* (Cook, 2007). *Pseudomonas fluorescens* synthétise diverses enzymes lytiques, β -1,3-glucanases et β -1,4-glucanases et des lipases, qui ont provoqué la lyse de la paroi cellulaire de *Phytophthora capsici* (Diby et al., 2005a). *Pseudomonas fluorescens* CHA0 secrète une protéase extracellulaire qui est impliquée dans le biocontrôle d'un nématode (*Meloidogyne incognita*) au cours de l'infection de la tomate et du soja (Siddiqui et al., 2006). *Pseudomonas* spp. fluorescents diffusent le cyanure d'hydrogène, qui assure une activité antimicrobienne à large spectre dans le contrôle biologique des maladies telluriques de nombreuses plantes (Ramette et al., 2003).

L'activité antagoniste des *Pseudomonas fluorescens-putida* implique la production de la pyoverdine (Colin, 1988). Cette production est dépendante de la nature du milieu (King et al., 1954), en cas de carence en ions ferriques, la synthèse des pyoverdines est stimulée (Ravel et Cornelis, 2003). Le milieu King B est un milieu carencé en fer, favorise la synthèse de la pyoverdine par les *Pseudomonas* fluorescents afin de chélater les ions ferriques et de les transporter ([Eyquem](#) et al., 2000), cette chélation réduit la disponibilité du fer pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieaux et al., 2003). L'addition des ions ferriques inhibe l'activité antagoniste des *pseudomonas* *in vitro*, de même, des mutants déficients en sidérophores ne peuvent plus réduire la croissance des agents pathogènes (Fernando et al., 2005).

Nos résultats suggèrent que le principal mécanisme chez la souche C7R12 est la production de sidérophores sur le milieu King B, mais sur le milieu mixte et PDA, des actions cumulatives (antibiose, parasitisme) peuvent être l'origine de l'effet antagoniste chez cette souche, sans omettre l'implication de d'autres mécanismes connus chez cette souche. Dans nos conditions, la souche DS131 n'a présenté qu'un seul mode d'action sur le milieu King B, ce qui explique son inefficacité sur les milieux PDA et mixte, montrant le rôle principal de l'activité des sidérophores dans le processus d'antagonisme *in vitro*.

2. EVOLUTION DE LA MALADIE

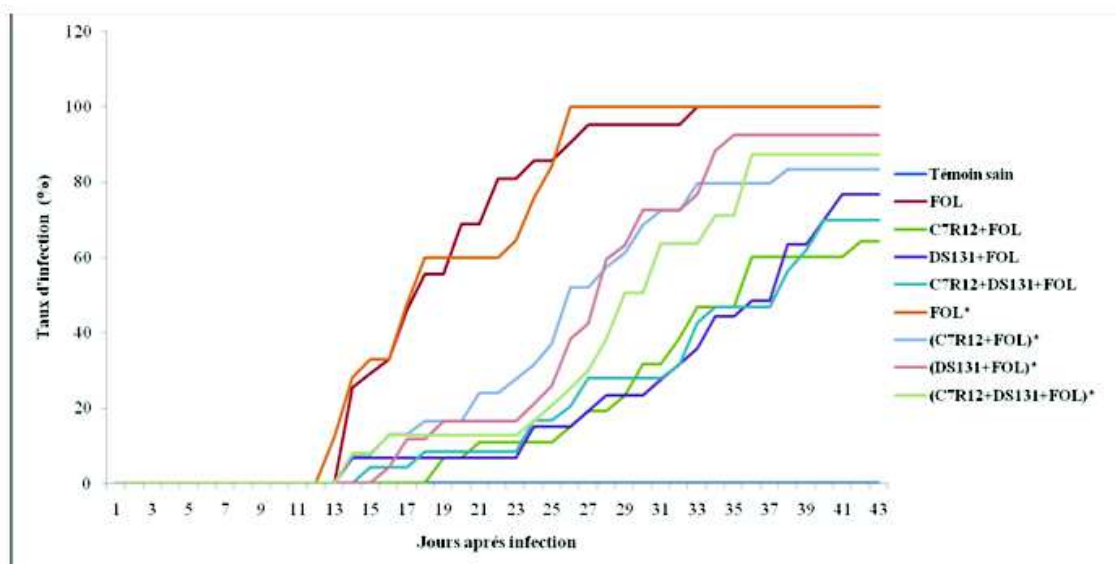
Les notations individuelles des symptômes, effectuées sur chaque plant ont permis d'exprimer en pourcentage l'évolution du taux d'infection, l'indice de McKinney (sévérité) et la gravité de la fusariose vasculaire durant 43 jours d'infection, soit 95 jours de végétation.

2.1. Taux d'infection

Le suivi du taux d'infection a montré une différence entre les traitements et entre les deux systèmes étudiés (split root et classique). La cinétique d'évolution apparaît en deux phases pour les témoins malades et en trois phases pour les plants bactérisés (Figure 19).

- Témoins malades

- 1^{ère} phase : Progression rapide dès l'apparition de la maladie, soit du 13^{ème} jusqu'au 25^{ème} jour en système classique et du 14^{ème} au 26^{ème} jour en système split root.
- 2^{ème} phase (du 26^{ème} ou du 27^{ème} jour au 43^{ème} jour) : Un maximum d'infection est observé (95 % à 100 %), avec une stabilisation de ces taux.



* Système classique.

Figure 19 : Evolution des taux d'infection (%)

Plants bactérisés

- 1^{ère} phase : Apparition tardive des symptômes, progression lente de la maladie et une stabilité plus ou moins variable selon les traitements sont notées.
- 2^{ème} phase : Evolution croissante mais décalée et faible par rapport aux témoins positifs, notamment en système split root.
- 3^{ème} phase : Stabilisation des taux de la fusariose vasculaire, surtout en système classique.

2.2. Indice de Mckinney (sévérité)

Le calcul de l'indice de Mckinney révèle une cinétique en deux phases (Figure, 20).

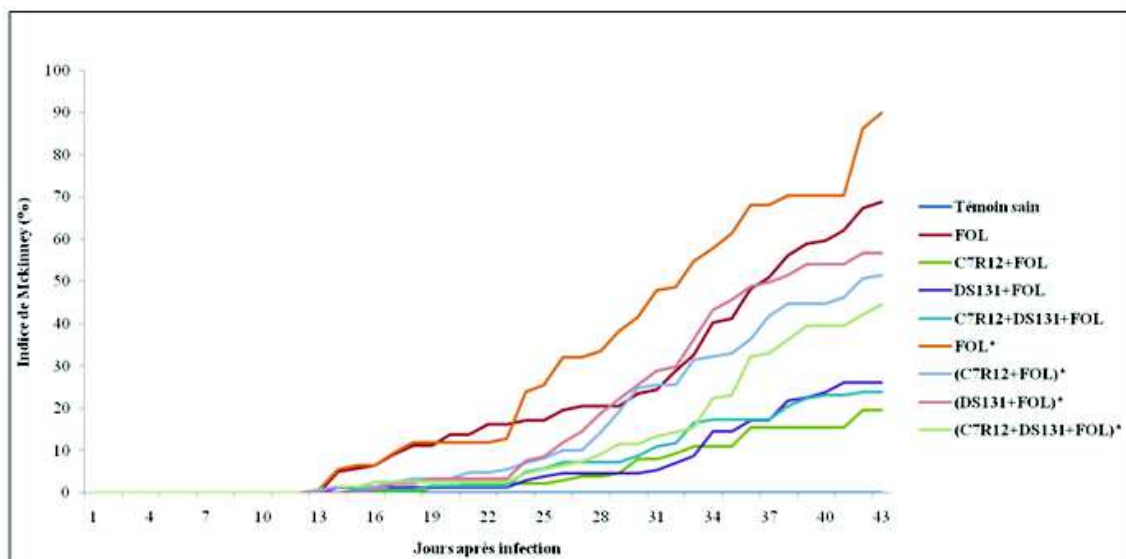
- 1^{ère} phase : Dès l'apparition de la maladie jusqu'aux 23^{ème} - 25^{ème} jours, une progression très faible de la sévérité de l'infection chez les plants bactérisés par rapport aux plants malades dans les deux systèmes appliqués.

- 2^{ème} phase (ente 23^{ème} et 25^{ème} jours au 43^{ème} jour) : Evolution moins lente chez les plants bactérisés par rapport à la 1^{ère} phase, avec un décalage en comparaison avec les témoins positifs dans les deux systèmes étudiés.

2.3. Comparaison entre les taux d'infection et les indices de Mckinney

La comparaison entre les taux d'infection et les indices de Mckinney permet de constater que malgré la progression de la maladie, les sévérités restent moins développées chez les plants bactérisés (Figures 19, 20). Dès l'apparition de la maladie, il a été constaté :

- **Système split root** : Les taux d'infection chez les plants bactérisés sont de 4,17 % à 6,67 % alors que le témoin malade a enregistré des taux de 25,39 % à 55,55 %. Par contre, les sévérités sont moins importantes, allant de 0,83 % à 1,33 % chez les plants inoculés avec les antagonistes en comparaison avec les plants malades (5,08 % à 11,11 %).
- **Système classique** : Il a été noté des pourcentages d'infection de 4,17 % à 7,87 % chez les plants traités avec les pseudomonas par rapport aux plants malades (28,04 % à 32,80 %). Les indices de Mckinney sont de 0,83 % à 1,57 % chez les plants bactérisés rapport au témoin malade (5,60 % à 6,56%).



* Système classique

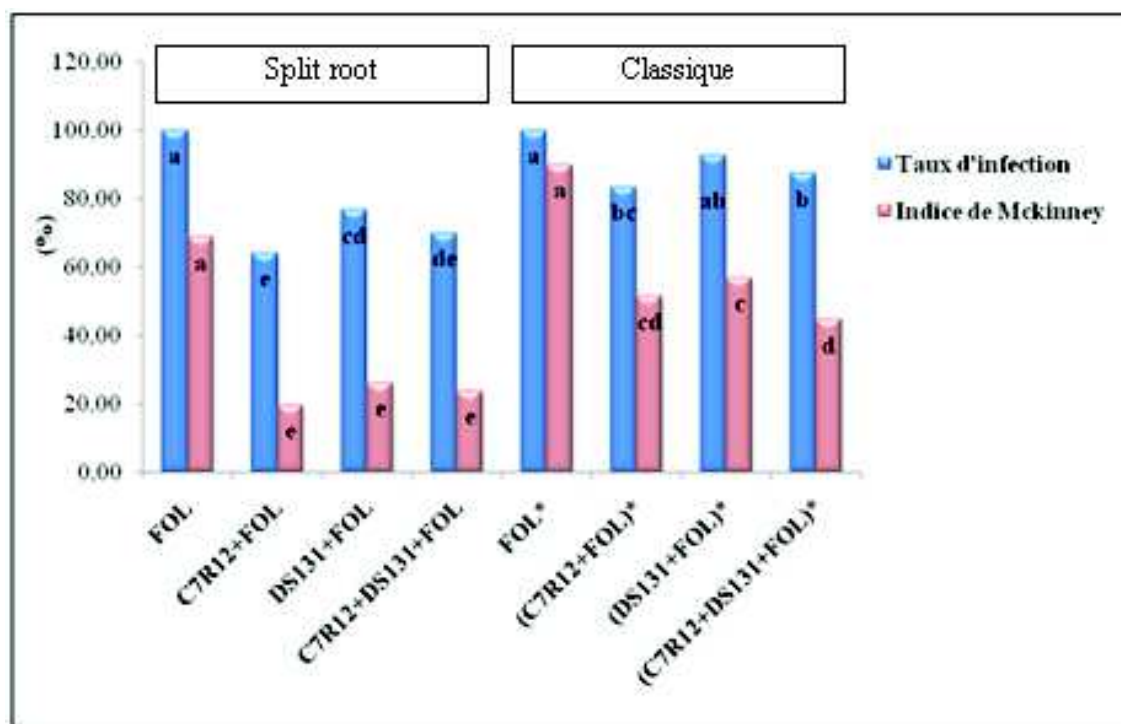
Figure 20 : Evolution des indices de Mckinney (%)

Comparativement aux témoins positifs, une différence visible de l'évolution de la maladie est observée entre les plants bactérisés et les plants malades dans les deux systèmes adoptés, notamment au 23^{ème} jour (Figures 19, 20).

- **Système split root** : Les indices de la maladie montrent des taux de 6,67 % à 10,83 % chez les plants bactérisés et de 80,95 % chez les témoins positifs. L'indice de Mckinney présente un maximum de 2,17 % par rapport au témoin malade (16,19%).
- **Système classique** : Il a été enregistré des indices de 12,63 % à 27,61 % pour les plants bactérisés alors que les plants malades ont présenté un taux de 64,55 %. Des

Effet des pgpr (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire

pourcentages plus faibles sont enregistrés pour l'indice de McKinney 2,53 % à 5,55 par rapport aux plants malades (12,91 %).



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 21 : Taux finaux d'infection et d'indice de McKinney (%)

L'analyse de la variance effectuée sur les taux finaux de l'infection et de l'indice de McKinney, issus de la moyenne des trois blocs a montré une différence très hautement significative entre les traitements (Annexe 5). Le test de Newman-Keuls a révélé cinq groupes homogènes (a, b, c, d et e) avec quatre chevauchements (ab, bc, cd et de) pour le taux d'infection et cinq groupes homogènes (a, b, c, d et e) avec un seul chevauchement (cd) pour l'indice de McKinney (Figure 21, Tableau 8).

Malgré les taux d'infection d'apparence élevée notés chez les plants bactérisés, variant de 64,17 % à 92,59 %, les sévérités demeurent faibles, avec un maximum de 26,17 % en système split root et de 56,72% en système classique. La souche C7R12 a présenté l'indice de la maladie minimal en système split root (64,17 %) et en système classique (83,33 %). En système split root, la sévérité s'est moins évoluée et les taux sont similaires allant de 19,50% à 26,17 %. En système classique, l'indice de McKinney le plus faible est induit par l'association des deux antagonistes bactériens (44,60 %).

2.4. Gravité de la fusariose

La gravité de la fusariose vasculaire a été déterminée en se basant sur le descriptif symptomatologique typique de la fusariose vasculaire (Figure 22). Le jaunissement unilatéral est observé au niveau de folioles, de feuilles, du plant entier et enfin un

jaunissement généralisé, les parties jaunies finissent par flétrir. Chez les plants bactérisés, le jaunissement et le flétrissement ne parviennent qu'aux premiers étages foliaires selon les traitements, contrairement aux témoins positifs où ces symptômes sont plus développés. Nous avons observé une décoloration longitudinale de la tige et un brunissement à une dégradation de vaisseaux vasculaires, qui sont plus accentués chez les témoins positifs par rapport aux plants bactérisés. De même, chez les plants malades, un brunissement à un noircissement des racines sont constatés et chez certains plants accompagnés d'une dégradation de quelques chevelus racinaires.

La gravité de la fusariose vasculaire de la tomate a présenté des fluctuations dans son apparition et sa progression. En comparant les plants bactérisés avec les témoins malades, la cinétique de la gravité a mis en évidence, selon les traitements, un rapprochement au début de l'apparition de la maladie et un décalage vers la fin (Figure 23).

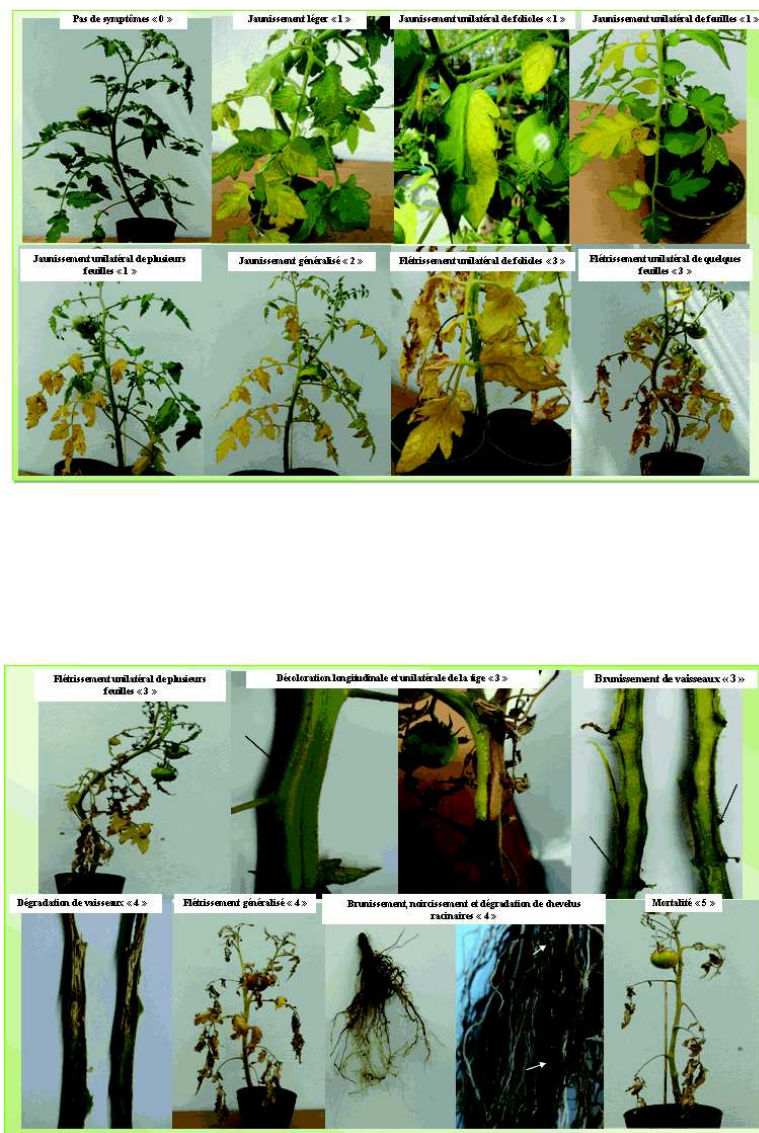
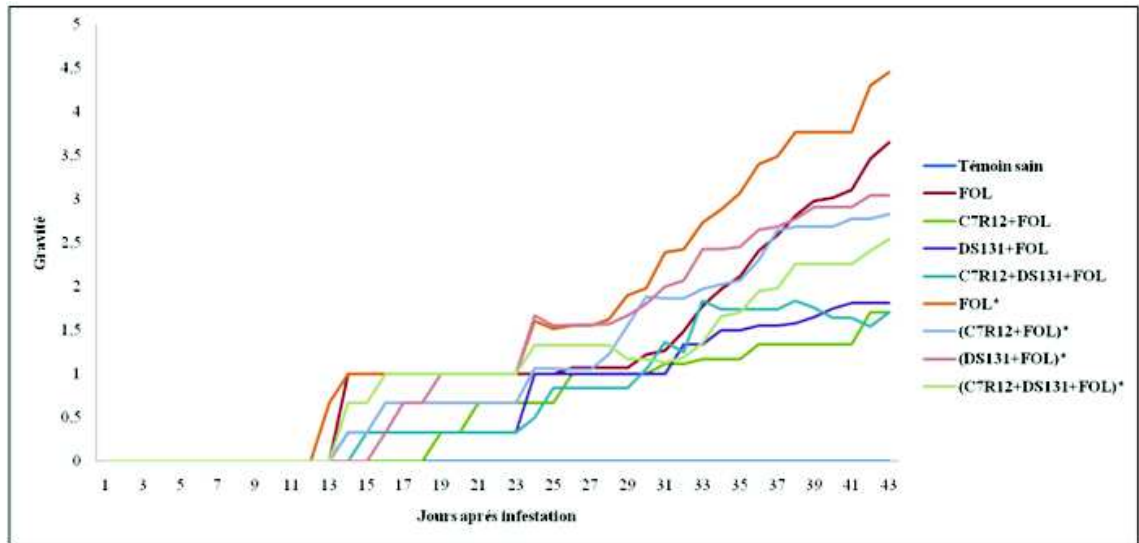


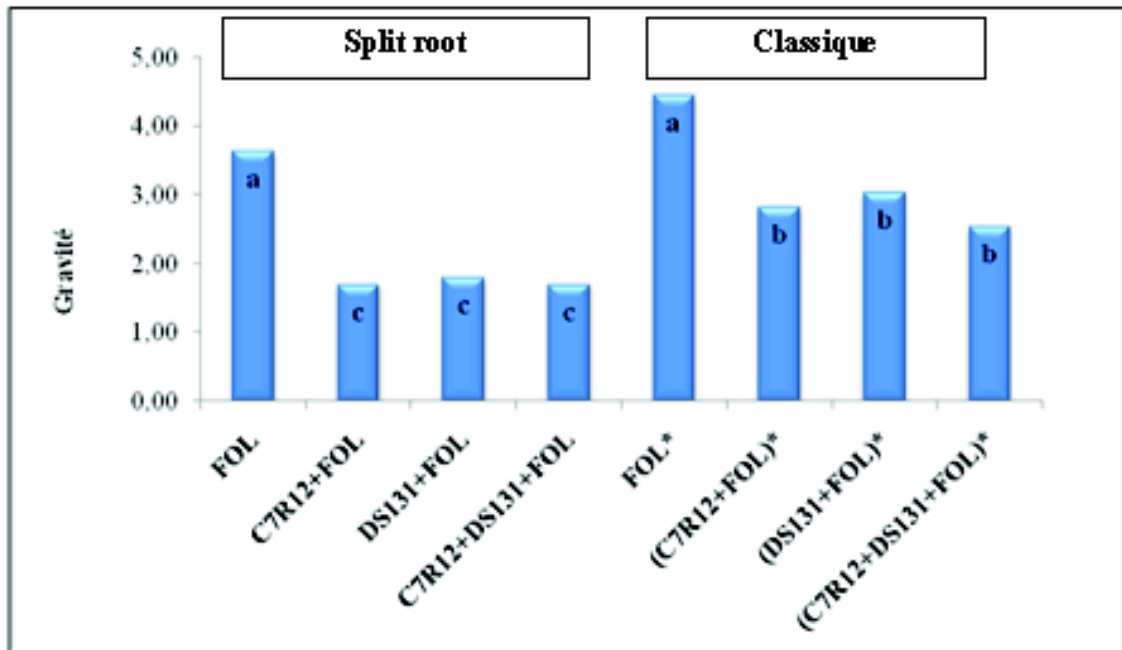
Figure 22 : Degrés symptomatologiques de la fusariose vasculaire de la tomate



* Système classique.

Figure 23 : Evolution des gravités de la fusariose vasculaire

L'analyse de la variance des taux finaux de la gravité montre une différence très hautement significative entre les traitements (Annexe 5). Le test de Newman-Keuls révèle trois groupes homogènes (a, b et c) (Tableau 8). Il a été constaté une réduction importante des degrés finaux des symptômes. Les plants bactérisés ont présenté une classe moyenne clairement inférieure de celle des témoins positifs. Une supériorité de la gravité est manifestée en système classique, où nous avons enregistré un flétrissement unilatéral contrairement au système split root, où la symptomatologie s'est stabilisée en jaunissement généralisé, considéré comme une légère infection (Figure 24).



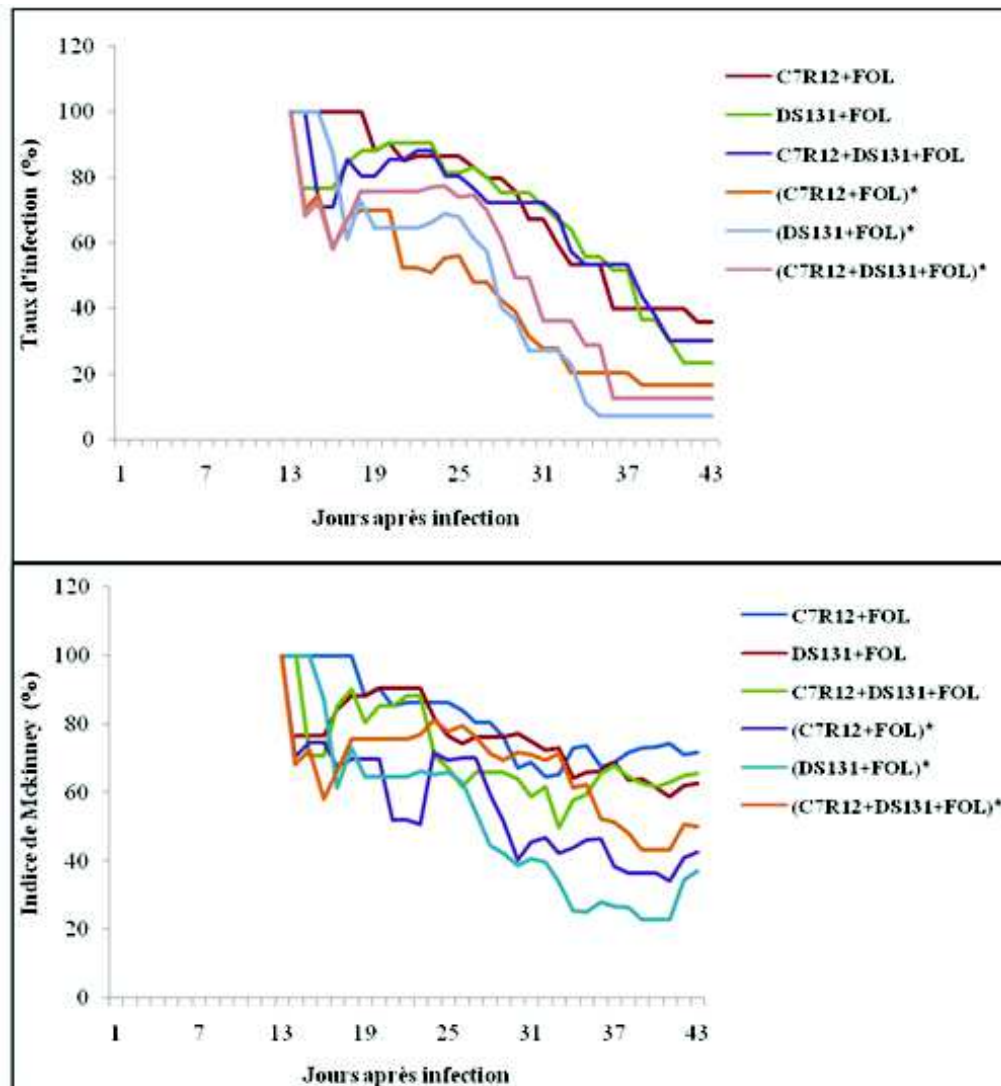
* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 24 : Gravités finales de la fusariose vasculaire

2.5. Taux de bioprotection

L'analyse des taux de réduction des indices de la maladie et des sévérités a permis de noter un effet inhibiteur significatif chez les plants bactérisés. En effet, les pourcentages les plus élevés en bioprotection sont enregistrés dès l'apparition de la maladie, par la suite une diminution progressive a été constatée (Figure 25).

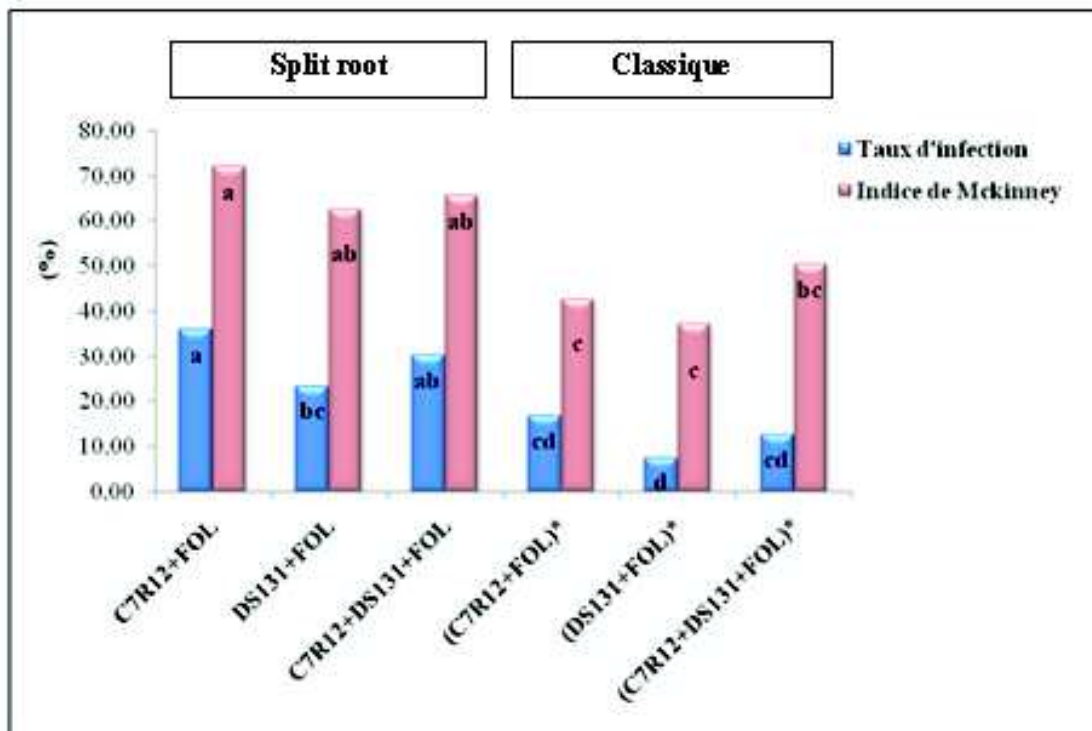


* Système classique

Figure 25 : Evolution des taux en bioprotection (%)

L'analyse de la variance des taux finaux de bioprotection montre une différence très hautement significative (Annexe 5). Le test de Newman-Keuls révèle quatre groupes homogènes (a, b, c et d) avec trois chevauchements (ab, bc et cd) pour la réduction des taux d'infection et trois groupes homogènes (a, b et c) avec deux chevauchements (ab et bc) pour la réduction des indices de McKinney (Figure 26, Tableau 8).

Les traitements réalisés en système split root ont présenté des taux de bioprotection les plus marquants. Dans ce système, la meilleure performance est notée chez les plants bactérisés par C7R12, avec des taux de régression de 35,83 % pour l'infection et de 71,88 % pour la sévérité. Par ailleurs, nous avons enregistré des taux moindres en système classique (7,41 % à 16,67 %) avec toujours la C7R12 et sa combinaison avec la DS131, induisant un maximum d'inhibition d'infection. Pour la régression de la sévérité, le meilleur résultat est obtenu par la combinaison des deux antagonistes bactériens (50,34 %) (Figure 26).



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 26 : Taux finaux en bioprotection (%)

2.6. Discussion

L'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents assure une bioprotection significative des plants de tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire, variable selon les souches appliquées et les systèmes adoptés. Malgré l'apparition et l'évolution de l'infection chez tous les traitements étudiés mais toutes les situations de bactérisation ont influencé positivement le développement des plants de tomate en réduisant la maladie avec des degrés appréciables (Figure 27). Les plants bactérisés montrent une tolérance à la fusariose vasculaire, se manifestant par un retard de

Effet des pgpr (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire

	Traitements	Taux d'évolution (%)			Taux de bioprotection (%)	
		Infection	Mckinney	Gravité	Infection	Mckinney
Spili root	FOL	100 ± 0,00 ** (a)	68,78 ± 4,03 (a)	3,98 ± 0,43 (a)	/	/
	C7R12+FOL	64,17 ± 5,2 (e)	19,50 ± 6,95 (e)	1,70 ± 0,26 (c)	35,83 ± 5,20 (a)	71,88 ± 7,18 (a)
	DS131+FOL	76,67 ± 3,82 (cd)	26,17 ± 1,26 (e)	1,81 ± 0,33 (c)	23,33 ± 3,82 (bc)	62,45 ± 5,19 (ab)
	C7R12+DS131+ FOL	69,90 ± 6,60 (de)	23,79 ± 2,49 (e)	1,70 ± 0,40 (c)	30,10 ± 6,60 (ab)	65,59 ± 9,61 (ab)
Classique	FOL*	100 ± 0,00 (a)	89,94 ± 3,92 (a)	4,46 ± 0,2 (a)	/	/
	(C7R12+DS131+FOL)*	83,33 ± 5,56 (bc)	51,48 ± 6,32 (cd)	2,83 ± 0,29 (b)	16,67 ± 5,56 (cd)	42,59 ± 3,71 (c)
	(DS131+FOL)*	92,59 ± 4,17 (ab)	56,72 ± 6,31 (c)	3,04 ± 0,22 (b)	7,41 ± 4,17 (d)	37,17 ± 4,22 (c)
	(C7R12+DS131+FOL)*	87,36 ± 1,59 (b)	44,60 ± 6,67 (d)	2,54 ± 0,35 (b)	12,64 ± 1,59 (cd)	50,34 ± 7,96 (bc)

* Système classique. ** Ecart type issu des 30 répétitions.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Tableau 8 : Taux finaux d'évolution de la maladie et de bioprotection (%)



T- : H₂O, T+ : FOL, T₁A : C7R12, T₁B : FOL, T₂ A : DS131, T₂ B : FOL, T₃ A : C7R12 + DS131, T₃ B : FOL.

Figure 27 : Bioprotection des plants de tomate en système split root



* Système classique.

T^{-*} : H₂O, T⁺* : FOL, T₁* : C7R12+FOL, T₂* : DS131+FOL, T₃* : C7R12+DS131+FOL

Figure 27 (suite) : Bioprotection des plants de tomate en système classique

l'apparition des symptômes et un ralentissement de la cinétique de la maladie par rapport aux témoins positifs, qui sont caractérisés par une progression assez rapide et vigoureuse, notamment dans les premiers jours. La résistance spécifique des plantes s'exprime en tout ou rien (résistance/sensibilité), alors que la résistance partielle ou quantitative se manifeste par des modulations dans la cinétique et l'intensité du développement de la maladie. Ce type de résistance nécessite des mécanismes complexes et souvent polygéniques (Young, 1996).

L'application des *Pseudomonas* a assuré une réduction dans l'évolution des degrés des symptômes, notamment la symptomatologie finale. L'initiation de la maladie a été très faible chez les plants bactérisés par rapport aux témoins malades, ce qui montre que la croissance de FOL peut être déséquilibrée par la présence des *Pseudomonas* en système classique. En système split root, la stimulation des mécanismes de défense chez les plants de tomate peut ralentir l'envahissement de la plante, ce qui rend l'évolution de la maladie lente.

Tous les témoins positifs ont présenté un indice de 100 %, développant au moins un des symptômes de la fusariose vasculaire, alors que tous les plants bactérisés ont montré une réduction voir même une annulation de la maladie. Relativement, les conditions d'expérimentation ont favorisé le développement de l'infection et l'effet positif des *Pseudomonas* spp. fluorescents. Il semble que le déséquilibre microbiologique provoqué par la désinfection du sol favorise les interactions : FOL-plante, plante-PGPR, PGPR-FOL et également les interactions de ces partenaires avec le sol.

2.6.1. Système split root

Le système split root favorise l'interaction de chaque microorganisme appliqué (antagonistes et pathogène) avec le système racinaire en assurant leur séparation physique. Dans ce cas, le seul mécanisme qui peut expliquer la bioprotection est l'induction de la résistance systémique chez la plante par les *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ce phénomène a été mis en évidence par plusieurs auteurs (Van Loon et al., 1998 ; Jourdan et al., 2008 ; Bordiec et al., 2010 ; Rudrappa et al., 2010). L'analyse des taux finaux des paramètres de la maladie montre des pourcentages plus faibles chez les plants bactérisés par rapport aux plants malades. Les traitements appliqués ont présenté des effets similaires pour l'indice de McKinney et la gravité mis à part l'indice de la maladie où la C7R12 a montré la meilleure réduction de la maladie.

Notre expérimentation en split root révèle une réduction significative de l'infection (23,33 % à 35,83 %) et de la sévérité (62,45 % à 71,88%), avec la meilleure bioprotection assurée par la souche C7R12. Relativement, des constats similaires sont enregistrés par plusieurs études. Selon Verhagen et al., (2010), dans le but d'induire l'ISR, l'application individuelle des souches de *Pseudomonas* fluorescents (CHA0, WCS417, Q2-87, WCS358 et 7NSK2) réduit significativement, avec des taux allant de 20 % à 43 % l'indice de la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea* sur la vigne. D'après Ongena et al., (2000), la stimulation des réactions de défense en système split root par *Pseudomonas putida* BTP1 a réduit la sévérité avec un taux de 43,75 % chez le concombre vis-à-vis *Pythium aphanidermatum*. Selon Saikia et al., (2003), *P. fluorescens* induit la résistance systémique chez le pois chiche et réduit la sévérité de la fusariose vasculaire avec des taux allant de 26 % à 50 %.

l'ISR stimulée avec *Pseudomonas* spp. fluorescents réduit la gravité de plusieurs maladies chez de nombreuses espèces végétales (Van Wees et al., 1999 ; Kloepper et al., 2004 ; Van Loon et Bakker, 2006 ; Bakker et al., 2007 ; Verhagen et al., 2010). De même, plusieurs souches de *Bacillus* ont montré leur capacité d'induire la résistance chez les plantes (Choudhary et Johria, 2009). *Bacillus pumilus* SE34 et *Pseudomonas fluorescens* 89B61, ont stimulé une protection systémique contre le mildiou de la tomate et une réduction significative de la sévérité est observée. Ce niveau de résistance est similaire de la SAR induite par *Phytophthora infestans* ou l'acide butyrique (Yan et al., 2002). L'activation de la SAR et l'ISR augmente le niveau de contrôle de la maladie (Pieterse et al., 2001).

L'induction de la résistance systémique avec les PGPR est considérée comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures (Jourdan et al., 2008). Les souches rhizobactériennes diffèrent dans leur capacité à induire la résistance chez différentes espèces végétales et ces dernières montrent des variations dans l'expression de leurs mécanismes naturels de défense. Cette résistance systémique a été illustrée contre les champignons, les bactéries et les virus chez *Arabidopsis*, le haricot, le concombre, le radis, le tabac et la tomate (Van Loon et al., 1998).

L'ISR est basée sur la perception de plusieurs déterminants bactériens, mais les mécanismes sous-jacents de cette reconnaissance sont peu connus. Les siderophores (pyoverdines), LPS, l'AS et DAPG sont parmi les éliciteurs des *Pseudomonas* spp. fluorescents qui sont impliqués dans la stimulation des mécanismes de défense (Verhagen et al., 2010). La perception des LPS de *Pseudomonas fluorescens* WCS417 (Van Loon et al., 2008) et de *Pseudomonas putida* WCS358 (Meziane et al., 2005) déclenche les défenses naturelles chez différentes espèces végétales. Leurs mutants déficients en LPS perdent la capacité d'éliciter la résistance systémique (Meziane et al., 2005).

Chez *Arabidopsis*, la perception de la flagelline active des mécanismes de défense relatifs à l'ISR (Van Loon et al., 2008). De même la reconnaissance des flagelles de *Pseudomonas fluorescens* WCS358 déclenche la résistance systémique vis-à-vis de *P. syringae* pv. *tomato*, tandis que, chez le haricot et la tomate, leur application était inefficace. Des mutants de *P. fluorescens* WCS358 déficients en flagelles sont capables d'induire l'ISR chez *Arabidopsis* comme la souche sauvage, ce qui suggère que les flagelles peuvent être impliqués dans l'induction de la résistance systémique, mais ils ne sont pas de principaux éliciteurs de cette souche (Bakker et al., 2007). Plusieurs antibiotiques des rhizobactéries bénéfiques peuvent intervenir dans l'induction de la résistance systémique. Le DAPG de *P. fluorescens* WCS417r (Verhagen et al., 2010) et de *P. fluorescens* CHA0r (Iavicoli et al., 2003) sont nécessaires pour stimuler les réactions de défense chez les plantes. En outre, des essais sur le haricot et la tomate ont montré que la surexpression de deux gènes de biosynthèse de la surfactine et la fengycine de *Bacillus subtilis* 168 naturellement pauvre a été associée par une augmentation significative du niveau de la résistance (Ongena et al., 2007).

Les sidérophores des *Pseudomonas* spp. fluorescents constituent d'importants déterminants pour l'élicitation de la résistance systémique chez les plantes (Fallahzadeh-Mamaghani et al., 2009). La pyoverdine est l'un des éliciteurs de l'ISR des *Pseudomonas* spp. fluorescents (WCS358, WCS374 et WCS417) (Van Loon et al., 2008). Les pseudobactines de *P. fluorescens* WCS374r sont cruciales dans l'expression des réactions de défense chez le riz (*Oryza sativa*) vis-à-vis de *Magnaporthe oryzae* (Vleesschauwer et al., 2008). L'acide salicylique de *P. aeruginosa* 7NSK2 est impliqué dans la stimulation de la résistance systémique contre *B. cinerea* chez le haricot. Le rôle de cette hormone a été évalué en utilisant des mutants déficients en acide salicylique, confirmant sa nécessité pour déclencher l'ISR (Lepoivre, 2003).

La bactérisation des plants d'œillet (*Dianthus caryophyllus*) avec *P. fluorescens* WCS417 développe une résistance vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. L'expression des mécanismes de défense se déclenche uniquement après l'inoculation de l'agent pathogène. A cet effet, l'augmentation en phytoalexines n'a été détectée qu'après l'infection par l'espèce fongique, avec une expression plus rapide (Van Peer et al., 1991).

Les plantes peuvent exprimer plusieurs réactions de défense, le renforcement de la paroi cellulaire (Schmele et Kaus, 1990), la production d'espèces réactives d'oxygène (Yoshioka et al., 2008), des composés antimicrobiens, d'enzymes lytiques et de protéines PR (Pathogenesis-Related) (Mert-Türk, 2002 ; Van der Ent et al., 2009a). Afin de limiter l'invasion des agents pathogènes une réaction d'hypersensibilité peut être exprimée (Mittler et Lam, 1996 ; http://www.refdoc.fr/?traduire=en&FormRechercher=submit&FormRechercher_Txt_Recherche_name_attr=auteursNom:%20%28HOPKINS%29 Knight et al., 2009 ; Walz et Oliver, 2009). Plusieurs études confirment que l'application préalable de *Pseudomonas* fluorescents renforce les structures d'accueil de la paroi cellulaire, ce qui limite l'invasion des agents pathogènes dans les

tissus végétaux (Benhamou et al, 2000 ; Chen et al, 2000). Chez le riz, *Pseudomonas* spp. fluorescents induisent l'expression accélérée de multiples réactions de défense : composés phénoliques sur le site d'entrée des agents pathogènes, renforcement de la paroi cellulaire et une hyperinduction du peroxyde d'hydrogène (Vleesschauwer et al., 2008). Ces rhizobactéries stimulent l'augmentation des niveaux de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), la peroxidase (PO) et la polyphénol oxydase (PPO), la β -1,3-glucanase et des composés phénoliques chez le pois chiche (Saikia et al., 2003 ; Dutta et al., 2007) et chez la tomate (Murugan et Dhandapani, 2006 ; Latha et al., 2009). La lignification chez la tomate est due à l'augmentation de l'activité de la PO et de la PAL (Sharma et al., 2007).

Contrairement à la SAR, l'ISR déclenchée par *P. fluorescens* WCS417r n'est pas associée à un changement significatif de l'expression des gènes et n'implique pas les protéines PR chez *Arabidopsis* (Pieterse et al., 2001 ; Léon-Kloosterziel et al., 2005) et le radis (Hoffland et al., 1996). Par contre, l'ISR élicitée avec *P. fluorescens* (pf1 et 1-94) chez la tomate a montré l'induction de protéines PR vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Ramamoorthy et al., 2002) et chez le pois chiche contre *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (Saikia et al., 2004). Ces protéines dégradent la paroi cellulaire des champignons et provoquent la lyse des cellules fongiques (Frindlender et al., 1993).

La stimulation de l'ISR dépend de l'interaction bactérie-hôte, *P. fluorescens* WCS374r déclenche l'ISR chez le radis, mais ne peut pas l'éliciter chez *Arabidopsis*. Il a été démontré que *P. putida* WCS358r peut induire l'ISR chez *Arabidopsis* mais pas chez le radis, ce qui montre que la capacité des pseudomonas a déclenché la résistance diffère selon les génotypes végétaux. Chez *Arabidopsis*, l'expression de l'ISR varie selon les écotypes, Columbia et Landsberg *erecta*, sont sensibles au *P. fluorescens* WCS417r, par contre RLD et Wassilewskija ne le sont pas (Van Wees et al., 1997). Ceci suggère que la reconnaissance spécifique entre la plante et les PGPR est nécessaire pour l'élicitation de l'ISR, qui est un phénomène génétiquement déterminé (Pieterse et al., 2001).

2.6.2. Système classique

Dans ce système, la bactérisation par les PGPR a mis en évidence des pourcentages en bioprotection de 7,41 % à 16,67 % en taux d'infection, avec la meilleure performance la C7R12 et sa combinaison avec DS131. Cette dernière combinaison des deux antagonistes a assuré le taux marquant en réduction de la sévérité (50,34 %). Dans ce contexte, la combinaison de *P. putida* 2 et de *P. fluorescens* 3 a été plus efficace que leur application individuelle, en protégeant la culture de sésame (*Sesamum indicum*) et en inhibant efficacement la croissance de *Fusarium* sp. en plein champ (Farhan et al., 2010). *P. fluorescens* PCL1606 et *P. chlororaphis* PCL1601 réduisent l'indice de l'infection avec des taux respectivement de 50 % et de 40,54 % chez *Avocado Dematophora* vis-à-vis de *Dematophora necatrix* (Cazorla et al., 2006). Selon l'étude de Someya et al., (2006), *P. fluorescens* LRB3W1 réduit significativement la sévérité (50 %) chez les plants de *Brassica oleracea* var. *capitata* L. vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans*. *P. fluorescens* spp. appliqué sous conditions contrôlées réduit significativement l'indice et la sévérité de la verticilliose vasculaire de l'olivier avec des taux allant jusqu'à 96 % (Mercado-Blanco et al., 2004).

La bioprotection des plants de tomate en système classique, peut être due à l'ISR et/ou aux actions antagonistes des pseudomonas. La réduction de la maladie par ces bactéries antagonistes peut être due à l'inhibition de la germination et à la sporulation. Le ralentissement de ces deux processus diminue la diffusion des champignons (Kamilova et al., 2008). ***Pseudomonas* spp. fluorescents** produisent de diverses

enzymes lytiques (Diby et *al.*, 2005a) et des sidérophores, qui induisent l'inhibition des phytopathogènes. Ces rhizobactéries bénéfiques peuvent agir sur les agents pathogènes en exerçant une compétition trophique et spatiale (Lemanceau et *al.*, 2009). Les substances antimicrobiennes produites par *Pseudomonas* spp. fluorescents sont à large spectre et sont actives vis-à-vis des fusariums (Upadhyay et Srivastava, 2010).

3. ASPECTS PHYSIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE

L'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents et/ou l'inoculation de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ont augmenté les teneurs en pigments chlorophylliens (a + b), en proline et en protéines totales chez les plants de tomate selon les situations des traitements. Ces augmentations sont caractérisées dès le 4^{ème} jour de bactérisation. L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative entre les traitements et entre les périodes (Annexes 6, 7, 8). Des gains appréciables en phytostimulation et en bioprotection sont notés respectivement par rapport aux plants sains et malades.

3.1. Chlorophylle totale

Les plants de tomate bactérisés avec *Pseudomonas* spp. fluorescents ont présenté une augmentation en pigments chlorophylliens, avec des niveaux maximums constatés le 7^{ème} jour de bactérisation soit 59 jours après plantation. La performance la plus marquante a été enregistrée en système classique chez les plants infectés par FOL et bactérisés avec C7R12 (2,59 mg/g MF) et DS131 (2,42 mg/g MF). Les teneurs les plus faibles sont notées les derniers jours de bactérisation (95 jours après plantation), avec toujours les plants bactérisés avec C7R12 en système classique (1,50 mg/g MF) (Tableau 9, Figure 28).

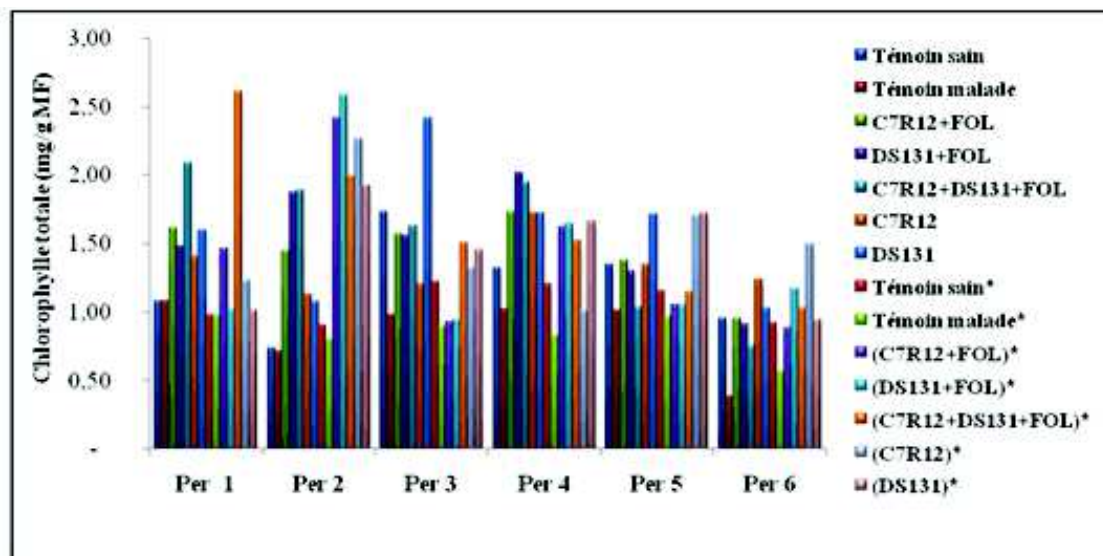
Après 77 jours de plantation, une diminution progressive en pigments chlorophylliens est constatée, avec préservation de l'effet des pseudomonas appliqués, notamment chez les plants où les antagonistes sont appliqués individuellement sans infection. Globalement, les plants bactérisés et infectés ont présenté des teneurs supérieures à celles des témoins positifs, à noter quelques exceptions (Tableau 9)

Un maximum de gains en chlorophylle totale par rapport aux témoins sains est constaté une semaine après bactérisation allant de 46,17 % à 156,22 % en système split root et de 114,30 % à 187,90 % en système classique. Par la suite, les gains ont diminué et n'ont pas dépassé 63,16 %. Le développement de la fusariose vasculaire est accompagné par des pertes allant de 3,88 % à 60,01 % pour les témoins malades et un maximum de 24,16 % pour les plants bactérisés et infectés (Tableau 12).

Comparativement aux témoins positifs, globalement des gains appréciables en pigments chlorophylliens sont enregistrés durant toute la période d'infection, les plus importants sont notés le 3^{ème} jour d'infection avec des taux allant de 104,50 % à 223,78 % dans les deux systèmes étudiés. Aux derniers jours d'observation où la symptomatologie était bien développée, les gains ont enregistré un maximum de 150,48 % en système split root et de 105,31 % en système classique (Tableau 13).

Plusieurs souches de *Pseudomonas* fluorescents peuvent augmenter la teneur en chlorophylle totale chez les plantes (Bavaresco et Fogher, 1996 ; **Sharma et al.**, 2003). D'après l'étude de Farhan et al., (2010), la bactérisation avec *P.fluorescens* 3, *P.putida* 2 ou leur combinaison a présenté des taux en pigments chlorophylliens allant de 23,12 % à 72,58 % en phytostimulation et de 182,72 % à 296,30 % en bioprotection de sésame (*Sesamum indicum*) vis-à-vis de *Fusarium* sp.

Malgré l'apparition des symptômes avec des degrés 2 à 3 chez les plants bactérisés, les teneurs en chlorophylle totale sont plus élevées en comparaison avec les plants malades et dans certaines situations par rapport aux témoins sains ; ce qui montre l'effet positif des *pseudomonas* appliqués sur la physiologie cellulaire malgré le développement de l'infection.



* Système classique. **Per** : Période. **Per 1** : 4 jours de bactérisation ; 55 de plantation. **Per 2** : 7 jours de bactérisation ; 3 jours d'infection ; 59 de plantation. **Per 3** : 17 jours de bactérisation ; 13 jours d'infection ; 69 de plantation. **Per 4** : 25 jours de bactérisation ; 21 jours d'infection ; 77 de plantation. **Per 5** : 34 jours de bactérisation ; 30 jours d'infection ; 86 de plantation. **Per 6** : 43 jours de bactérisation ; 39 jours après infection ; 95 de plantation.

Figure 28 : Evolution des teneurs en chlorophylle totale (mg/g MF)

La capacité des *Pseudomonas* sp. d'augmenter le niveau en chlorophylle totale chez les plantes peut être liée à leur approvisionnement en certains éléments nutritifs tels que l'azote et le phosphore (Hameed et Farhan, 2007). Le phosphore est un macronutriment essentiel à la croissance des plantes. Toutefois, dans la plupart des sols, une grande partie du phosphate devient insoluble et donc inaccessible pour les plantes (Ravindra et al., 2008). Plusieurs bactéries bénéfiques ont été signalées par leur capacité à solubiliser le phosphate, comme *Bacillus* spp., *Rhizobium* spp. (Rodríguez et Fraga, 1999) et les *Pseudomonas* spp. fluorescents (Rosas et al., 2006 ; Ravindra et al., 2008 ; **Browne et al.**, 2009 ; Miller et al., 2010), en produisant des acides organiques et des phosphatases acides (Rodríguez et Fraga, 1999).

Effet des pgpr (pseudomonas spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire

	Traitements	Per 1 (ab)	Per 2 (a)	Per 3 (ab)	Per 4 (ab)	Per 5 (b)	Per 6 (c)
Split root	Témoin sain	1,08 ± 0,08** (c)	0,74 ± 0,021 (d)	1,73 ± 0,10 (b)	1,32 ± 0,12 (abc)	1,35 ± 0,05 (ab)	0,96 ± 0,15 (cd)
	Témoin malade	1,08 ± 0,08 (c)	0,71 ± 0,030 (d)	0,98 ± 0,35 (d)	1,02 ± 0,14 (bc)	1,01 ± 0,08 (b)	0,38 ± 0,001 (f)
	C7R12+FOL	1,61 ± 0,12 (bc)	1,45 ± 0,37 (c)	1,58 ± 0,29 (bc)	1,73 ± 0,55 (ab)	1,38 ± 0,06 (ab)	0,96 ± 0,026 (cd)
	DS131+FOL	1,48 ± 0,46 (bc)	1,87 ± 0,24 (b)	1,55 ± 0,16 (bc)	2,02 ± 0,68 (a)	1,29 ± 0,32 (b)	0,91 ± 0,11 (cd)
	C7R12+DS131+FOL	2,09 ± 0,17 (b)	1,89 ± 0,30 (b)	1,63 ± 0,06 (bd)	1,95 ± 0,35 (a)	1,04 ± 0,04 (b)	0,75 ± 0,13 (de)
	C7R12	1,40 ± 0,23 (bc)	1,13 ± 0,03 (d)	1,20 ± 0,15 (cd)	1,73 ± 0,21 (ab)	1,34 ± 0,08 (ab)	1,24 ± 0,009 (b)
	DS131	1,60 ± 0,45 (bc)	1,08 ± 0,82 (d)	2,41 ± 0,17 (a)	1,73 ± 0,2 (ab)	1,72 ± 0,09 (a)	1,03 ± 0,06 (bcd)
	Témoin sain*	0,98 ± 0,07 (c)	0,90 ± 0,04 (d)	1,22 ± 0,30 (cd)	1,21 ± 0,12 (abc)	1,15 ± 0,05 (b)	0,92 ± 0,13 (cd)
Classique	Témoin malade*	0,98 ± 0,07 (c)	0,80 ± 0,05 (d)	0,90 ± 0,24 (d)	0,83 ± 0,003 (c)	0,97 ± 0,01 (b)	0,57 ± 0,024 (e)
	(C7R12+FOL)*	1,47 ± 0,55 (bc)	2,42 ± 0,11 (a)	0,93 ± 0,45 (d)	1,62 ± 0,13 (ab)	1,05 ± 0,04 (b)	0,89 ± 0,15 (cd)
	(DS131+FOL)*	1,02 ± 0,19 (c)	2,59 ± 0,10 (a)	0,94 ± 0,05 (d)	1,64 ± 0,18 (ab)	1,05 ± 0,05 (b)	1,17 ± 0,21 (bc)
	(C7R12+DS131+FOL)*	2,61 ± 0,06 (a)	2 ± 0,001 (b)	1,51 ± 0,07 (bc)	1,52 ± 0,24 (abc)	1,14 ± 0,18 (b)	1,03 ± 0,11 (bcd)
	(C7R12)*	1,23 ± 0,63 (c)	2,26 ± 0,007 (ab)	1,32 ± 0,20 (bcd)	1,01 ± 0,092 (bc)	1,70 ± 0,24 (a)	1,50 ± 0,19 (a)
	(DS131)*	1,01 ± 0,07 (c)	1,93 ± 0,29 (b)	1,46 ± 0,18 (bc)	1,70 ± 0,30 (ab)	1,72 ± 0,35 (a)	0,94 ± 0,04 (cd)

Tableau 9 : Evolution des teneurs en chlorophylle totale (mg/g MF)

** Système classique. ** Ecart type issu des trois répétitions. **Per** : Période.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque

Plusieurs PGPR ont été signalés par leur capacité à fixer l'azote (Sturz et Christie, 2003 ; Barriuso et al., 2005 ; Mishra et al., 2010). L'application des PGPR chez des plantules de bananier a augmenté la teneur en azote dans les feuilles et la racine mais pas dans la tige (Baset et al., 2010).

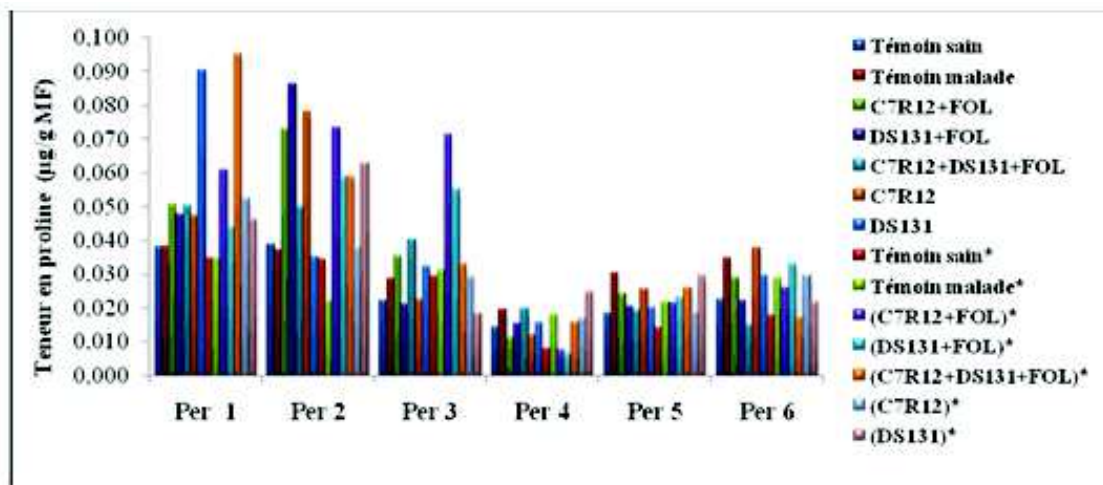
L'analyse protéomique (2D-PAGE) au niveau foliaire des plants de riz montre une surexpression de la RuBisCO (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase - oxygénase) chez les plants bactérisés avec *P. fluorescens* KH-1 en comparaison au témoin. Il a été signalé que la RuBisCO joue un rôle primordial dans la photosynthèse et l'accumulation de la chlorophylle (Agrios, 2005). Il est supposé que la surexpression de la RuBisCO peut entraîner une augmentation de l'activité photosynthétique des plantes traitées (Kandasamy et al., 2009).

3.2. Proline

La bactérisation des plants de tomate avec *Pseudomonas* spp. fluorescents au niveau racinaire montre une augmentation significative en proline des feuilles (Figure 29, Tableau, 10). Les teneurs en ce métabolite les plus élevées sont caractérisées quelques jours après la bactérisation et/ou l'infection avec des niveaux maximums de 0,086 µg/mg MF à 0,095 µg/mg MF. L'accumulation en proline de la plupart des traitements a commencé de baisser et a atteint le niveau le plus faible le 25^{ème} jour de bactérisation soit 21 jours d'infection, avec la performance la plus notable chez les plants bactérisés avec DS131 (0,025 µg/mg MF) en système classique. Globalement, dans les deux dernières périodes, une réaugmentation relative est notée par rapport à la 4^{ème} période. Relativement, Les témoins malades ont présenté des teneurs en proline plus élevées en comparaison avec les témoins sains.

L'apport des souches rhizobactériennes a montré des gains en phytostimulation relativement importants dans les deux systèmes étudiés, split root (2,82 % à 137,83 %) et classique (11,45 % à 208,52 %). Il à noter qu'au 25^{ème} jour de bactérisation, les gains ont été nuls en système split root. Les témoins malades ont enregistré un maximum de gain de 123,08 % (Tableau 12).

La quantification des gains en proline par rapport aux témoins malades a révélé des taux plus marquants quelques jours après l'infestation avec des taux de 34,69 % à 132,64 % en système split root et de 162,96 % à 229,63 % en système classique. Par la suite, une perte notable avec un maximum de 63,22 % est enregistrée (Tableau 13).



* Système classique. **Per** : Période. **Per 1** : 4 jours de bactérisation ; 55 de plantation. **Per 2** : 7 jours de bactérisation ; 3 jours d'infection ; 59 de plantation. **Per 3** : 17 jours de bactérisation ; 13 jours d'infection ; 69 de plantation. **Per 4** : 25 jours de bactérisation ; 21 jours d'infection ; 77 de plantation. **Per 5** : 34 jours de bactérisation ; 30 jours d'infection ; 86 de plantation. **Per (6)** : 43 jours de bactérisation ; 39 jours après infection ; 95 de plantation.

Figure 29 : Evolution des teneurs en proline (µg/g MF)

Selon notre étude, des gains notables sont enregistrés allant jusqu'à plus de 208 % en phytostimulation et de 229 % en bioprotection. L'accumulation de la proline est signalée dans plusieurs constats, l'apport de *Pseudomonas mendocina* Palleroni, augmente l'accumulation de ce métabolite (Kohler et al., 2008). Chez le blé dur (*Triticum durum*), la synthèse de la proline est fortement stimulée par l'application de pesticides (Bordjiba, 2009). Après 10 jours d'exposition au stress salin, un taux de 177,78 % en proline est enregistré

Effet des pgpr (*pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire

chez le riz (Summart et al., 2010). Dans les racines du haricot, à la suite de l'application de sulfate de sodium (Na₂SO₄, 100 Mm), un taux de 305 % par rapport au témoin est noté (Kaymakanova et Stoeva, 2008). L'application exogène de certains métabolites peut augmenter la teneur en proline, une faible concentration de l'acide salicylique induit une accumulation rapide et forte de la proline (Fabro et al., 2004). Selon l'étude de Niranjana et al., (2004), dans une tentative à trouver une alternative à la lutte chimique chez *Pennisetum glaucum* contre le mildiou (*Sclerosporagraminicola*), l'application exogène de la proline a montré une induction de la résistance systémique et des niveaux plus élevés sont enregistrés en proline endogène en comparaison avec les plants non traités.

	Traitements	Per 1 (a)	Per 2 (a)	Per 3 (b)	Per 4 (e)	Per 5 (d)	Per 6 (c)
Split root	Témoin sain	0,038 ± 0,01 (de)	0,039 ± 0,01 (e)	0,022 ± 0,002 (efg)	0,014 ± 0,001 (cde)	0,018 ± 0,0013 (bc)	0,023 ± 0,001 (e)
	Témoin malade	0,038 ± 0,006 (de)	0,037 ± 0,004 (e)	0,029 ± 0,004 (def)	0,020 ± 0,001 (b)	0,030 ± 0,0052 (a)	0,035 ± 0,00 (ab)
	C7R12+FOL	0,051 ± 0,01 (bcd)	0,073 ± 0,001 (b)	0,036 ± 0,003 (cd)	0,011 ± 0,002 (e)	0,024 ± 0,003 (abc)	0,029 ± 0,004 (cd)
	DS131+FOL	0,048 ± 0,01 (cde)	0,086 ± 0,003 (a)	0,021 ± 0,002 (fg)	0,016 ± 0,002 (cd)	0,020 ± 0,001 (abc)	0,022 ± 0,001 (e)
	C7R12+DS131+FOL	0,050 ± 0,01 (bcd)	0,050 ± 0,003 (d)	0,040 ± 0,01 (e)	0,020 ± 0,00 (b)	0,020 ± 0,001 (abc)	0,015 ± 0,003 (f)
	C7R12	0,047 ± 0,01 (cde)	0,078 ± 0,002 (b)	0,023 ± 0,001 (efg)	0,012 ± 0,003 (de)	0,026 ± 0,0004 (ab)	0,038 ± 0,00 (a)
	DS131	0,090 ± 0,01 (a)	0,035 ± 0,002 (e)	0,032 ± 0,009 (cd)	0,016 ± 0,003 (cd)	0,020 ± 0,0062 (abc)	0,030 ± 0,004 (cd)
Classique	Témoin sain*	0,035 ± 0,002 (e)	0,0034 ± 0,002 (e)	0,029 ± 0,002 (def)	0,01 ± 0,001 (f)	0,014 ± 0,001 (c)	0,018 ± 0,0004 (f)
	Témoin malade*	0,035 ± 0,002 (e)	0,022 ± 0,002 (f)	0,031 ± 0,00 (de)	0,018 ± 0,000 (bc)	0,022 ± 0,008 (abc)	0,029 ± 0,004 (cd)
	(C7R12+FOL)*	0,061 ± 0,01 (b)	0,074 ± 0,001 (b)	0,071 ± 0,00 (a)	0,007 ± 0,002 (f)	0,021 ± 0,001 (abc)	0,026 ± 0,00 (de)
	(DS131+FOL)*	0,044 ± 0,002 (cde)	0,056 ± 0,04 (c)	0,055 ± 0,002 (b)	0,007 ± 0,001 (f)	0,023 ± 0,006 (abc)	0,033 ± 0,0020 (bc)
	(C7R12+DS131+FOL)*	0,095 ± 0,003 (a)	0,06 ± 0,004 (c)	0,033 ± 0,01 (cd)	0,016 ± 0,001 (cd)	0,026 ± 0,005 (ab)	0,017 ± 0,001 (f)
	(C7R12)*	0,052 ± 0,004 (bc)	0,038 ± 0,003 (e)	0,030 ± 0,003 (def)	0,017 ± 0,001 (bc)	0,019 ± 0,002 (bc)	0,030 ± 0,003 (cd)
	(DS131)*	0,046 ± 0,003 (cde)	0,063 ± 0,04 (c)	0,018 ± 0,002 (g)	0,025 ± 0,002 (a)	0,030 ± 0,001 (a)	0,022 ± 0,001 (e)

Tableau 10 : Evolution des teneurs en proline (µg/g MF)

La proline est connue comme un osmo-protecteur, qui peut augmenter la tolérance à plusieurs stress biotiques (infections par des pathogène) ou abiotiques (sécheresse et salinité) (Hare et Cress, 1997 ; Faheed et al., 2005 ; Slama et al., 2006). Ce métabolite est un composant majeur de protéines de structure des plantes (Apel et Hirt, 2004). Il joue un rôle dans la stabilisation des membranes, en interagissant avec les phospholipides (Rudolph et al., 1986) et dans l'assemblage des protéines riches en hydroxyproline, qui sont des polymères de protection impliqués dans le renforcement de la paroi cellulaire (Bowles, 1990 ; Merkouropoulos et al., 1999). La proline sert également de réserve en carbone et en azote (Ruelland et al., 2009 ; Theocharis, 2010). L'accumulation de ce métabolite est due à une augmentation de sa synthèse et une diminution de sa dégradation (Ruelland et al., 2009 ; Theocharis, 2010).

L'infection des plants de tomate avec FOL a augmenté la teneur en proline chez les plants malades par rapport aux plants sains. L'accumulation de ce métabolite à la suite de multiples infections a été mise en évidence par plusieurs auteurs. L'infection avec *Verticillium* sp. a sensiblement augmenté le niveau en proline par rapport aux témoins chez le coton (Tzeng et al., 1985) et chez le poivre (Goicoechea et al., 2000). La biosynthèse de la proline

chez *Arabidopsis* déclenche une réaction d'hypersensibilité en réponse à *Pseudomonas syringae* (Cecchini et al., 2011).

Dans notre expérimentation, l'évolution des teneurs en proline chez les plants traités montre une forte diminution après 25 jours de bactérisation (77 jours de plantation) avec la préservation de l'effet des pseudomonas dans certaines situations. D'après l'étude de Niranjana et al., (2004), les niveaux endogènes en proline diminuent avec l'âge de la plante traitée par la proline exogène.

3.3. Protéines totales

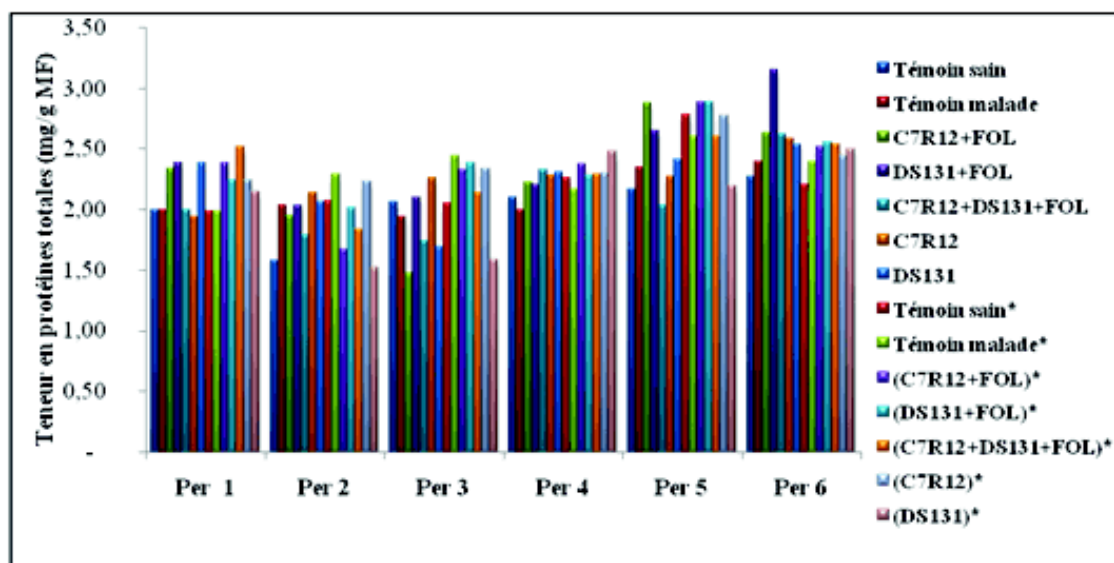
L'apport des antagonistes bactériens montre des augmentations relatives en teneurs des protéines totales chez les plants de tomate, variables selon les traitements et selon les périodes (Figure 30, Tableau 11). La 2^{ème} période et la 3^{ème} période sont caractérisées par une diminution des niveaux en protéines totales, contrairement à la 4^{ème} période, il a été enregistré des teneurs plus élevées. Les niveaux les plus marquants en protéines totales sont enregistrés dans les deux dernières périodes (plusieurs semaines de bactérisation et d'infection). Les meilleures performances sont montrées chez les plants bactérisés et infectés avec des niveaux de 2,88 mg/g MF et de 3,15 mg/g MF. Dans la dernière période une différence nettement visible est constatée, les plants bactérisés ont présenté des teneurs plus élevées avec la meilleure performance chez les plants bactérisés avec DS131 et inoculés par FOL en système split root. Tous les plants malades montrent une teneur en protéines totales supérieure de celle des témoins négatifs (Tableau 11).

L'application des pseudomonas induit des gains appréciables et relativement élevés en protéines totales, notamment dans les premiers jours (périodes 1 et 2) et les derniers jours (période 6) de bactérisation et/ou d'infection, allant de 0,63 % à 38,62 % pour les deux systèmes étudiés. Il est à noter certaines situations de perte (0,25 % à 28,19 %). Les témoins positifs ont enregistré des gains allant de 5,28 % à 28,60 % (Tableau 12).

Les gains de bioprotection en protéines totales ne sont notables qu'à partir de quelques semaines de bactérisation avec des taux de 8,08 % à 31,68 % en système split root et de 0,01 % à 10,76 % en système classique (Tableau 13).

L'application des PGPR induit des modifications biochimique, physiologique et structurale de la paroi cellulaire, conduisant à la synthèse des protéines et des produits chimiques impliqués dans les mécanismes de défense des plantes (Ramamoorthy et al., 2001).

Effet des pgpr (*pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire



* Système classique. **Per** : Période. **Per 1** : 4 jours de bactérisation ; 55 de plantation. **Per 2** : 7 jours de bactérisation ; 3 jours d'infection ; 59 de plantation. **Per 3** : 17 jours de bactérisation ; 13 jours d'infection ; 69 de plantation. **Per 4** : 25 jours de bactérisation ; 21 jours d'infection ; 77 de plantation. **Per 5** : 34 jours de bactérisation ; 30 jours d'infection ; 86 de plantation. **Per (6)**: 43 jours de bactérisation ; 39 jours après infection ; 95 de plantation.

Figure 30: Evolution des teneurs en protéines totales (mg/g MF)

	Traitements	Per 1 (b)	Per 2 (d)	Per 3 (c)	Per 4 (b)	Per 5 (a)	Per 6 (a)
Split root	Témoin sain	2,00 ± 0,00** (cd)	1,58 ± 0,21 (ab)	2,06 ± 0,00 (abc)	2,10 ± 0,01 (d)	2,16 ± 0,02 (ab)	2,27 ± 0,14 (cd)
	Témoin malade	2,00 ± 0,00 (cd)	2,03 ± 0,28 (ab)	1,94 ± 0,05 (abc)	2 ± 0,08 (e)	2,34 ± 0,20 (ab)	2,39 ± 0,01 (bcd)
	C7R12+FOL	2,33 ± 0,16 (abc)	1,95 ± 0,18 (ab)	1,48 ± 0,11 (e)	2,22 ± 0,05 (bcd)	2,88 ± 0,00 (a)	2,63 ± 0,23 (b)
	DS131+FOL	2,39 ± 0,00 (a)	2,03 ± 0,11 (ab)	2,10 ± 0,02 (ab)	2,21 ± 0,09 (bcd)	2,65 ± 0,00 (ab)	3,15 ± 0,00 (a)
	C7R12+DS131+FOL	1,99 ± 0,15 (cd)	1,78 ± 0,76 (ab)	1,74 ± 0,51 (cde)	2,33 ± 0,05 (bc)	2,03 ± 0,62 (b)	2,62 ± 0,10 (b)
	C7R12	1,94 ± 0,38 (d)	2,14 ± 0,01 (ab)	2,26 ± 0,51 (ab)	2,28 ± 0,07 (bc)	2,27 ± 0,14 (ab)	2,58 ± 0,00 (b)
	DS131	2,38 ± 0,00 (ab)	2,06 ± 0,02 (ab)	1,70 ± 0,11 (de)	2,31 ± 0,09 (bc)	2,41 ± 0,47 (ab)	2,53 ± 0,01 (b)
	Témoin sain*	1,99 ± 0,07 (cd)	2,07 ± 0,00 (ab)	2,06 ± 0,02 (abc)	2,26 ± 0,04 (bc)	2,78 ± 0,13 (b)	2,20 ± 0,04 (d)
Classique	Témoin malade*	1,99 ± 0,07 (cd)	2,29 ± 0,06 (a)	2,44 ± 0,05 (a)	2,16 ± 0,00 (cd)	2,60 ± 0,47 (ab)	2,39 ± 0,00 (bcd)
	(C7R12+FOL)*	2,38 ± 0,14 (ab)	1,68 ± 0,44 (ab)	2,32 ± 0,04 (a)	2,37 ± 0,01 (b)	2,88 ± 0,00 (a)	2,52 ± 0,08 (b)
	(DS131+FOL)*	2,24 ± 0,00 (abcd)	2,01 ± 0,37 (ab)	2,39 ± 0,03 (a)	2,28 ± 0,08 (bc)	2,88 ± 0,00 (a)	2,55 ± 0,08 (b)
	(C7R12+DS131+FOL)*	2,52 ± 0,00 (a)	1,83 ± 0,30 (ab)	2,14 ± 0,09 (ab)	2,29 ± 0,00 (bc)	2,60 ± 0,31 (ab)	2,54 ± 0,06 (b)
	(C7R12)*	2,25 ± 0,00 (abcd)	2,23 ± 0,06 (a)	2,34 ± 0,07 (a)	2,30 ± 0,08 (bc)	2,77 ± 0,11 (ab)	2,44 ± 0,02 (bc)
	(DS131)*	2,15 ± 0,10 (bcd)	1,53 ± 0,07 (ab)	1,59 ± 0,05 (de)	2,48 ± 0,04 (a)	2,19 ± 0,06 (ab)	2,50 ± 0,06 (b)

Tableau 11 : Evolution des teneurs en protéines totales (mg/g MF)

		Traitements	Per 1	Per 2	Per 3	Per 4	Per 5	Per 6
Chlorophylle totale	Sp lit root	Témoïn malade	/	- 3,88	- 43,46	- 22,64	- 25,19	- 60,01
		C7R12+FOL	48,99	96,57	- 8,90	31,11	2,24	0,18
		DS131+FOL	37,15	154,16	- 10,12	52,40	- 4,17	- 4,44
		C7R12+DS131+FOL	93,45	156,22	- 5,80	47,50	- 23,17	- 21,41
		C7R12	29,56	52,88	- 30,48	30,45	- 0,50	29,36
		DS131	47,84	46,17	39,66	30,41	27,20	7,50
	Classique	Témoïn malade *	/	- 11,08	- 26,61	- 31,30	- 15,76	- 38,16
		(C7R12+FOL)*	49,86	169,04	- 24,16	34,12	- 8,85	- 3,61
		(DS131+FOL)*	4,42	187,90	- 22,87	36,12	- 8,59	26,97
		(C7R12+DS131+FOL)*	167,16	121,80	23,14	5,98	- 0,82	11,46
		(C7R12)*	26,02	151,69	7,98	- 16,52	47,94	63,16
		(DS131)*	3,50	114,30	19,06	37,70	49,46	2,60
Proline	Sp lit root	Témoïn malade	/	- 3,92	29,58	0,00	64,97	53,42
		C7R12+FOL	33,88	89,30	61,50	0,00	32,20	27,85
		DS131+FOL	25,18	123,53	- 3,52	0,00	11,86	- 2,28
		C7R12+DS131+FOL	32,79	29,41	83,10	0,00	6,78	- 34,25
		C7R12	24,63	102,67	2,82	0,00	40,68	67,12
		DS131	137,83	- 9,63	47,42	0,00	9,60	30,39
	Classique	Témoïn malade *	/	- 34,94	6,32	123,08	55,56	63,16
		(C7R12+FOL)*	75,00	114,46	142,11	- 7,69	54,07	47,37
		(DS131+FOL)*	26,79	71,08	87,37	- 17,95	67,41	87,13
		(C7R12+DS131+FOL)*	173,81	71,69	12,63	93,05	86,67	- 2,92
		(C7R12)*	50,60	11,45	- 1,05	113,90	35,56	68,42
		(DS131)*	33,33	83,73	- 37,89	208,52	113,33	22,81
Protéines totales	Sp lit root	Témoïn malade	/	28,60	- 5,58	- 4,89	8,33	5,28
		C7R12+FOL	16,74	23,30	- 28,19	5,62	33,08	15,73
		DS131+FOL	19,40	28,48	2,06	5,09	22,55	38,62
		C7R12+DS131+FOL	- 0,31	12,96	- 15,50	10,72	- 6,09	15,35
		C7R12	- 2,88	35,51	9,92	8,62	5,14	13,75
		DS131	19,10	30,64	- 17,55	10,05	11,48	11,44
	Classique	Témoïn malade *	/	10,98	18,92	0	- 6,33	8,56
		(C7R12+FOL)*	19,81	- 18,92	12,99	- 4,41	3,75	14,56
		(DS131+FOL)*	12,80	- 2,68	16,19	4,76	3,73	16,00
		(C7R12+DS131+FOL)*	26,63	- 11,47	3,99	0,63	- 6,32	15,27
		(C7R12)*	13,02	7,81	13,82	1,37	- 0,25	10,95
		(DS131)*	7,99	- 26,18	- 22,57	1,55	- 21,04	13,54

Tableau 12: Gains de phytostimulation (%) en chlorophylle totale, en proline et en protéines totales

* Système classique. Per : période.

		Traitements	Per 2	Per 3	Per 4	Per 5	Per 6
Chlorophylle totale	Split root	C7R12+FOL	104,50	61,12	69,48	36,68	150,48
		DS131+FOL	164,42	58,96	97,00	28,11	138,94
		C7R12+DS131+FOL	166,56	66,60	90,66	2,71	96,50
	Classique	(C7R12+FOL)*	202,58	3,34	95,22	8,21	55,86
		(DS131+FOL)*	223,78	5,10	98,12	8,52	105,31
		(C7R12+DS131+FOL)*	149,45	67,79	83,37	17,74	80,24
Proline	Split root	C7R12+FOL	97,02	24,64	- 41,80	- 19,86	- 16,67
		DS131+FOL	132,64	- 25,54	- 20,63	- 32,19	- 36,31
		C7R12+DS131+FOL	34,69	41,30	1,59	- 35,27	- 57,14
	Classique	(C7R12+FOL)*	229,63	127,72	- 58,62	- 0,95	- 9,68
		(DS131+FOL)*	162,96	76,24	- 63,22	7,62	14,70
		(C7R12+DS131+FOL)*	163,89	5,94	- 13,46	20,00	-40,50
Protéines totales	Split root	C7R12+FOL	- 4,12	- 23,95	11,06	22,84	9,93
		DS131+FOL	- 0,09	8,08	10,50	13,13	31,68
		C7R12+DS131+FOL	- 12,16	- 10,51	16,42	- 13,31	9,57
	Classique	(C7R12+FOL)*	- 26,94	- 4,98	9,59	10,76	5,52
		(DS131+FOL)*	- 12,31	- 2,29	5,26	10,74	6,85
		(C7R12+DS131+FOL)*	- 20,23	- 12,55	6,04	0,01	6,18

Tableau 13 : Gains de bioprotection (%) en chlorophylle totale, en proline et en protéines totales

* Système classique. Per : période.

Dans notre étude, la bactérisation des plants de tomate avec *Pseudomonas* spp. fluorescents a augmenté relativement les teneurs en protéines totales mais une détection de certaines protéines spécifiques liées à la résistance est bien recommandée. Dans ce contexte, la bactérisation du soja avec les PGPR a enregistré un gain de 2,88 % en protéines (Tefan et al., 2009). Les protéines totales augmentent la tolérance de lin (*Linum usitatissimum* L.) au mildiou (Ashry et Mohamed, 2011). Le prétraitement des cultivars de pommier avec *P. fluorescens* Bk3, augmente la teneur en protéines, ce qui renforce leur résistance vis-à-vis de *Venturia inaequalis* (Naturforsch, 2004). La colonisation des racines du haricot avec *Pseudomonas* fluorescents est corrélée par l'induction de protéines PR et la systémisation de la résistance contre *Botrytis cinerea* (Zdor et Anderson, 1992). La résistance de la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire implique la stimulation de protéines PR avec *Pseudomonas fluorescens* Pf1 (Ramamoorthy et al., 2002) et *P. fluorescens* 63-28 (M'Piga et al., 1997). Dans ce contexte, trois distinctes protéines PR :

P-14a, P-14B et P-14c ont présenté une activité antifongique contre *Phytophthora* chez la tomate (Niderman et al., 1995). Ainsi, la protéine PR-3 est produite par *Capsicum annuum* L. pour se défendre vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* (Chaiyawat et al., 2008).

4. CROISSANCE ET PRODUCTION

L'application des PGPR montre un effet positif sur la croissance et la production des plants de tomate. Une différence significative selon les souches bactériennes, leurs conditions d'application et/ou entre les deux systèmes étudiés est notée (Annexe 9). Globalement, il a été constaté une nette supériorité des traitements en système split root par rapport au système classique. Certains traitements bactérisés et infectés ont présenté des valeurs non seulement supérieures du témoin positif mais encore plus élevées du témoin sainet dans d'autres cas similaires à ce dernier. Dans d'autres situations, les performances les plus élevées sont enregistrées surtout avec l'application des souches bactériennes seules sans infection (Figure 31, Tableau 14).

Pour l'ensemble des paramètres analysés, il a été enregistré des gains notables en phytostimulation, pour les plants bactérisés, un maximum de 61,95 % en système split root et de 108,20 % en système classique. Des gains moindres ont été notés chez les plants bactérisés et infectés, avec des taux marquants de 43,40 % en système split root et de 23,02 % en système classique. Pour les témoins malades, il a été noté un maximum de perte de 37,99 % (Tableau 15).

Relativement pour tous les paramètres étudiés, des gains appréciables en bioprotection sont enregistrés allant jusqu'à 81,96 % en système split root et de 71,75 % en système classique (Tableau 15).

4.1. Croissance aérienne

Nos résultats montrent une biostimulation remarquable en phytomasse aérienne, fraîche et sèche, avec les meilleures performances respectivement de 58,16 % et de 61,95 % en système

Effet des pgpr (*Pseudomonas* spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire



* Système classique. T- : H₂O, T+ : FOL, T₁A : C7R12, T₁B : FOL, T₂A : DS131, T₂B : FOL, T₃A : C7R12 + DS131, T₃B : FOL, T₄A : C7R12, T₄B : C7R12, T₅A : DS131, T₅B : DS131. T-* : H₂O, T+* : FOL, T₁* : C7R12 + FOL, T₂* : DS131 + FOL, T₃* : C7R12 + DS131 + FOL, T₄* : C7R12, T₅* : DS131.

Figure 31: Comparaison entre les plants de tomate en système split root et classique.

	Traitements	Poids frais (g)		Poids sec(g)		Hauteurs (cm)	Nombre de fruits/plant
		Tige+feuilles	Fruit	Tige+feuilles	Fruit		
Sp lit root	Témoin sain	62,83 ± 3,20** (c)	79,82 ± 3,70 (bc)	11,48 ± 0,20 (e)	5,03 ± 0,17 (c)	60,78 ± 8,38 (a)	2,06 ± 0,05 (bc)
	Témoin malade	58,41 ± 2,30 (cd)	89,35 ± 3,54 (ab)	9,49 ± 0,47 (f)	5,27 ± 0,17 (c)	52,63 ± 2,79 (a)	2,11 ± 0,04 (bc)
	C7R12+FOL	68,86 ± 3,04 (c)	91,82 ± 5,83 (ab)	12,66 ± 0,55 (d)	7,21 ± 0,36 (a)	57,43 ± 5,92 (a)	2,49 ± 0,01 (a)
	DS131+FOL	84,43 ± 4,92 (b)	99,40 ± 8,52 (a)	14,43 ± 0,32 (c)	5,93 ± 0,36 (b)	61,18 ± 5,25 (a)	2,53 ± 0,08 (a)
	C7R12+DS131+FOL	63,83 ± 4,93 (c)	77,47 ± 4,63 (c)	10,27 ± 0,27 (f)	5,19 ± 0,15 (c)	54,85 ± 4,47 (a)	2,20 ± 0,03 (b)
	C7R12	99,37 ± 1,68 (a)	87,09 ± 4,22 (ab)	17,86 ± 0,57 (b)	5,14 ± 0,27 (c)	65,30 ± 4,46 (a)	2,50 ± 0,10 (a)
	DS131	96,18 ± 2,96 (a)	90,89 ± 3,02 (ab)	18,59 ± 0,37 (a)	5,27 ± 0,30 (c)	58,09 ± 7,34 (a)	1,99 ± 0,10 (c)
	Témoin sain*	30,52 ± 1,88 (f)	42,53 ± 0,59 (de)	4,63 ± 0,50 (h)	2,47 ± 0,03 (de)	34,73 ± 5,39 (b)	1,28 ± 0,07 (e)
Classique	Témoin malade*	18,93 ± 4,98 (g)	41,05 ± 4,54 (e)	3,01 ± 0,26 (i)	1,94 ± 0,09 (ef)	29,6 ± 6,52 (b)	1,24 ± 0,04 (e)
	(C7R12+FOL)*	28,84 ± 4,15 (f)	40,29 ± 3,81 (e)	4,61 ± 0,09 (h)	1,84 ± 0,45 (f)	30,84 ± 1,38 (b)	1,10 ± 0,09 (f)
	(DS131+FOL)*	32,51 ± 2,33 (f)	46,02 ± 3,66 (de)	5,06 ± 0,54 (h)	2,83 ± 0,41 (d)	31,18 ± 5,74 (b)	1,42 ± 0,08 (d)
	(C7R12+DS131+FOL)*	26,01 ± 2,59 (fg)	39,86 ± 6,17 (e)	4,26 ± 0,40 (h)	2,56 ± 0,41 (de)	33,71 ± 4,57 (b)	1,22 ± 0,05 (e)
	(C7R12)*	53,14 ± 2,36 (d)	49,87 ± 2,31 (de)	9,65 ± 0,40 (f)	2,98 ± 0,38 (d)	34,31 ± 2,30 (b)	1,49 ± 0,02 (d)
	(DS131)*	43,80 ± 2,61 (e)	54,03 ± 9,56 (d)	7,64 ± 0,34 (g)	2,84 ± 0,26 (d)	34,33 ± 1,76 (b)	1,49 ± 0,08 (d)

* Système classique. ** Ecart type issu des trente répétitions.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Tableau 14 : Biomasse et hauteur de la partie aérienne

Effet des pgpr (pseudomonas spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire

		Poids frais (g)			Poids sec (g)					
Traitements		Tige+feuilles	Fruit	Racine	Tige+feuilles	Fruit	Racine	Hauteur (cm)	Nombre de fruits /plant	
Gains en phytostimulation	Split root	Témoin malade	-7,03	11,94	- 24,20	- 17,37	4,87	- 4,64	-13,41	2,25
		C7R12+FOL	9,60	15,04	11,50	10,28	43,40	10,53	-5,51	20,91
		DS131+FOL	34,39	24,53	37,93	25,70	17,97	34,66	0,66	22,72
		C7R12+DS131+FOL	1,60	- 2,94	3,54	- 10,58	3,22	5,33	-9,76	6,89
		C7R12	58,16	9,11	46,99	55,58	2,18	46,54	7,44	21,31
		DS131	53,08	13,86	48,36	61,95	4,83	41,08	- 4,43	- 3,49
	Classique	Témoin malade*	- 37,99	- 3,49	- 23,40	- 34,94	- 21,57	- 20,05	-14,77	- 2,69
		(C7R12+FOL)*	- 5,51	- 5,27	- 2,77	- 0,59	- 25,64	4,43	-11,20	- 14,13
		(DS131+FOL)*	6,50	8,20	6,95	9,28	14,75	23,02	-10,24	11,18
		(C7R12+DS131+FOL)*	- 14,78	- 6,28	- 1,16	- 8,16	3,80	- 2,26	-2,94	- 4,71
		(C7R12)*	74,12	17,25	50,08	108,20	20,88	75,24	-1,21	16,89
		(DS131)*	43,50	27,04	17,55	64,96	14,89	68,93	-1,14	16,27
Gains en bioprotection	Split root	C7R12+FOL	17,89	2,77	47,10	33,46	36,74	15,90	9,12	18,25
		DS131+FOL	44,55	11,25	81,96	52,14	12,49	41,21	16,25	20,03
		C7R12+DS131+FOL	9,28	- 13,29	36,60	8,22	- 1,57	10,45	4,22	4,54
	Classique	(C7R12+FOL)*	52,39	- 1,85	26,94	52,81	- 5,19	30,62	4,19	- 11,76
		(DS131+FOL)*	71,75	12,11	39,62	67,97	46,30	53,86	5,32	14,26
		(C7R12+DS131+FOL)*	37,43	- 2,89	29,05	41,18	32,35	22,25	13,88	- 2,07

Tableau 15 : Gains en phytostimulation et en bioprotection des plants de tomate.

*Système classique

split root, de 74,12 % et de 108,20 % en système classique. Par rapport aux témoins malades, les gains les plus marquants pour la matière fraîche et sèche sont de 44,55 % à 71,75 % pour les deux systèmes étudiés (Tableau 15).

Les mensurations des hauteurs des tiges n'ont pas montré des gains notables en phytostimulation, mais en bioprotection il a été constaté un taux maximum de 16,25 % pour les deux systèmes étudiés.

4.1.1. Poids frais (tige + feuilles)

En système split root, la meilleure stimulation est obtenue chez les plants bactérisés avec C7R12 ou DS131, alors qu'en système classique la C7R12 a présenté le résultat le plus marquant. Tous les plants bactérisés et infectés ont montré une matière fraîche supérieure de celle des témoins positifs. Le test de Newman-Keuls révèle sept groupes homogènes (a, b, c, d, e, f et g) avec deux chevauchements (cd et fg) (Figure 32, Tableau 14).

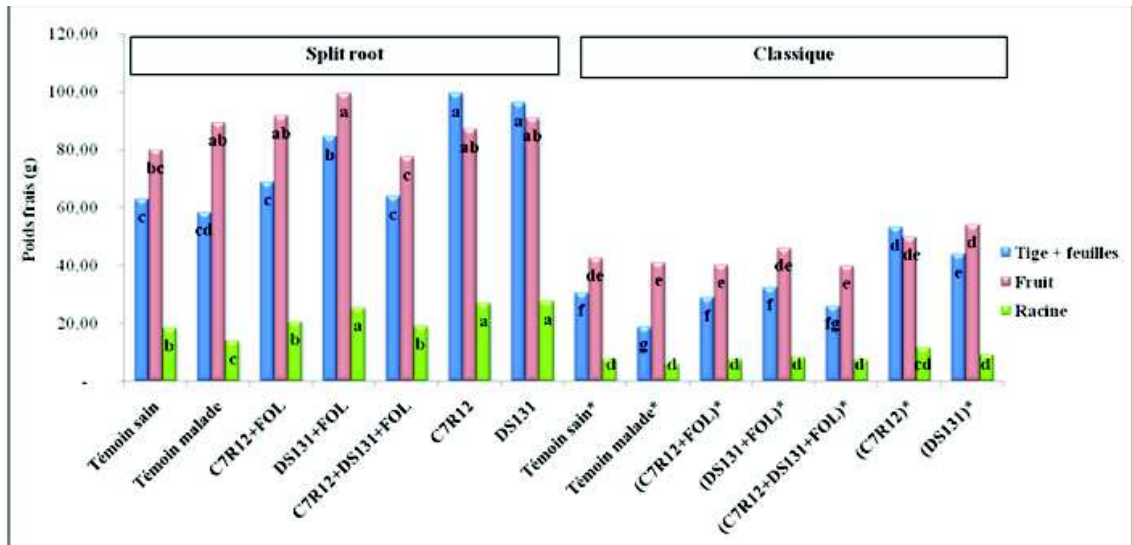
4.1.2. Poids sec (tige + feuilles)

En système split root, les plants bactérisés avec DS131 ont présenté le poids sec le plus élevé, tandis qu'en système classique la meilleure performance est enregistrée avec la C7R12. La majorité des plants bactérisés et infectés ont enregistré une matière sèche meilleure que les plants malades. Le test de Newman-Keuls a classé les moyennes du poids sec en huit groupes homogènes (a, b, c, d, e, f, g et h) (Figure 33, Tableau 14).

4.1.3. Hauteurs des plants

La bactérisation n'a pas montré un effet positif sur les hauteurs des plants, mais une nette différence entre les deux systèmes étudiés est constatée, avec une supériorité

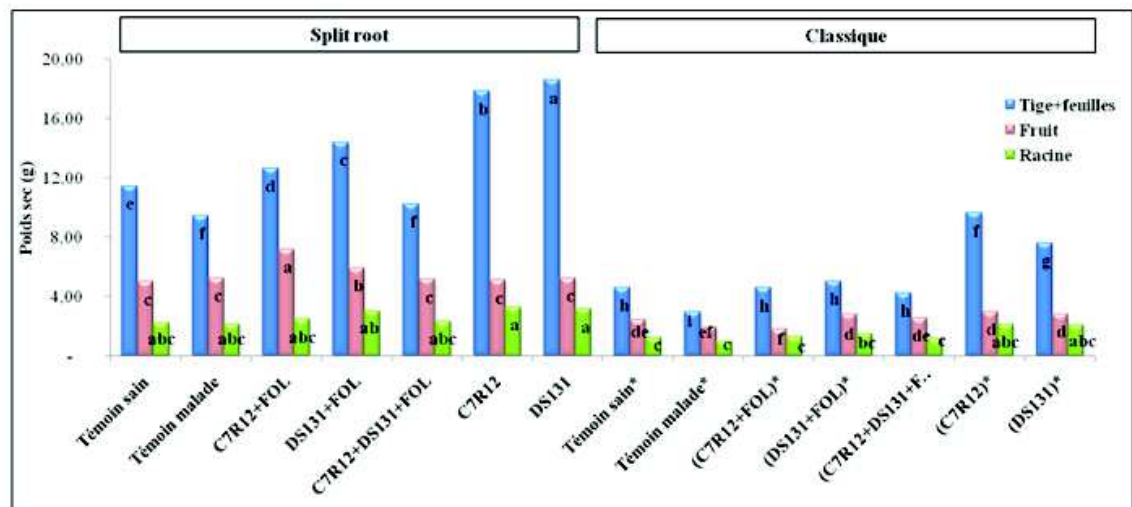
des traitements en système split root. Le test de Newman-Keuls révèle deux groupes homogènes (a et b) (Figure 34, Tableau 14).



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5 \%$.

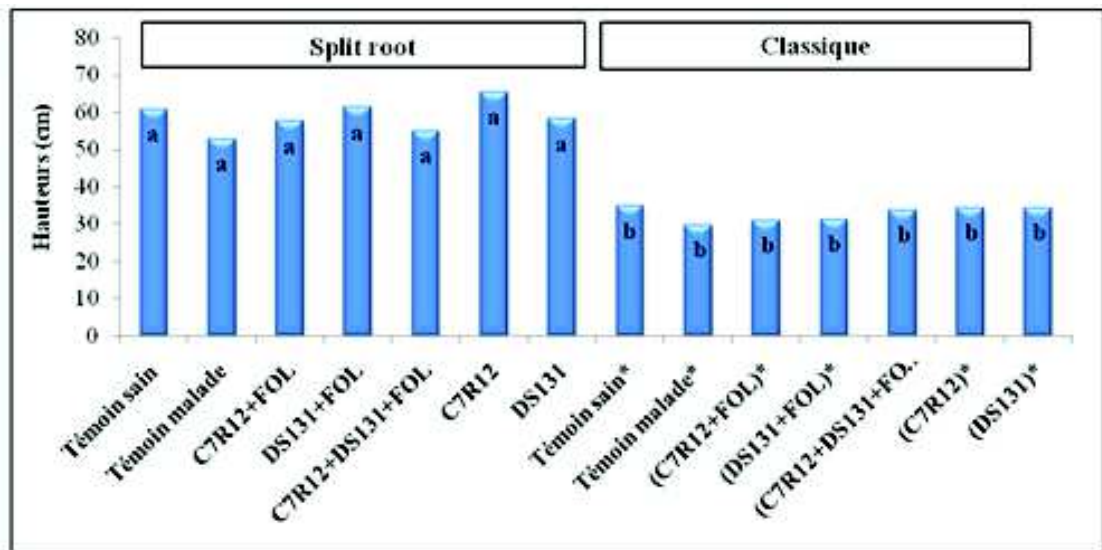
Figure 32 : Poids frais de la partie aérienne et racinaire (g)



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5 \%$.

Figure 33: Poids sec de la partie aérienne et racinaire (g)



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 34: Hauteurs de la partie aérienne (cm)

4.2. Croissance racinaire

Les gains en matière fraîche et sèche des racines sont appréciables, atteignant des niveaux de 48,36 % en système split root et de 75,24 % en système classique. Pour les gains en bioprotection, il a été enregistré des taux en poids frais plus notables en système split root (81,96 %) qu'en système classique (39,62 %). La matière sèche montre des gains allant de 10,45 % à 53,86 % pour les deux systèmes étudiés (Tableau 15).

4.2.1. Poids frais

En système split root, trois traitements ont enregistré les meilleures performances : les plants bactérisés avec DS131, C7R12 et les plants bactérisés avec DS131 et infectés par FOL ; les témoins positifs ont présenté le poids frais le plus faible. En système classique, la matière fraîche la plus marquante est enregistrée avec C7R12 (Figure 35, Tableau 16). Le test de Newman-Keuls a révélé quatre groupes homogènes (a, b, c et d) avec un chevauchement (cd) (Figures 32). L'analyse statistique effectuée sur les lots (A) et (B) du système split root montre une différence très hautement significative (Tableau 16).



T- : H₂O, T+ : FOL, T₁A : C7R12, T₁B : FOL, T₂A : DS131, T₂B : FOL, T₃A : C7R12 + DS131, T₃A : FOL, T₄A : C7R12, T₄B : C7R12, T₅A : DS131, T₅B : DS131

Figure 35 : Racines des plants de tomate en système split root



* Système classique. T-* : H₂O, T+* : FOL, T₁* : C7R12 + FOL, T₂* : DS131 + FOL, T₃* : C7R12 + DS131 + FOL, T₄* : C7R12, T₅* : DS131.

Figure 35 (suite) : Racines des plants de tomate en système classique

Effet des pgpr (pseudomonas spp. fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis-a-vis de la fusariose vasculaire

		Traitements	Per 1	Per 2	Per 3	Per 4	Per 5	Per 6
Chlorophylle totale	Sp lit root	Témoïn malade	/	- 3,88	- 43,46	- 22,64	- 25,19	- 60,01
		C7R12+FOL	48,99	96,57	- 8,90	31,11	2,24	0,18
		DS131+FOL	37,15	154,16	- 10,12	52,40	- 4,17	- 4,44
		C7R12+DS131+FOL	93,45	156,22	- 5,80	47,50	- 23,17	- 21,41
		C7R12	29,56	52,88	- 30,48	30,45	- 0,50	29,36
		DS131	47,84	46,17	39,66	30,41	27,20	7,50
	Classique	Témoïn malade*	/	- 11,08	- 26,61	- 31,30	- 15,76	- 38,16
		(C7R12+FOL)*	49,86	169,04	- 24,16	34,12	- 8,85	- 3,61
		(DS131+FOL)*	4,42	187,90	- 22,87	36,12	- 8,59	26,97
		(C7R12+DS131+FOL)*	167,16	121,80	23,14	5,98	- 0,82	11,46
		(C7R12)*	26,02	151,69	7,98	- 16,52	47,94	63,16
		(DS131)*	3,50	114,30	19,06	37,70	49,46	2,60
Proline	Sp lit root	Témoïn malade	/	- 3,92	29,58	0,00	64,97	53,42
		C7R12+FOL	33,88	89,30	61,50	0,00	32,20	27,85
		DS131+FOL	25,18	123,53	- 3,52	0,00	11,86	- 2,28
		C7R12+DS131+FOL	32,79	29,41	83,10	0,00	6,78	- 34,25
		C7R12	24,63	102,67	2,82	0,00	40,68	67,12
		DS131	137,83	- 9,63	47,42	0,00	9,60	30,59
	Classique	Témoïn malade*	/	- 34,94	6,32	123,08	55,56	63,16
		(C7R12+FOL)*	75,00	114,46	142,11	- 7,69	54,07	47,37
		(DS131+FOL)*	26,79	71,08	87,37	- 17,95	67,41	87,13
		(C7R12+DS131+FOL)*	173,81	71,69	12,63	93,05	86,67	- 2,92
		(C7R12)*	50,60	11,45	- 1,05	113,90	35,56	68,42
		(DS131)*	33,33	83,73	- 37,89	208,52	113,33	22,81
Protéines totales	Sp lit root	Témoïn malade	/	28,60	- 5,58	- 4,89	8,33	5,28
		C7R12+FOL	16,74	23,30	- 28,19	5,62	33,08	15,73
		DS131+FOL	19,40	28,48	2,06	5,09	22,55	38,62
		C7R12+DS131+FOL	- 0,31	12,96	- 15,50	10,72	- 6,09	15,35
		C7R12	- 2,88	35,51	9,92	8,62	5,14	13,75
		DS131	19,10	30,64	- 17,55	10,05	11,48	11,44
	Classique	Témoïn malade*	/	10,98	18,92	0	- 6,33	8,56
		(C7R12+FOL)*	19,81	- 18,92	12,99	- 4,41	3,75	14,56
		(DS131+FOL)*	12,80	- 2,68	16,19	4,76	3,73	16,00
		(C7R12+DS131+FOL)*	26,63	- 11,47	3,99	0,63	- 6,32	15,27
		(C7R12)*	13,02	7,81	13,82	1,37	- 0,25	10,95
		(DS131)*	7,99	- 26,18	- 22,57	1,55	- 21,04	13,54

* Système classique. ** Ecart type issu des trente répétitions. (A) et (B) : Lots du système racinaire en split root.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

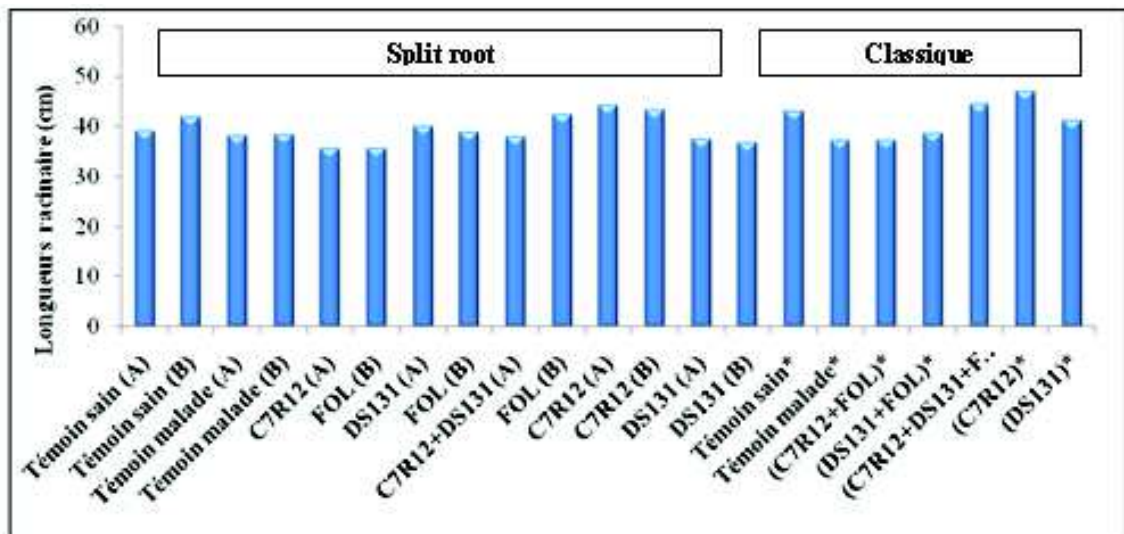
Tableau 16 : Biomasse et élongation de la partie souterraine

4.2.2. Poids sec

La matière sèche la plus marquante est notée chez les plants bactérisés avec C7R12 ou DS131 dans les deux systèmes étudiés (Tableau 16). Le test de Newman-Keuls révèle trois groupes homogènes (a, b et c) avec trois chevauchements (ab, abc et bc) (Figure 33). L'analyse statistique effectuée sur le poids sec de la partie souterraine des lots (A) et (B) en système split root n'a pas montré une différence significative (Tableau 16).

4.2.3. Longueurs de la partie souterraine

Les mensurations des longueurs de la partie souterraine n'ont pas présenté une différence significative. Les plants bactérisés et/ou infectés des deux systèmes ont montré des élongations similaires aux témoins positifs et sains (Figure 36, Tableau 16).



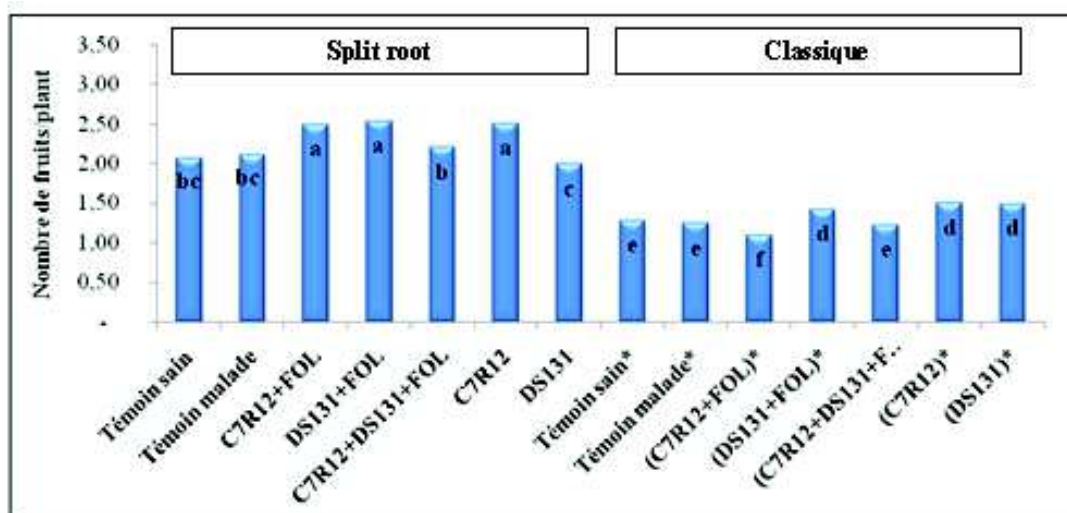
* Système classique

Figure 36 : Longueurs de la partie souterraine (cm)

4.3. Production

4.3.1. Nombre de fruits par plant

Dans les deux systèmes étudiés, la plupart des plants bactérisés ont enregistré un nombre de fruits/plant plus élevé en comparaison avec les plants sains et malades. Le test de Newman-Keuls a révélé six groupes homogènes (a, b, c, d, e et f) avec un seul chevauchement (bc) (Figure 37, Tableau 14). En phytostimulation et en bioprotection, il a été constaté respectivement un maximum des gains de 22,72 % et de 20,03 % en système split root, de 16,89 % et de 14,26 % en système classique (Tableau, 15)



* Système classique.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5\%$.

Figure 37 : Nombre de fruits par plant

4.3.2. Poids frais et sec des fruits

Un maximum de biostimulation en poids frais et sec est noté allant de 20,88 % à 43,40 % pour les deux systèmes étudiés. En comparaison avec les témoins malades, les meilleurs gains en matière fraîche et sèche des fruits sont de 11,25 % à de 46,30 % pour tous les traitements (Tableau, 15). Globalement, les plants bactérisés et/ou infectés ont présenté quelques similarités (Tableau 14), les meilleures performances sont :

- Poids frais : En système split root, les plants bactérisés avec DS131 et infectés par FOL ont enregistré le meilleur résultat, tandis qu'en système classique l'application seule de la DS131 a induit la performance la plus marquante. Le test de Newman-Keuls révèle cinq groupes homogènes (a, b, c, d, et e) avec trois chevauchements (ab, bc et de).
- Poids sec : En système split root, le meilleur résultat est obtenu par les plants bactérisés avec C7R12 et infectés par FOL, alors qu'en système classique, le résultat remarquable est enregistré par l'application des antagonistes bactériens mis à part deux traitements (C7R12 et la combinaison des deux antagonistes, inoculés avec FOL). Le test Newman-Keuls montre six groupes homogènes (a, b, c, d, e et f) avec deux chevauchements (de et ef).

4.4. Discussion

La capacité des *Pseudomonas fluorescents* dans la stimulation de la croissance des plantes a été largement signalée (Leinhos, 1994). Dans des conditions sous serre, *Pseudomonas sp.* SF4c et SF10b stimulent la croissance du blé (Fischer et al., 2007) et de la tomate (Fischer et al., 2010). D'après l'étude de Baset et al., (2010), en culture hydroponique l'inoculation des PGPR a stimulé la formation, la longueur et le poids sec des racines, également une augmentation de la croissance de la tige, la surface foliaire et la matière sèche totale.

Dans notre expérimentation, *P. fluorescens* C7R12 et *P. putida* DS131 ont biostimulé la matière fraîche et sèche de la partie aérienne et racinaire des plants de tomate. Selon Mercado-Blanco et al., (2004). *P. fluorescens* bv 5 PICF7 augmente significativement le poids frais et sec de l'olivier. Dans le but de biocontrôle de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, l'application de *P. fluorescens* WCS365 a surmonté une diminution de 25 % en matière fraîche par rapport aux plants malades (Kamilova et al., 2006). Selon nos résultats, la fusariose vasculaire a entraîné des pertes de 3,49 % à 37,99 % en poids frais. En revanche, le biocontrôle de l'infection a présenté un maximum de gain de 81,96 %.

L'analyse du poids est un paramètre qui peut être influencé par les facteurs environnementaux (température et l'humidité) et expérimentaux (la nature du papier utilisé pour le séchage des tissus) (Bashan et De-Bashan, 2005). Malgré cela, ce paramètre reste estimatif et pas déterminatif des potentialités des PGPR.

Selon nos résultats, les mensurations de la hauteur des tiges n'ont pas montré une différence entre les plants bactérisés et les plants témoins. Un constat similaire a été rapporté par l'étude de Gravel et al., (2007), en appliquant la souche *P. putida* 1 subgroup B chez les plants de tomate en culture hydroponique. Par contre, *P. fluorescens* bv 5 PICF7 augmente significativement la hauteur des tiges de l'olivier (Mercado-Blanco et al., 2004). Egalement, l'étude de Satraniet al., (2009), a montré que *Pseudomonas fluorescens* A6RI

et TGI252 stimulent significativement la hauteur des tiges des plants de *Cedrus atlantica* Manetti avec des gains allant jusqu'à 27 %.

Dans notre étude, l'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents induit un effet positif sur les poids frais et sec des fruits de tomate ainsi que le nombre de fruits par plant. Selon Gagnb et al., (1993), les pseudomonas fluorescents augmentent le rendement des fruits de tomate. Les mécanismes responsables de cette augmentation ne sont pas connus, un bon système racinaire peut être à l'origine de cette augmentation.

Selon les mensurations de la longueur de la partie racinaire, aucune différence significative n'a été détectée entre les traitements bactérisés et entre les systèmes appliqués. Selon l'étude de Satrani et al., (2009), il a été constaté des stimulations allant jusqu'à 92 % à la suite d'application de *P. fluorescens* A6RI et TGI252. Dans nos conditions d'expérimentation, la longueur des racines est un paramètre difficile à apprécier, qui peut être influencé par la contenance en substrat et limité par le volume des pots.

L'amélioration de la croissance par les PGPR fait référence à une gamme d'effets bénéfiques (Liu et al., 1995 ; Glick et al., 1999 ; Whipps, 2001). Ces bactéries facilitent la disponibilité et l'absorption de certains nutriments dans l'environnement racinaire (Zahir et al., 2004). Les PGPR peuvent fixer l'azote (Barriuso et al., 2005 ; Mishra et al., 2010), solubiliser le phosphore et le potassium (Barriuso et al., 2005). Ces rhizobactéries empêchent ou diminuent les effets délétères des organismes phytopathogènes dans la rhizosphère (Zahir et al., 2004).

Les PGPR peuvent produire intensément de composés stimulants, tels que les régulateurs de croissance (Antoun et Prévost, 2005). En particulier, *Pseudomonas* spp. (Patten et Glick, 2002) et *Bacillus* spp. (Idris et al., 2007), sont caractérisés par leur capacité à produire l'auxine, phytohormone jouant un rôle majeur dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes (Tromas et Perrot-Rechenmann, 2010). Cette phytohormone exerce un effet positif sur la croissance et la morphologie des racines (Vessey, 2003), en stimulant leur néoformation (rhizogénèse) (El Harti et Raouane, 2009). L'effet phytostimulateur de la souche C7R12 sur *Medicago truncatula* est attribué à la production de l'auxine (Sanchez et al., 2005). La même action est montrée avec *P. putida*, en favorisant la croissance des plants de tomate (Gravel et al., 2007). Egalement, cette phytohormone est impliquée dans le développement des fruits de la tomate, en particulier pendant la nouaison et dans la phase finale du développement (Srivastava et Handa, 2005).

L'implication de l'AIA bactérien dans la promotion de la croissance des plantes a été démontrée dans l'interaction entre le canola et *P. putida* GR122. Les racines inoculées avec un mutant *ipdC* (un gène clé dans la synthèse de l'AIA), ont été moins développées que les racines bactérisées avec la souche sauvage (Patten et Glick, 2002). Autres rhizobactéries participent dans la stimulation de la croissance des plantes en synthétisant les gibbérellines (Gutierrez-Manero et al., 2001) et les cytokinines, ce qui reflète le grand potentiel phytostimulateur de ces bactéries bénéfiques. La quantité de phytohormones synthétisées par les PGPR varie selon les souches de la même espèce (Hussain et al., 2009). En plus de leur capacité à produire de phytohormones, ces rhizobactéries sont capables d'améliorer le niveau endogène en cytokinines et en auxines des plantes inoculées (Barazani et Friedman, 1999).

En l'absence de contact physique avec la plante, certains PGPR stimulent la croissance des plantes par la synthèse de composés organiques volatils avec des mécanismes inconnus. La production de ces composés par *Bacillus subtilis* GB03 stimule la croissance d'*Arabidopsis* par le contrôle de l'homéostasie de l'auxine, plus précisément l'expression

des gènes de synthèse de l'auxine. Ces substances volatiles induisent des effets bénéfiques durables sur la croissance d'*Arabidopsis* (Zhang et al., 2007).

Les PGPR abaissent le niveau d'éthylène au sein de la plante (Antoun et Prévost, 2005). A cette effet, La quantité de l'éthylène produite par la plante est réduite, ce qui favorise l'élongation des racines (Penrose et al., 2001 ; Rifat et al., 2010). L'effet de l'éthylène sur la croissance des racines est largement assuré par la régulation de la biosynthèse de l'auxine et de la distribution locale de cette hormone. L'éthylène stimule la biosynthèse de l'auxine et le transport basipète vers la zone d'élongation, où il active une réponse auxine locale menant à l'inhibition de l'élongation des cellules (Růžička et al., 2007). La réduction de l'effet de l'AIA sur l'inhibition de l'élongation des racines peut être associée à la réduction de la production de l'éthylène, qui est due à l'affaiblissement de son précurseur (l'acide 1-minocyclopropane-1-carboxylique), qui est dégradé par ACC deaminase et/ou encore à la dégradation de l'AIA dans la rhizosphère. Ces deux activités sont vérifiées chez *P. putida* (Gravel et al., 2007).

5. VIABILITE ET DYNAMIQUE DES PSEUDOMONAS ET DE FOL

L'essai de la vérification de la survie des *Pseudomonas* spp. fluorescents a montré après 24 h à 48 h, une culture bactérienne fluorescente verte tout autour des fragments racinaires, ce qui confirme la présence des PGPR appliqués (Figure 38).

Afin d'estimer la dynamique des *Pseudomonas* spp. fluorescents, leur concentration est obtenue en dénombrant les colonies bactériennes apparues après 24 h de culture, qui sont fluorescentes et de coloration blanchâtre à crème (Figures 39, 40). L'analyse de la variance des concentrations finales a montré une différence significative avec des degrés de colonisation appréciables (Annexe 10, Tableau 17). La comparaison par le test de Newman-Keuls a révélé deux groupes homogènes (a et b). La C7R12 a présenté la concentration la plus marquante dans le sol rhizosphérique (2×10^{12} cfu/ml), les autres concentrations restent similaires. Malgré cette similarité, il existe une légère augmentation par rapport à la 1^{ère} concentration (10^8 cfu/ml). Sur la base de cette concentration, nous avons remarqué une faible évolution de la population bactérienne sur les racines de 2×10^8 cfu/ml avec C7R12 alors que la souche DS131 a présenté $3,67 \times 10^6$ cfu/ml, cette souche a enregistré une concentration de $3,15 \times 10^9$ cfu/ml dans le sol rhizosphérique.

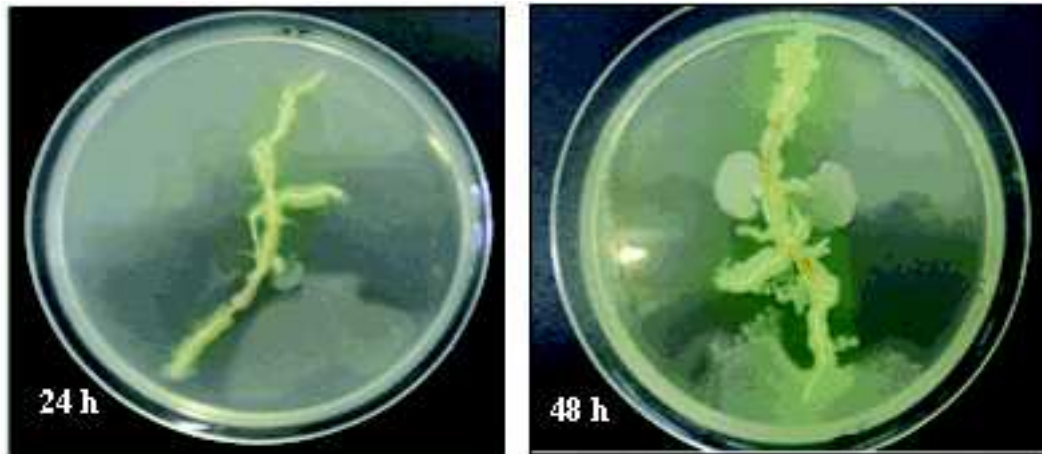


Figure 38 : Cultures bactériennes des fragments racinaires.

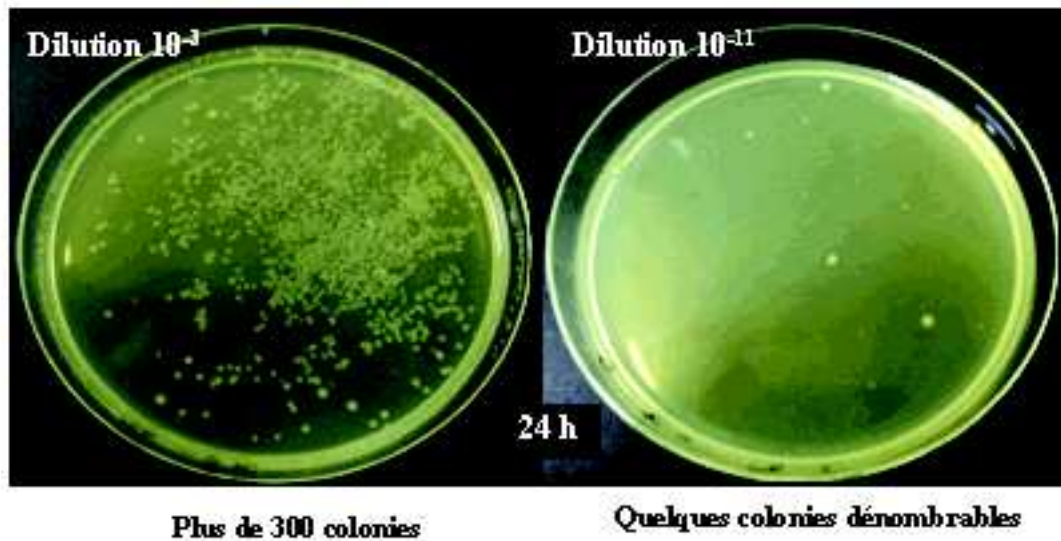


Figure 39 :Dénombrement des colonies bactériennes.

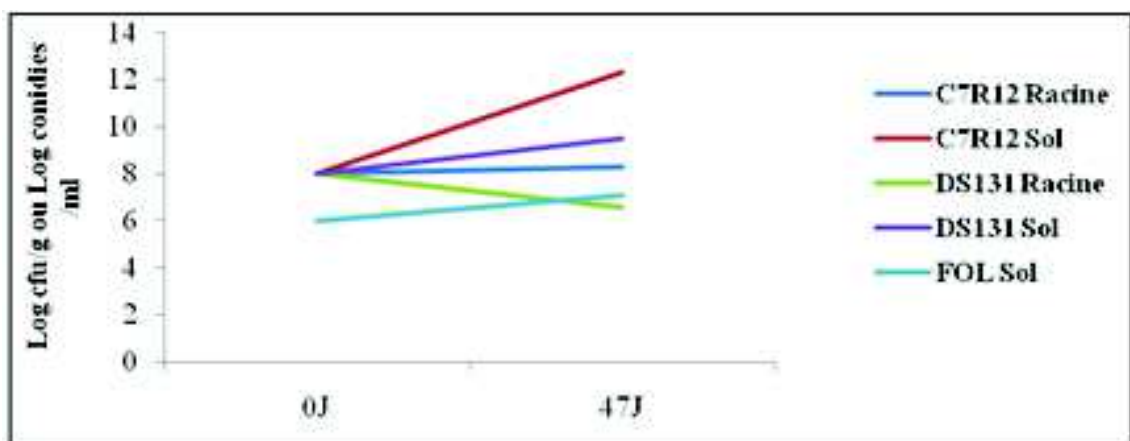


Figure 40 : Evolution de la population bactérienne et fongique.

La culture des fragments racinaires de plants de tomate pendant trois à cinq jours a montré un développement mycélien de couleur blanc-violet, ce qui révèle la présence de

FOL (Figure 41). Les colonies de FOL apparaissent d'abord blanches et elles prennent une teinte rose foncé à violacée. Le test de Newman-Keuls n'a pas révélé de différence significative par rapport à la 1^{ère} concentration de l'inoculum fongique (10^6 conidies/ml) (Annexe 10, Figures 40, 42, Tableau 18).

Les résultats de la vérification de la viabilité et de la dynamique microbienne ont montré la survie des *Pseudomonas* spp. fluorescents et leur capacité de se multiplier dans la rhizosphère et sur les racines des plants de tomate. Les *Pseudomonas* fluorescents sont connus par leur forte colonisation des racines, leur utilisation de plusieurs substrats comme source de carbone et la diversité de leur métabolisme (Latour et Lemanceau, 1997 ; Misko et Germida, 2002).

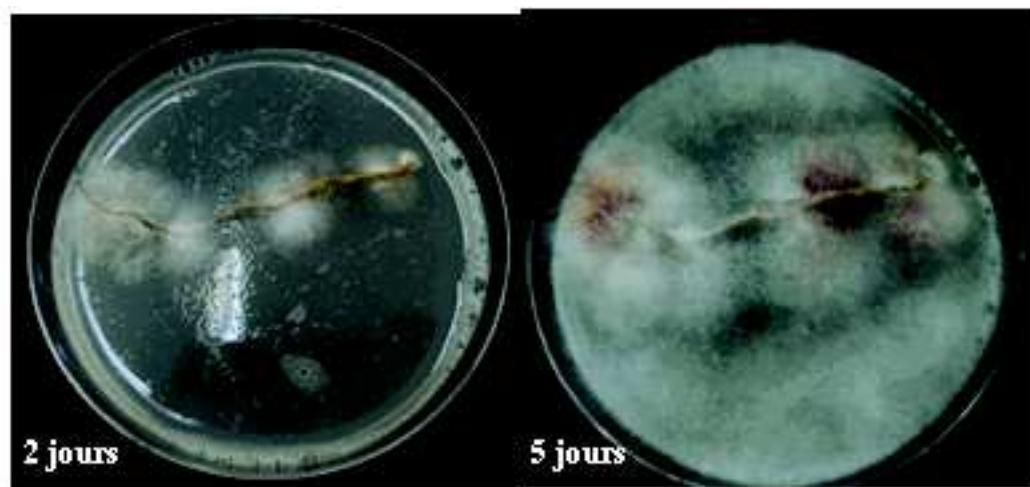


Figure 41 : Cultures fongiques des fragments racinaires.



Figure 42 : Dénombrement des colonies fongiques

		1 ^{ère} Concentration	C7R12 (après 47 J)	DS131 (après 47 J)
Racine	cfu/ml	10 ⁸ (b)	2×10 ⁸ ± 2,5×10 ⁷ *(b)	3,67×10 ⁶ ± 7 × 10 ⁴ (b)
	Log cfu/ml	8	8,3	6,56
Sol	cfu/ml	10 ⁸ (b)	2×10 ¹² ± 10 ⁸ (a)	3,15×10 ⁹ ± 5 × 10 ⁷ (b)
	Log cfu/ml	8	12,3	9,5

*Ecart type issu des trois répétitions

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5 \%$.

Tableau 17 : Dynamique des *Pseudomonas* spp. Fluorescents

		1 ^{ère} Concentration	FOL (après 43 J)
Sol	Conidies/ml	10 ⁶ (b)	1,15 × 10 ⁷ ± 1,5×10 ⁶ * (b)
	Log Conidies/ml	6	7,06

*Ecart type issu des trois répétitions

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha = 5 \%$.

Tableau 18 : Dynamique de FOL.

Selon nos résultats obtenus, les *Pseudomonas* spp. fluorescents colonisent les racines des plants de tomate. D'après Bradley et Punja, (2010), une concentration bactérienne de $1,9 \times 10^6 \pm 0,73 \times 10^6$ cfu/g est suffisante pour la colonisation. La concentration de *P. fluorescens* C7R12 a augmenté considérablement dans le sol rhizosphérique et légèrement sur les racines. La C7R12 est une rhizobactérie compétente (Éparvier et al., 1991), qui colonise la rhizosphère et les tissus des racines *M. truncatula* (Sanchez et al.2004). D'après Kloepper et al., (1980), *P. fluorescens* et *P. putida* colonisent fortement les racines de pomme de terre, de betterave à sucre et de radis.

La compétence des PGPR est due à leur aptitude de coloniser les racines de manière efficace (Whipps, 1997 ; Weert <http://www.springerlink.com/content/?Author=Sandra+de+Weert> et Bloemberg, 2006 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009), de survivre et de proliférer le long des racines pendant une longue période en présence de la microflore indigène (Latour et Lemanceau, 1997 ; Whipps, 1997). Divers nutriments existent le long de la surface racinaire (les exsudats racinaires) constituent une source importante de carbone (Campbellec et al., 1997), dont 40 % de photosynthétats (Degenhardt et al., 2003). La libération des exsudats racinaires des plantes constituent la première étape nécessaire à la colonisation de la rhizosphère et le rhizoplan (Kamilova et al., 2006). La colonisation des tissus de la plante joue un rôle primordial dans le biocontrôle (Chin-A-Woeng et al., 2000). Ce phénomène est un processus à plusieurs étapes (Dekkers et al., 1998 ; Turnbull et al., 2001) et de divers déterminants bactériens sont nécessaires (Lugtenberg et Kamilova,

2009), comme la motilité (les flagelles) (De Weger et al., 1987) et/ou la présence des lipopolysaccharides. Ces caractéristiques peuvent différer d'une souche à une autre (Bakker et al., 2007). L'adhérence des PGPR aux racines peut être non spécifique, nécessite des forces électrostatiques (James et al., 1985), ou spécifique impliquant la reconnaissance des surfaces cellulaires grâce à des glycoprotéines appelées : agglutinines (Anderson et al., 1988).

La culture des fragments racinaires de plants infectés par FOL révèle un développement mycélien intense. Le dénombrement des colonies fongiques montre une faible augmentation non significative de la concentration fongique dans le sol rhizosphérique. La germination des conidies de FOL est déclenchée par les exsudats de la tomate (Kamilova et al., 2008). Selon Olivain et Alabouvette, (1999), les souches pathogènes de FOL colonisent rapidement la surface des racines de leur plante hôte (tomate) en formant un réseau dense d'hyphes.

6. DISCUSSION GENERALE

L'exploitation des ressources microbiennes bénéfiques est devenue une alternative ou complémentaire de l'utilisation des produits chimiques, qui peuvent engendrer des effets secondaires sur l'environnement et la santé humaine. Les communautés microbiennes naturelles offrent une opportunité espérée pour la gestion des écosystèmes et les pratiques agronomiques de façon durable. Des formulations à base des PGPR commencent à connaître des issues commerciales après ces dernières décennies d'expérimentation (Ramamoorthy et al., 2001).

Dans notre étude, le test d'antagonisme *in vitro* peut être utilisé comme indicateur dans la sélection des souches bénéfiques. Les potentialités antagonistes ne peuvent pas être déterminées avec précision à travers l'évaluation *in vitro* sur quelques milieux nutritifs. Les résultats obtenus ne transposent pas en pratique les potentialités réelles des agents antagonistes. Notre test reste comme un essai estimatif de l'activité antagoniste. En raison, de la complexité de la synthèse des métabolites secondaires, la régulation de la production, les caractéristiques génotypiques de chaque souche et l'expression phénotypique qui restent dépendante des conditions du milieu. En plus, plusieurs mécanismes d'action peuvent intervenir directement ou indirectement dans l'activité antagoniste individuellement ou en combinaison.

L'intérêt du contrôle biologique des phytopathogènes a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies (Choudhary et Johria, 2009). Les *pseudomonas* peuvent réduire le pouvoir virulent des pathogènes, en activant les mécanismes de défense et/ou en l'inhibant directement (production d'antibiotiques). Les actions de biocontrôle et d'induction de résistance systémique sont très complexes dans leur expression et sont régulées par plusieurs processus au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel (Haas et Défago, 2005).

Les plantes possèdent des mécanismes de défense endogènes, qui peuvent être induits en réponse aux attaques par des insectes et des pathogènes. Il est bien connu que les gènes de défense sont des gènes inductibles et nécessitent des stimuli appropriés ou des signaux pour leur activation. Il a été rapporté que l'application préalable d'un agent biologique inducteur : *Pseudomonas fluorescents* déclenche ou active les mécanismes de défense latents des plantes, en réponse à l'infection avec les pathogènes (Ramamoorthy,

2002). L'application de ces rhizobactéries sous conditions de serre déclenche l'ISR, qui protège significativement le radis vis-à-vis de la fusariose vasculaire et augmente le rendement de 40 % (Leeman et al., 1995).

Dans notre étude, des taux appréciables en bioprotection sont notés. Une meilleure tolérance des plants de tomate à la fusariose vasculaire est obtenue en système relatif à l'induction de la résistance systémique. En revanche, des taux moindres sont enregistrés en système classique où nous avons favorisé le contact physique des PGPR à la fois avec FOL (biocontrôle) et avec la plante (ISR), dans ce cas, les inhibitions doivent être meilleures.

A partir de nos résultats, que ce soit en système split root ou en classique, nous avons constaté que l'effet positif des PGPR en bioprotection est nettement supérieur dans la réduction de la sévérité que la réduction du taux de l'infection, ce qui indique que l'ISR ou le biocontrôle rendent la plante tolérante à la maladie en réduisant fortement l'évolution et en retardant l'apparition des symptômes, que l'inhibition totale du déclenchement de ces derniers.

Dans la comparaison entre l'antagonisme *in vitro* et le biocontrôle *in situ*, la souche C7R12 confirme relativement ses potentialités supérieures. Malgré la faible action antagoniste *in vitro* de la souche DS131 (10,95 %), une bioprotection de 42,59 % est notée *in situ*. L'évaluation des actions des PGPR nécessite des études finalisées et leurs potentialités de biocontrôle doivent encore être mieux maîtrisées (Arora et al., 2001).

L'élicitation de l'ISR chez les plantes implique le priming des réactions de défense, qui renforce les capacités défensives des plantes vis-à-vis des agents pathogènes (Baluska et Ninkovic, 2010 ; Tonelli et al., 2011). Ce phénomène potentialise la résistance des plantes et il est efficient vis-à-vis de différents stress biotiques et abiotiques (Kuč, 1982). En plus de la résistance aux agents pathogènes, différentes études ont démontré que l'activation des défenses inductibles affecte la croissance des plantes et la reproduction (Heil, 2002).

Le quorum sensing contrôle l'activité de biocontrôle et d'induction de la résistance systémique par les PGPR (Liu et al., 2008 ; Girard et al., 2006). *P. putida* ISOF colonise les racines de la tomate et produit des N-acyl homoserines lactones dans la rhizosphère, ces molécules augmentent la résistance systémique des plants de tomates contre *Alternaria alternata* (Schuhegger et al., 2006). Chez le radis, l'élicitation de l'ISR par *P. fluorescens* WCS374 nécessite une densité de population de 105 cfu/g pour la suppression significative de la maladie (Raaijmakers et al., 1995).

L'application des *Pseudomonas* spp. fluorescents chez les plants de tomate a augmenté les teneurs en chlorophylle totale, en proline et en protéines totales. Ces augmentations sont constatées dès le 4^{ème} jour de bactérisation. Une durée de quatre jours est suffisante pour que les PGPR influencent et exercent leurs effets positifs chez les plants de tomate. Des fluctuations remarquables et une instabilité de l'effet des *pseudomonas* ont caractérisé l'évolution des paramètres physiologique et biochimique durant notre expérimentation. Ces fluctuations notées peuvent être dues aux propriétés génotypiques des souches bactériennes, à leur combinaison, ou encore à leur interaction avec FOL, à l'âge de la plante, la nature du système appliqué (split root ou classique) et les conditions expérimentales non contrôlées (la température et l'humidité).

Les meilleures performances des aspects physiologique et biochimique changent d'une période à une autre. Les teneurs en chlorophylle totale ont montré une meilleure accumulation dans les premiers jours de bactérisation et/ou d'infection. Contrairement aux niveaux en proline et en protéines totales où leurs gains sont relatifs au fil de la bactérisation et de l'infection.

Relativement, les témoins sains et malades ont présenté des teneurs moindres que les plants bactérisés. Le niveau en chlorophylle totale est plus faible chez les plants malades en comparaison avec les plants sains. Par contre, les teneurs en proline et en protéines totales sont élevées chez les témoins positifs par rapport aux témoins négatifs. Dans ce contexte, l'infection de la Mesta par la veineuse mosaïque jaune diminue la teneur en chlorophylle et en protéines solubles totales alors que, les teneurs en proline et en protéines liées à la maladie ont augmenté chez les plantes hôtes (Chatterjee et Ghosh, 2008). Egalement, cette augmentation est enregistrée chez les plants de tomates infectés par *Alternaria solani* et traités avec l'acide salicylique (10⁻⁶ M) (Faheed et al., 2005).

Durant notre expérimentation, la bactérisation avec les PGPR a enregistré des effets notables en bioprotection, qui démontre la capacité des plants de tomate à tolérer la fusariose vasculaire. Des gains marquants en chlorophylle totale, en proline et en protéines totales sont notés. La phytostimulation constatée peut être due à l'amélioration de l'activité photosynthétique. Cette augmentation de l'activité photosynthétique peut avoir un lien possible avec la défense des plantes (Kandasamy et al., 2009). La proline et les protéines totales peuvent être à l'origine de la résistance des plants de tomate à l'agent fongique. Il est à noter les taux importants en proline juste après la bactérisation, qui peuvent être l'indice d'un déséquilibre de l'environnement rhizosphérique. L'application exogène de la proline a montré une stimulation de la croissance et une induction de la résistance systémique chez *Pennisetum glaucum* contre le mildiou causé par *Sclerosporagraminicola*, avec une protection de 58 % sous serre et de 67 % en conditions de terrain (Niranjan et al., 2004).

Les PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes, tout en assurant leur bioprotection. L'application des *pseudomonas* stimule la croissance et la production des plants de tomate. Ces effets sont variables selon les souches bactériennes et les conditions d'application. Le système split root a été utilisé afin d'étudier l'ISR. La comparaison entre les traitements des deux systèmes appliqués montre une supériorité visible des traitements en système split root par rapport au système classique. Cette différence peut être expliquée par la nature de la modification apportée aux racines des plants de tomate en système split root : l'annulation du méristème apical racinaire, qui a favorisé la croissance diamétrale (la rhizogenèse) et donc un système racinaire bien développé assurant une bonne absorption des éléments nutritifs.

Les paramètres liés aux fruits ne peuvent pas transposer une estimation de la production dans nos conditions d'expérimentation, en raison de la nature la culture conduite. Une réalisation en conditions pratique est bien recommandée.

Les rhizobactéries appliquées individuellement ont présenté de bons résultats en bioprotection et en phytostimulation ; la combinaison n'a pas renforcé l'effet individuel des PGPR à l'exception de certains cas. Ce résultat peut être expliqué par le manque de compatibilité entre les deux souches bactériennes appliquées dans nos conditions d'expérimentation. Par contre des travaux récents suggèrent que la combinaison de plusieurs PGPR pourrait être plus efficace que leur application individuelle (Domenech et al., 2006 ; Saravanakumaret al., 2008).

Dans certains paramètres, au niveau des interactions des plants de tomate avec les antagonistes et/ou le pathogène, les performances les plus élevées sont enregistrées surtout avec l'application des souches bactériennes seules sans infection. Globalement, les témoins malades ont enregistré les valeurs les plus faibles par rapport aux plants bactérisés et sains.

Pour expliquer le manque de gains en certaines situations de bactérisation, il faut signaler que l'effet des PGPR est influencé par des facteurs biotiques et abiotiques qui déterminent leurs actions. L'instabilité de l'effet bénéfique des PGPR appliqués peut être expliquée par le fait qu'en conditions non contrôlés plusieurs facteurs interfèrent, créant à chaque interaction un nouvel environnement, qui influence et/ou détermine les aspects fonctionnels des pseudomonas.

Divers facteurs déterminent l'action des PGPR, notamment la composition des exsudats racinaires, les propriétés de la souche bactérienne et les activités des autres microbes du sol (Swarnalee et Appa, 2010). La fertilité des sols, l'humidité, la durée du jour, l'intensité lumineuse, la durée de la saison de croissance et la température se sont des facteurs environnementaux qui influencent l'action des PGPR (Babalola, 2010).

Les exsudats racinaires peuvent attirer une grande variété de micro-organismes, y compris les phytopathogènes (Whipps, 2001). Les plantes jouent un rôle important dans la sélection des bactéries par les constituants de leurs exsudats racinaires. Les communautés bactériennes de la rhizosphère ont un système efficace pour l'absorption et le catabolisme des composés organiques présents dans les rhizodépôts (Barraquio et al., 2000). Ces composés organiques déterminent les interactions plantes-microorganismes en influençant la structure et la fonction des communautés microbiennes du sol (Shi et al., 2011). La formation des biofilms dans la rhizosphère est un facteur essentiel de l'action positive des PGPR ([Seneviratne](#) et al., 2011).

Selon Lamanceau, (1992), pour exercer leurs effets bénéfiques, les pseudomonas doivent rencontrer un environnement favorable à leur survie et à l'expression de leurs potentialités. L'utilisation de ces rhizobactéries fluorescentes afin d'améliorer le rendement des cultures constitue un énorme potentiel, mais les essais au plein champ donnent des résultats contradictoires. Le problème de réussir l'introduction de ces antagonistes bactériens est souvent lié à leur incapacité de recoloniser les racines, ou elles colonisent les racines, mais ne produisent pas les métabolites de lutte biologique dans de nouvelles niches (Parret et De Mot, 2001, 2002). Ainsi, leur incapacité de produire des spores, ce qui complique leur formulation pour une utilisation commerciale (Weller, 2007). Une source de préoccupation majeure est la reproductibilité dans ce domaine en raison de l'interaction complexe et interdépendante entre l'espèce végétale, la bactérie et l'environnement (Babalola, 2010 ; Swarnalee et Appa., 2010).

CONCLUSION GÉNÉRALE ET RECOMMANDATION

Les méthodes de lutte classiques : culturales, génétiques et chimiques vis-à-vis des phytopathogènes présentent des limites et un manque de durabilité. Les PGPR sont utilisés comme une solution alternative ou complémentaire, qui semble assurer une efficacité durable. Induire et renforcer les mécanismes de défense propres d'une plante par l'application de ces agents biologiques est une nouvelle stratégie en matière de gestion indirecte des bioagresseurs. Les PGPR peuvent contrôler les maladies des cultures par leurs actions directes sur les phytopathogènes, en produisant des métabolites secondaires, antimicrobiens et/ou d'enzymes hydrolytiques et/ou par compétition trophique.

Notre étude réalisée avec deux souches des *Pseudomonas* spp. fluorescents (C7R12 et DS131) a montré leur potentiel en biocontrôle et en induction de la résistance systémique vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*).

Le test d'antagonisme *in vitro* a révélé des taux appréciables en réduction de la croissance mycélienne de FOL, notamment la souche C7R12 sur les milieux King B et mixte (King B + PDA). Les activités antagonistes enregistrées sur le milieu King B peuvent être attribuées au processus de synthèse des siderophores. En revanche, les deux autres milieux (PDA et mixte), ne favorisant pas la synthèse des siderophores, les actions obtenues sur ces milieux, suggérant l'implication de d'autres mécanismes d'action, en particulier l'antibiose et le parasitisme.

Les essais *in situ* montrent que l'apport des souches bactériennes retarde l'apparition et l'évolution des symptômes et réduit intensément la cinétique d'évolution de la fusariose vasculaire. Cette bioprotection s'est exprimée en réduisant le processus infectieux, fortement quantitativement plutôt que qualitativement. L'aspect qualitatif est marqué par une réduction du nombre de plants malades qui ne dépasse pas 36 %. L'aspect quantitatif a été présenté à travers la réduction de l'indice de McKinney et la gravité symptomatologique, avec des taux allant jusqu'à 71,88 %. Les meilleures performances de bioprotection sont obtenues en système split root, avec les actions bio-inhibitrices de la souche C7R12, qui a provoqué une régression de 35,83 % de l'infection et de 71,88 % pour la sévérité de cette trachémycose. Par ailleurs, il a été noté des taux moindres en système classique, la meilleure réduction de l'infection est enregistrée avec C7R12 et la combinaison des deux antagonistes (12,64 % à 16,67 %). Pour la réduction de la sévérité, le résultat marquant est obtenu avec la combinaison des deux *Pseudomonas* (50,34 %).

L'application des rhizobactéries bénéfiques comme agent de biocontrôle et inducteur de la défense naturelle chez les plants de tomate a engendré des gains notables, en phytostimulation et en bioprotection, par l'augmentation significative des taux en pigments chlorophylliens, en proline et en protéines totales, ainsi que des paramètres de croissance et de biomasse par rapport aux témoins sains et malades.

Étant donné que la réussite d'application de ces rhizobactéries est conditionnée par leur capacité de colonisation rhizosphérique. L'essai de la vérification de la viabilité et la dynamique des *Pseudomonas* et de FOL montre leur présence et l'évolution de leur

concentration, notamment la souche C7R12 dans le sol rhizosphérique. En comparaison avec les inoculums initiaux bactériens (10^8 cfu/ml) et fongique (10^6 conidies/ml), les concentrations finales sont respectivement de $3,67 \times 10^6$ cfu/ml à 2×10^{12} cfu/ml et de $1,15 \times 10^7$.

Pseudomonas spp. fluorescents présentent de nombreux avantages pour une utilisation à grande échelle. Ils peuvent établir une reconnaissance et coloniser divers génotypes végétaux, ces actions sont justifiées par leurs capacités adaptatives et évolutives. De plus, les nombreuses connaissances acquises sur leur génétique, leur physiologie et leur formulation commerciale peuvent ouvrir les voies vers des préparations commerciales à l'échelle pratique.

La gestion des maladies des cultures par l'application des PGPR dépend de la reconnaissance et du dialogue moléculaire qui s'établira entre le végétal, les PGPR et l'agresseur. Des études sur la relation entre les racines et le microbiote sont essentielles pour comprendre et maîtriser les interactions au niveau de la rhizosphère, l'origine de la stimulation des capacités défensives, afin d'atteindre des pratiques efficaces et une agriculture durable.

Des connaissances approfondies sur les potentialités des PGPR et une compréhension précise des mécanismes d'action sont bien exigées, pour améliorer l'efficacité pratique des rhizobactéries, obtenir de meilleures performances écologiques et pour éviter des échecs éventuels. Pour cela, il est indispensable de sélectionner des souches 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. Grâce à de nombreuses recherches menées, les stimulateurs des défenses naturelles des plantes est l'une de nouvelles stratégies phytosanitaires plus respectueuses de l'environnement. Identifier les éliciteurs et les signaux activant la résistance naturelle, constitue une solution intéressante sur les plans scientifique et agronomique, qui pourrait bien être une solution d'avenir.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarons S., Abbas A., Adams C., Fenton A. and O'gara F., 2000. A Regulatory RNA (PrrB RNA) Modulates Expression of Secondary Metabolite Genes in *Pseudomonas fluorescens* F113. *Journal of bacteriology*, 182, (14), pp 3913-3919.
- Abdel-Salam M.S., Abd El-Halim M.M. and El-Hamshary O.I.M., 2007. Improvement of *Pseudomonas* antagonism against *Fusarium Oxysporium* through protoplast fusion: I-fusants induction. *Research Journal of Cell and Molecular Biology*, 1, (1), pp 37-41.
- Aboul-Soud M A M., Yun B-W, Harrier L A., and Loake G.J., 2003. Transformation of *Fusarium oxysporum* by particle bombardment and characterisation of the resulting transformants expressing a GFP transgene. *Mycopathologia*, 00, pp 1-8.
- Agrios G.N., 2005. *Plant Pathology*. Elsevier Academic Press, Department of Plant Pathology University of Florida, 635 p.
- Ahn I.P., Lee S-W., and Suh S.C., 2007. Rhizobacteria-induced priming in *Arabidopsis* is dependent on ethylene, jasmonic acid, and *NPR1*, 20, (7). pp 759-768.
- Alabouvette C., 1986. *Fusarium* wilt suppressive soils from the châteaurenard region: review of 10 year study. *Agronomie*, 6, pp 273-284.
- Alabouvette C., 1999. *Fusarium* wilt suppressive soils: An example of disease suppressive soils. *Aust J. Plant pathol.* 28: 57-64.
- Alit-Susanta W., Gusti N. and Takikawa Y., 2006. Analysis of the *gacS-gacA* regulatory genes of spontaneous mutants of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain PfG32R. *J Gen Plant Pathol*, 72, pp 159-167.
- Alka G., Murali G., 2008. Siderophore production by plant growth promoting rhizobacteria. *Indian Journal of Agricultural Research*, 42, (2), pp 153-156.
- Almagro L., Gomez R.L.V., Belchi-Navarro S., Bru R., Ros B.A., and Pedreno M.A., 2009. Class III peroxidases in plant defence reactions. *Journal of Experimental Botany*, 60, (2), pp 377-390.
- Alström S., 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere *Pseudomonas*. *J. Gen. Appl. Microbiol*, 37, pp 495-501.
- Amini J., Sidovich D.F., 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with fusarium wilt of tomato. *Journal of plant protection research*, 50, (2), pp 172-173.
- Anderson A.J., Habibadegah-Tari P. and Tepper C.S., 1988 Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*. *Applied & Environmental Microbiology*, 54, pp 375-380.
- Antoun H., Prevost D., 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui Z.A. (Ed), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, 313 p.

- Apel K., Hirt H., 2004. Reactive Oxygen Species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, pp 373-399.
- Arkhipova T.N., Veselov S.U., Melantiev A.I., Marty N.E.V., Kudoyerova G.R., 2005. Ability of bacterium *Bacillus* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272, pp 201-209.
- Arnason J.T. and Bernard M.A., 2010. Impact of constitutive plant natural products on herbivores and pathogens *Can. J. Zool.*, 88, pp 615-627.
- Arora N.K., Kang S.C. and Maheshwari D.K., 2001. Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Current Science*, 81, (6), 25 p.
- Ashry N.A. and Mohamed H.I., 2011. Impact of Secondary Metabolites and Related Enzymes in Flax Resistance and or Susceptibility to Powdery Mildew. *World Journal of Agricultural Sciences* 7 (1), pp 78-85.
- Aslantas R., Cakmakci R., Sahin F. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apples trees growth and fruit yield under orchard conditions. *SCI HORT.*, 111 (4), pp 371-377.
- Ausubel F.M., 2005. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nat Immunol*, 6 (10), pp 973-979.
- Babalola O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett*, 32, (11), pp 1559-1570.
- Bakker P.A.H.M., Ran L.X., Pieterse C.M.J. and Van Loon L.C., 2003. Understanding the involvement of rhizobacteria mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases. *Can. J. Plant Pathol*, 25, pp 5-9.
- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., and Van Loon L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 (2), 239-243.
- Baluska F. and Ninkovic V., 2010. *Plant Communication from an Ecological Perspective*. Springer, Germany, 252 p.
- Barazani O.Z. and Friedman J., 1999. Allelopathic bacteria and their impact on higher plants. *Crit. Rev. Plant Sci*, 18 (6), pp 741-755.
- Barraquio W.L., Segubre EM, Gonzalez M A S, Verma S, James EK, Ladha J.K and Tripathi AK 2000 Diazotrophic entrobacteria: what is their role in the rhizosphere of rice? in *The quest for nitrogen fixation in rice*(eds) J K Ladha and PM Reddy (Los Banos: IRRI) pp 93-118.
- Barriuso J., Pereyra M.T., García J.A.L., Megías M., Mañero F.J.G., Ramos B., 2005. Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis *Lactarius deliciosus-Pinus* sp. *Microbial Ecolo.* 50 (1), pp 82-89.
- Baset M.M.A., Shamsuddin Z.H., Wahab Z. and Marziah M., 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen incorporation of tissue-cultured *Musa* plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. *Australian Journal of Crop Sience*, 4 (2), 85-90.
- Bashan Y., De-Bashan L.E., 2005. Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: a critical examination. *Soil Biology & Biochemistry*, 37, pp 1795-1804.

- Baudry C., Brézellec H., 2006. Microbiologie-Immunologie: Cahiers du Préparateur. Porphyre (2ème édition), France, 126 p.
- Bavaresco L., Fogher C., 1996. Lime-chlorosis occurrence and leaf mineral composition of grapevine treated by root microorganisms. [Journal of plant nutrition](#) , 19 (1), pp 87-98.
- Beckers G.J.M. and Conrath U., 2007. Priming for stress resistance: From the lab to the field. *Current Opinion in Plant Biology*, 10, pp 425-431.
- Benhamou N., Gagne S., Quere D.L and Dehbi L., 2000 Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 90, pp 45- 56.
- Berrocal-Lobo M. and Molina A., 2007.** *Arabidopsis* defense response against *Fusarium oxysporum*. *Trends in Plant Science*, [13, \(3\)](#) , pp145-150.
- Benchabane M., Bakour R., Toua D., Boutekrabt A., 2000. Mise en évidence de l'effet antagoniste de ***Pseudomonas fluorescens*** vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *EPPO Bulletin*, 30 (2), pp 243-246.
- Blanchard A. et Limache F., Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN), 2005. Rapport bibliographique. ENSAM, ENSAR et INA P-G.13 p.
- [Blancard D.](#), Laterrot H., Marchoux G., Candresse T., 2009. Les maladies de la tomate: Identifier, connaître, maîtriser. Quae, Paris, 690 p.
- Bloemberg G.V., Wijfjes, A.H.M., Lamers, G.E.M., Stuurman N. and Lugtenberg B.J.J., 2000. Simultaneous imaging of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 populations expressing three different autofluorescent proteins in the rhizosphere: new perspectives for studying microbial communities. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13, pp 1170-1176. In Haas and Défago, 2005.
- Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J.J., 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, pp 343-350.
- Blumer C., Heeb S., Pessi G. and Haas D., 1999. Global GacA-steered control of cyanide and exoprotease production in *Pseudomonas fluorescens* involves specific ribosome binding sites. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA.*1999, 96, pp 14073-14078.
- Bowles D.J., 1990, Defense related proteins in higher plants. *Annu. Rev. Biochem.*, 59, pp 873-907.
- Bolwell G.P., Gerrish C., Salaun J.P., 1997. Changes in enzymes involved in suberization in elicitor treated French bean cells. *Photochemistry*, 45, pp 1351-1357.
- Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner Sarah L., Gerrish Chris and Minibayeva Farida, 2002. The apoplastic oxidative burst in response biotic stress in plants: A three component system. *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), pp 1367-1376.
- Bordiec S., Paquis S., Lacroix H., Dhondt S., Ait Barka E., Kauffmann S., Jeandet P., Mazeyrat-Gourbeyre F., Clément C., Baillieux F., Dorey S., 2010. Comparative analysis of defence responses induced by the endophytic plant growth-promoting rhizobacterium *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN and the non-host bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in grapevine cell suspensions. *J Exp Bot.*

- Bordjiba O., 2009. Effet de Trois Pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluazifop-p-butyl) sur quelques Métabolites Physio-Biochimiques du Blé dur : *Triticum durum*. Desf. European Journal of Scientific Research. 36 (2), pp 260-268.
- Boumediene Y., 1991. La fusariose vasculaire de la tomate : caractérisation de deux isolats de *Fusarium oxysporum* (sacc) sn. et Hans. F. sp. *lycopercisi* et étude du comportement de dix variétés de tomate. Mémoire Ingénieur Agronome, Blida, 72 Pages
- Bouziani M., 2007. L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de la médecine et de la santé. Santémaghreb
- Bradley G.G., Punja Z.K., 2010. Composts containing fluorescent pseudomonads suppress *Fusarium* root and stem rot development on greenhouse cucumber. Canadian Journal of Microbiology, 56 (11), pp 896-905.
- Brodhagen M., Henkels M.D. and Loper J.E., 2004. Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. Appl. Environ. Microbiol, 70, pp 1758-1766.
- Brooks B.E., Buchanan S.K., 2008. Signaling mechanisms for activation of extracytoplasmic function (ECF) sigma factors. Biochimica and Biophysica Acta, 1778, pp 1930-1945.
- Browne P., Rice O., Miller H., Burke J., Dowling D N., Morrissey J.P. ' and O'Gara F., 2009.** Superior inorganic phosphate solubilization is linked to phylogeny within the *Pseudomonas fluorescens* complex. [Applied Soil Ecology](#) , 43 (1), pp 131-138.
- Bruce T.J.A., Matthes M.C., Napier Johnathan A., Pickett J.A., 2007. Stressful "memories" of plants: Evidence and possible mechanisms. Plant Science, 173, pp 603-608.
- Bruce T.J.A. and Pickett J.A., 2007. Plant defence signalling induced by biotic attacks. Current Opinion in Plant Biology, 10, pp 387-392.
- Bulit J., Louvet J., Bouhot D., Toutain G., 1967. Travaux sur le Bayoud, fusariose du Palmier dattier en Afrique du Nord. Ann, Epiphyties, 18, pp 213-239.
- Caballero-Mellado J., Martínez-Aguilar L., Paredes-Valdez G., and Estrada-de L.S.P., 2004. *Burkholderia unamae* sp nov. a N2-fixing rhizospheric and endophytic species, Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 54, pp 1165-1172.
- Cal A.D.E, Pascual S., Larena I., Melgarejo P., 1995. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Plant Pathology, 44 (5), pp 909-917.
- Campbell D., Grastons J., Hirst D.J., 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. Journal of microbiological methods, 30 (1), pp 33-41.
- Cao H., Bowling S.A., Gordon A.S., Dong X., 1994. Characterization of an *Arabidopsis* mutant that is nonresponsive to inducers of systemic acquired resistance. The Plant Cell, pp 1583-1592.
- Cazorla F.M., Duckett S.B., Bergström E.T., Noreen S., Odijk R., Lugtenberg B.J.J., Thomas-Oates J.E. and Bloemberg Guido V., 2006. Biocontrol of Avocado Dematophora Root Rot by Antagonistic *Pseudomonas fluorescens* PCL1606

- correlates with the Production of 2-Hexyl 5-Propyl Resorcinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19, (4), pp 418-428.
- Cecchini N.M., Monteoliva M.I. and Alvarez M.E. 2011. Proline Dehydrogenase Contributes to Pathogen Defense in *Arabidopsis*, 155, pp 1947-1959.
- Chaiyawat P., Boonchitsirikul C. and Lomthaisong K.S., 2008. An investigation of a defensive chitinase against *Fusarium oxysporum* in pepper leaf tissue. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 2, (1), pp 150-158.
- Chatterjee A., Ghosh S.K., 2008. Alterations in biochemical components in mesta plants infected with yellow vein mosaic disease. *Braz. J. Plant Physiol.*, 20, (4). pp 267-275.
- Chen C., Bélanger R.R., Benhamou N. and Paulitz T., 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol*, 56, pp 13-23.
- Chin-A-Woeng T.F.C., de Priester W., van der Bij A. & Lugtenberg B.J.J., 1997. Description of the colonization of a gnotobiotic tomato rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain WCS365, using scanning electron microscopy. *Mol. Plant Microbe Interact.* 10, pp 79-86.
- Chin-A-Woeng T.F.C., Bloemberg G.V., Mulders I.H.M., Dekkers L.C. and Ben J.J., 2000. Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 13: 1340-1345.
- Chisholm S.T., Coaker G., Day B. and Staskawicz B. J., 2006. Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response. *Cell*, 124, 4, pp 803-814.
- Choudhary D.K. and Johri B.N., 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164, (5), pp 493-513.
- Choudhary D.K., Prakash A., Wray V., and Johri B.N., 2009. Insights of the fluorescent pseudomonads in plant growth regulation. *Current Science*, 97, (2), pp170-179.
- Christian A. and Somerville S.C., 2009.** Callose in Biotic Stress (Pathogenesis): Biology, biochemistry and molecular biology of callose in plant defence: Callose deposition and turnover in plant–pathogen interactions. [Chemistry, Biochemistry, and Biology of 1-3 Beta Glucans and Related Polysaccharides](#) , pp. 525-562
- Colin J.E., 1988. Antagonisme entre les *Pseudomonas* fluorescents et plusieurs pathovars de *Pseudomonas syringae*. Application comme méthode de lutte contre la moucheture bactérienne de la tomate. *EPPO Bulletin*, 18, (1), pp 47-54.
- Conrath U., Pieterse C.M.J. and Mauch-Mani B., 2002. Priming in plant–pathogen interactions. *TRENDS in Plant Science*, 7 (5), pp 210-216.
- Cook, R.J., 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, pp 53-80.
- Cook R.J., 2007. Management of resident plant growth-promoting rhizobacteria with the cropping system: A review of experience in the US Pacific Northwest. *European journal of plant pathology*, 119, (3), pp 255-264.
- Corbaz R., 1981. Vingt ans de lutte contre le mildiou du tabac (*Peronospora tabacina*) en Suisse. *Annales du tabac*, 17, pp 65-72.

- Corbaz R., 1990. Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaire romandes (première édition), Lausanne, Suisse. 286 p.
- Corbell N.A., Loper J.E., 1995. A global regulator of secondary metabolite production in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *J Bacteriol*, 177, pp 6230-6236.
- Couillerot O., Prigent-Combaret C., Caballero-Mellado J., Moëne-Loccoz Y., 2009. *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens *Letters in Applied Microbiology*, 48, (5), pp 505-512.
- Cornelis P., 2008. The 'core' and 'accessory' regulons of *Pseudomonas*-specific extracytoplasmic sigma factors. *Molecular Microbiology*, 68(4), pp 810-812.
- [Cranshaw W.](#), 1998. *Pests of the West: Prevention and Control for Today's Garden and Small*. Copyright (2), Canada, 248 p.
- Csonka L.N., 1988. Regulation of cytoplasmic proline levels in *Salmonella typhimurium*: Effect of osmotic stress on synthesis, degradation, and cellular retention of proline. *J. Bacteriol*, 170, pp 2374-2380.
- Cvetkovska M., Rampitsch C., Bykova N. and Xing T., 2005. Genomic Analysis of MAP Kinase Cascades in *Arabidopsis* Defense Responses. *Plant Molecular Biology Reporter*, 23, pp 331-343.
- De Coste N.J., Gadkar V.J. and Filion M., 2010. *Verticillium dahliae* alters *Pseudomonas* spp. populations and HCN gene expression in the rhizosphere of strawberry. *Canadian Journal of Microbiology*, 56 (11), pp 906-915.
- Dekkers L.C., Van der B.A.J., Mulders I.H.M., Phoelich C.C., Wentwoord R.A.R., Glandorf D.C.M., Wijffelman C.A., and Lugtenberg B.J.J., 1998. Role of the o-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH: Ubiquinone oxidoreductase (nuo) in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, (8), pp 763-771.
- Delany I.R., 1999. Genetic analysis of the production of the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol by the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113. Ph.D. thesis. National University of Ireland, Cork, Ireland.
- Delany I.R., Sheehan M.M., Fenton A, Bardin S., Aarons S., O'Gara F., 2000. Regulation of production of the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Pseudomonas fluorescens* F113: genetic analysis of phlF as a transcriptional repressor. *Microbiology*, 146, pp 537-546.
- [Delany I](#) , [Spohn G](#) , [Rappuoli R](#) , [Scarlatto V](#) ., 2001. The Fur repressor controls transcription of iron-activated and -repressed genes in *Helicobacter pylori*. [Mol Microbiol.](#) , 42 (5), pp 1297-309.
- De Ley J., and De Vos P., 1984. Biological and clinical: The genus *Pseudomonas*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 50, pp 281-303.
- De Lorenzo V., Giovannini F., Herrero M., and Neilands J. B., 1988. Metalion regulation of gene expression. Fur repressor-operator interaction at the promoter region of the aerobactin system of pColV-K30. *J. Mol. Biol.* 203, pp 875-884.
- Denton B., 2007. Advances in Phytoremediation of Heavy Metals Using Plant Growth Promoting Bacteria and Fungi. *Basic Biotechnology*, 3, pp 1-5.

- Derylo M. and Skorupska A., 1993. Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. *Plant and Soil*, 154, pp 211-217.
- De Weger L.A., Schippers B., and Lugtenberg B., 1987. In Winkelmann G., Van der Helm D. and Neilands J.B. (eds), Iron Transport in Microbes. Plants and Animals. V.C.H. Weinheim, pp. 387-400.
- Diby P., Saju K.A., Jisha J.P., Sarma Y.R., Kumar A., Anandaraj M., 2005a. Mycolytic Enzymes Produced by Trichoderma and *Pseudomonas fluorescens* spp. Against *Phytophthora capsici*, foot rot pathogen of the black pepper (*Piper nigrum* L.). *Annals of Microbiology*, 55, (2), pp 129-133.
- Diby P., Sarma Y.R., Srinivasan V. and Anandaraj M., 2005b. *Pseudomonas fluorescens* mediated vigour in Black pepper (*Piper nigrum* L.) under green house cultivation. *Annals of Microbiology*, 55, (3), pp 171-174.
- Ding C.K., Wang C.Y., Gross K.C., Smith D.L., 2001. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 214, pp 895-901.
- Djibaoui R. and Bensoltane A., 2005. Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*, *African Journal of Biotechnology*. 4, pp 697-702.
- Dong X., 2004. NPR1, all things considered. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 7, pp 547-552.
- Dunne C., Delany I., Fenton A., Lohrke S., Moenne-Loccoz Y., and O'Gara F., 1996. The biotechnology and application of *Pseudomonas* inoculants for the biocontrol of phytopathogens, pp 441-448.
- Durand-Tardif M. and Pelletier G., 2003. Contribution of molecular and cellular biology and genetics to plant protection. *C. R. Biologies*, 326, pp 23-35.
- Durrant W.E. and Dong, X., 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, pp 185-209.
- Degenhardt L., Hall W., Lynskey M., 2003. Testing hypotheses about the relationship between cannabis use and psychosis *Drug and Alcohol Dependence* 71, pp 37-48.
- Domenech J., Reddy M.S., Kloepper J.W., Ramos B., and Gutierrez-Manero J., 2006. Combined application of the biological product LS21 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *BioControl*, 51, pp 245-258.
- Dutta S., Mishra A.K., Dileep Kumar B.S., 2008. Induction of systemic resistance against fusarial wilt in pigeon pea through interaction of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, pp 452-461.
- Duyvesteijn R.G.E., Wijk R.V., Boer Y., Rep M., Cornelissen B.J.C, and Haring M.A., 2005. Frp1 is a *Fusarium oxysporum* F-box protein required for pathogenicity on tomato *Molecular Microbiology*, 57, (4), pp 1051-1063.
- Edreva A., 2005. Pathogenesis-related proteins: research Progress in the last 15 years. *gen. Appl. Plant physiology*, 31, (1-2), pp 105-124.
- Egusa M., Akamatsu H., Tsuge T., Otani H., Kodama M., 2009. Induced resistance in tomato plants to the toxin-dependent necrotrophic pathogen *Alternaria alternata*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 73, pp 67-77.

- El Guilli M., Achbani E., Fahad K., Jijakli H., 2009. Les biopesticides: Alternatives à la Lutte Chimique? Symposium international (AGDUME), Agriculture durable en région Méditerranéenne Rabat, Maroc, pp 266-280.
- El Harti A. et Raouane M., 2009. Détermination de la région d'excrétion des substances rhizogènes chez *Lumbricus terrestris* L. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 13 (1), pp 85-92.
- [Elias K.S.](#) , [Schneider R.W.](#) , 1991. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. [Phytopathology](#) , 81, (2), pp 159-162.
- Elias K.S., Zamir D., Lichtman-Pleban T., and Katan T., 1993. Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Restriction fragment length polymorphisms provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. Mol. Plant-Microbe Interact. 6, pp 565-572.
- Elvira M.I., Galdeano M.M., Gilardi P., Garcia-Luque I. and Serra M.T., 2008. Proteomic analysis of pathogenesis-related proteins (PRs) induced by compatible and incompatible interactions of pepper mild mottle virus (PMMoV) in *Capsicum chinense* L3 plants. Experimental Botany, 59, (6), pp 1253-1265.
- Eparvier A., Lemanceau P., Alabouvette C., 1991. Population dynamics of non-pathogenic *Fusarium* and fluorescent *Pseudomonas* strains in rockwool, a substratum for soilless culture. FEMS Microbiol Ecol, 86, pp 177-184.
- Etebarian H.R., 1992. Studies of *Fusarium* wilt of tomato and its chemical control in Varamin area. Iranian Journal of Agricultural sciences, 23, pp 1-14.
- Etebarian H.R., Sholberg P.L., Eastwell K.C. and Sayler R.J., 2005 .Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens* Can. J. Microbiol. 51, pp 591-598.
- Eyquem [A.](#) , Alouf J., Montagnier [L.](#) , 2000. Traité de microbiologie clinique: Deuxièmes mises à jour et compléments. Piccin Nuova Libreria, Italie, 238 p.
- Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados I., and Alvarez M.E., 2004. Proline accumulation and ATPCS2 gene activation are induced by plant pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. American Phytopath. Soc., 17, pp 343-50.
- Faheed F.A., Abd-elaah G.A. and Mazen A., 2005. Alleviation of disease effect on tomato plants by heat shock and salicylic acid infected with *Alternaria solani*. International Journal of Agriculture and Biology, 7 (5), pp 783-789.
- Fallahzadeh-Mamaghani V., Ahmadzadeh M. and Sharifi R., 2009. Screening systemic resistance inducing fluorescent pseudomonads for control of bacterial blight of cotton Caused By *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. Journal of plant pathology, 91, (3), pp 663-670.
- Farhan H.N., Abdullah B.H. and Hameed A.T., 2010. The biological activity of bacterial vaccine of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* isolates to protect sesame crop (*Sesamum indicum*) from *Fusarium* fungi under field conditions. Agriculture And Biology Journal of North America, 2010, 1 (5), pp 803-811.
- Fernando W.G., Dilantha N.S. and Zhang Y., 2005. Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases. In Siddiqui Z.A., (ed) PGPR: Biocontrol and biofertilization. Springer, Netherlands, 313 p.

- Fischer S.E, Fischer S.I, Magris S., Mori G., 2007. Isolation and characterization of bacteria from rhizosphere wheat. *World J Microbiol Biotechnol*, 23, pp 895-903.
- Fischer S.E. Jofre E.C., Cordero P.V., Gutierrez M.F.J., Mori G.B., 2010. Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi. *Antonie van Leeuwenhoek*, 97, pp 241-251.
- Flors C., Nonell S., 2006. Light and singlet oxygen in plant defense against pathogens: phototoxic phenalenone phytoalexins. *Acc Chem Res.*, 39, (5), pp 293-300.
- Flor H.H., 1971. Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9, pp 275-296.
- Francis F.G., 1970. Anthocyanins in pear Hote, 5, 42 p.
- Fravel D., Olivain C., and Alabouvette C., 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*, 157, pp 493-502.
- Friedrich L., Lawton K., Dietrich R., Willits M., Cade R., Ryals J., 2001. NIM1 overexpression in *Arabidopsis* potentiates plant disease resistance and results in enhanced effectiveness of fungicides. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14, pp 1114-1124.
- Frindlender M., Inbar J. and Chet I., 1993 Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3-glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* 25, pp 1211-1221.
- 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.
- Fuchs J.G., Moëne-Loccoz Y., and Défago G., 1997. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* Wilt in tomato. *Plant Disease*, 81, (5), pp 492-496.
- Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J., 1993 Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science*, 261, pp 754-756.
- Gagnb S., Dehbi L., Le Qéré D., Cayer F., Morin J.L., 1993. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. *Soil.Biol.Biochem*, 25, (2), pp 269-212.
- Gandia-Herrero F., Jimenez-Atienzar M., Cabanes J., Garcia-Carmona F., Escribano J., 2005. Differential activation of a latent polyphenol oxidase mediated by sodium dodecyl sulfate. *J Agric Food Chem*, 53, pp 6825-6830.
- Gauissou T., Baâ A.M., Gbuinko S., Duponnois R., PlenchetteC., 1998. Influence des phosphates naturels et des mycorhizes à vésicules et à arbuscules sur la croissance et la nutrition minérale de *Zizyphus mauritiana* Lam. dans un sol à pH alcalin. *Ann. Sci.For.*, 55, pp 925-931.
- Georgakopoulos D., Hendson M., Panopoulos N.J., and Schroth M. N., 1994, Cloning of a phenazine biosynthetic locus of *Pseudomonas aureofaciens* PGS12 and analysis of its expression in vitro with the ice nucleation reporter gene. *Appl. Environ. Microbiol*, 60, pp 2931-2938.

- Girard G., Van Rij E.T, Lugtenberg B.J and Bloemberg G.V., 2006. Regulatory roles of *psrA* and *rpoS* in phenazine-1- carboxamide synthesis by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391. *Microbiology* 152, pp 43-58.
- Glick B.R., Patten C.L., Holguin G. and Penrose D. M. (Eds.), 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK, 270 p.
- Goellner K. and Conrath U., 2008. Priming: It's all the world to induced disease resistance. *Eur J Plant Pathol*, 121, pp 233-242.
- Göhre V., Robatzek S., 2008. Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annu Rev Phytopathol*, 46, pp 189-215.
- Goicoechea N., Aguirreolea J., Cenoz S., and Garcia-Mina J.M., 2000. *Verticillium dahliae* modifies the concentrations of proline, soluble sugars, starch, soluble protein and abscisic acid in pepper plants. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 106, pp 19-25.
- Gomez-Ariza J., Campo S., Rufat M., Estopa M., Messeguer J., San Segundo B., Coca Maria, 2007. Sucrose-mediated priming of plant defense responses and broad-spectrum disease resistance by overexpression of the maize pathogenesis-related PRms protein in rice plants. *Molecular plant-microbe interactions*, 20 (7), pp 832-842.
- Gómez-Gómez L., Felix G. and Boller T., 1999. A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 18, pp 277-284.
- Gravel V., Antoun H., Tweddell R.I.J., 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology & Biochemistry*, 39, pp 1968-1977.
- Gray E.J., and Smith D.L., 2004. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. 37 (3), pp 395-412.
- Gust A.A., Brunner F. and Nurnberger T., 2010. Biotechnological concepts for improving plant innate immunity. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, pp 204-210.
- Gutierrez-Manero F.J., Ramos B., Probanza A., Mehouchi J., Talon M., 2001. The plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberelins. *Physiol Plant*, 111, pp 206-211.
- Haas D., Keel C. and Reimann C., 2002. Signal transduction in plant-beneficial rhizobacteria with biocontrol properties. *Antonie van Leeuwenhoek* 81, pp 385-395.
- Haas D., Défago G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Review of Microbiology*, 3, pp 307-319.
- Hameed A. T. and Farhan H.N., 2007. Effect of *Pseudomonas aureofaciens* and *Pseudomonas putida* on growth of sorghum biocolor and protect them from infection of *Rhizoctonia solani* fungi. *Al-Anbar University Journal for Pure Science*. 1(3), pp 8-16.
- Hancock J.T., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D. and Neill Steven J., 2002. Cell signalling following plant/pathogen interactions involves the generation of reactive oxygen and reactive nitrogen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, (6-8), pp 611-617.

- Hare P.D. and Cress W.A., 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21, pp 79-102.
- Hase S., Van Pelt J.A., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J., 2003. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas fluorescens* primes the plant to produce higher levels of ethylene upon pathogen infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62, pp 219-226.
- Hassan K.A., Johnson A., Shaffer B.T, Ren Q., Kidarsa Teresa A. Elbourne Liam D. H., Hartney Sierra, Duboy Robert, Goebel Neal C., Zabriskie T. M., Paulsen I.T., Loper J.E., 2010. Inactivation of the GacA response regulator in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 has far-reaching transcriptomic consequences. *Environmental Microbiology*, 12, (4): 899-915.
- Heeb S. and Haas D., 2001. Regulatory roles of the GacS/GacA two component system in plant-associated and other gram-negative bacteria. *Mol.Plant.Microbe Interact*, 14, pp 1351-1363.
- Heil M. and Bostock R.M., 2002. Induced Systemic Resistance (ISR) Against Pathogens in the Context of Induced Plant Defences. *Oxford Journals*, 89, (5), pp 503-512.
- Heil M. and Walters D.R., 2009.** Ecological consequences of plant defence signalling. [Advances in botanical research](#) , 51 , pp 667-716.
- Heimann J.D., 2003. The extracytoplasmic function (ECF) sigma factors. [Advances in Microbial Physiology](#) , 46 , pp 47-110.
- Hoffland E., Hakulinen J., Van Pelt J.A., 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. *Phytopathology*, 86, (7), pp 757-762.
- Holub E.B. and Cooper A., 2004. Matrix, reinvention in plants: how genetics is unveiling secrets of non-host disease resistance. *Trends in Plant Science*, 9, (5), pp 211-241.
- Hopkins [W.G.](#) , 2003. *Physiologie végétale*. De Boeck Université (2ème édition), Bruxelles, pp 467-479.
- Howell C.R., Bell A.A., Stipanovic R.D., 1976. Effect of aging on flavonoid content and resistance of cotton leaves to *Verticillium* wilt. *Physiol. Plant Pathol.* 8, pp 181-188.
- Hunt M.C., Pettis G.S., and McIntosh M.A., 1994. Promoter and operator determinants for Fur-mediated iron regulation in the bidirectional *fepA-fes* control region of the *Escherichia coli* enterobactin gene system. *J. Bacteriol.* 176, pp 3944-3955.
- Hussain J., Khan A.L., Rehman N., Hamayun M., Shah T., Nisar, Bano T., Shinwari Z.K., Lee I.J., 2009. Proximate and nutrient analysis of selected vegetable species: A case study of Karak Region Pakistan. *Afr. J. Biotechnol.* 8, (12), pp 2725-2729.
- Iavicoli A., Boutet E., Buchala A. and Metraux J.P., 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Mol. Plant-Microbe Interactions*, 16, pp 851-858.
- Idris E.E.; Iglesias D.J., Talon M., Borriss R., 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-Acetic Acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Mol.Plant-Microbe Interact*, 20, (6), pp 619-626.

- Ingle R.A., Carstens M., Denby K.J., 2006. PAMP recognition and the plant-pathogen arms race. *BioEssays*, **28**, (9), pp 880-889.
- Inoue I., Namiki F., and Tsuge T., 2002. Plant Colonization by the Vascular Wilt Fungus *Fusarium oxysporum* Requires *FOW1*, a Gene Encoding a Mitochondrial Protein. *The Plant Cell*, **14**, pp 1869-1883.
- Iqbal A., John P. and Shamsul H., 2008. Plant-Bacteria Interactions. Copyright, Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 310 p.
- Ippolito A., 2010. Dannosità delle malattie, lecture presentation, [Universita' degli Studi di Bari](#), 18p.
- Jabs T., [Tschöpe](#) M., [Colling](#) C., [Hahlbrock](#) K. and [Scheel](#) D., 1997. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂[#] from the oxidative burst are essential components , phytoalexin synthesis in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , **94**, pp 4800-4805.
- Jacques P., Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Thonart P., 1993. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier Agriculture*, **2**, pp 301-307.
- Jacobsen C.S., 1997. Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* DBO1 (pRO101) in 2,4-D contaminated soil. *Plant Soil*, **189**, pp 139-144.
- Jaizme-Vega M.D., Carmen R.R., Ana S., and Guerra M., Sol P., 2004. Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated bananas. *CIRAD, EDP Sciences*, **59**, pp 83-90.
- Jakab G., Cottier V., Toquin V., Rigoli G., Zimmerli L., Métraux J-P., Mauch-Mani B. 2001-Aminobutyric acid-induced resistance in plants. *Eur. J. Plant Pathol*, **107** (1), pp 29-37.
- Jalloul A., Clerivet A., Nicole M., 2009. La signalisation hormonale dans la résistance des plantes aux bioagresseurs. *Cah Agric*, **18**, (6), pp 493-497.
- James D.W.J., Suslow T.V. and Steiback K.E. 1985 Relation between rapid, firm adhesion and longterm colonization of roots by bacteria. *Applied & Environmental Microbiology* **50**, 393-397.
- Jones C.G., Hare J. D. And. Compton S.J., 1989. Measuring plant protein with the Bradford assay. Evaluation and Standard Method. *Journal of Chemical Ecology*, **15**, (3), pp 979-992.
- Jones J.D., and Dangl J.L., 2006. The plant immune system. *Nature*, **444**, pp 323-329.
- Jonhson J. and Palleroni N.J., 1989. Desoxyribonucleic acid similarities among *Pseudomonas* species. *Int. J. Syst. Bacteriol*, **39**, pp 230-235.
- Jourdan E., Ongena M. et Thonart P., 2008. Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **12**, (4), pp 437-449.
- Kadota [Y.](#) , Goh [T.](#) , Tomatsu [H.](#) , Tamauchi [R.](#) , [Higashi](#) K., Muto [S.](#) and Kuchitsu [K.](#) ,2004. Cryptogein-Induced Initial Events in Tobacco BY-2 Cells:

- Pharmacological Characterization of Molecular Relationship among Cytosolic Ca²⁺ Transients, Anion Efflux and Production of Reactive Oxygen Species. *Plant Cell Physiol.*, 45, (2), pp 160-170.
- Kamilova F, Kravchenko L.V., Shaposhnikov A.I., Makarova N., and Lugtenberg B., 2006. Effects of the Tomato Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and of the Biocontrol Bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the Composition of Organic Acids and Sugars in Tomato Root Exudate. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. MPMI, 19, (10), pp. 1121-1126.
- Kamilova F., Lamers G., Lugtenberg B., 2008. Biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 inhibits germination of *Fusarium oxysporum* spores in tomato root exudate as well as subsequent formation of new spores. *Environmental Microbiology*, [10, \(9\)](#), pp 2455-2461.
- Kandasamy S., Loganathan K, Muthuraj R., Duraisamy S., Seetharaman S., Thiruvengadam R., Ponnusamy B., Ramasamy S., 2009. Understanding the molecular basis of plant growth promotional effect of *Pseudomonas fluorescens* on rice through protein profiling. *Proteome Science*, 7, 47 p.
- Karadeniz A., Topcuoglu S.F., Inan S., 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World. J. Microbiol. Biotech.* 22 (10), pp 1061-1064.
- [Kavanagh](#) K., 2005, *Fungi: Biology and applications*. John Wiley and Sons, England, 267 p.
- Kaymakanova M. and Stoeva N., 2008. Physiological reaction of bean plants (*Phaseolus vulg. L.*) to salt stress. *Gen. Appl. Plant Physiology*, 34 (3-4), pp 177-188.
- Keller L. and Surette M. G. 2006. Communication in bacteria: An ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 4, pp 249-258.
- Kikuyama M., Kuchitsu K., Shibuya N., 1997. Membrane Depolarization Induced by N-Acetylchitooligosaccharide Elicitor in Suspension-Cultured Rice Cells. *Plant Cell Physiol*, 38, (8), pp 902-909.
- King E.O., Ward M.K. and Raney D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J Lab Clin Med.*, 44, 301-307.
- 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.
- Klarzynski O. et Fritig B., 2001.** Stimulation des défenses naturelles des plantes. [Sciences de la Vie](#) , [324, \(10\)](#) , pp 953-963.
- Kloepper J.W. and Schroth M.N., 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. ed. Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie, 2, pp 879-882.
- Kloepper J.W., Leong J., Teintze M. and Schroth M.N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, pp 885-886.
- Kloepper J.W., Ryu C. M., and Zhang, S.A., 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94:1259-1266.

- Knight C.D., Perroud P.F., Cove D.J., Lawton M., Saidasan H., 2009. Pathogenesis in Mosses. Annual Plant Reviews, 36. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781444316070.ch12/summary>
- Köhler J., Hernández J.A., Caravaca F., and Roldán A., 2008. Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. Functional Plant Biology, 35 (2) 141-151.
- Kunkel B.N. and Brooks D.M., 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. Current Opinion in Plant Biology 2002, 5, pp 325-331.
- Ku# J., 1982. Induced immunity to plant disease. Bioscience 32, pp 854-860.
- Kwak Y.S., [Han S](#) ., Thomashow L.S., Rice J.T., [Paulitz T.C.](#) , [Kim D](#) ., Weller D M., 2011. *Saccharomyces cerevisiae* Genome-Wide Mutant Screen for Sensitivity to 2,4-Diacetylphloroglucinol, an Antibiotic Produced by *Pseudomonas fluorescens*. [Applied and environmental microbiology](#) , 77, (5), pp 1770-1776.
- Lamanceau P., 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. Agronomie, 12, pp 413-437.
- Larbaoui A., 2003. Etude des mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de résistance systémique vis à vis des fusarioses vasculaires, Thèse de Magister, Université de Blida, 94 p.
- Larkin R.P. and Fravel D.R., 1998. Efficacy of Various Fungal and Bacterial Biocontrol Organisms for Control of Fusarium Wilt of Tomato. Plant Disease, 82 (9), pp 1022-1028.
- Latha P., Anand T., Ragupathi N., Prakasam V., Samiyappan R., 2009. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. Biological Control, 50, pp 85-93.
- Latour X. et Lamanceau P., 1997. Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive. Agronomie, 17, pp 427-423.
- Lauge R., Joosten M.H.A.J., Haanstra J.P.W., Goodwin P.H., Lindhout P. and De Wit P.J.G.M., 1998. Successful search for a resistance gene in tomato targeted against a virulence factor of a fungal pathogen. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, pp 9014-9018.
- [Lee H](#) ., [Damsz B](#) ., [Woloshuk C.P](#) ., [Bressan R.A](#) ., [Narasimhan ML](#) ., 2010. Use of the plant defense protein osmotin to identify *Fusarium oxysporum* genes that control cell wall properties. [Eukaryot Cell](#) . , 9 (4), pp 558-68.
- Leeman M., Van Pelt J.A., Hendrickx M.J., Scheffer R.J., Bakker, P.A.H.M., and Schippers B. 1995. Biocontrol of Fusarium wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374. Phytopathology 85, 1301-1305.
- Lefrère [J.J](#) ., et Rouger P., 2000. Transfusion sanguine: Une approche sécuritaire. John Libbey Eurotext, France. pp 175-177.
- Leinhos V., 1994. Effects of pH and glucose on auxin production of phosphate-solubilizing rhizobacteria *in vitro*. Microbiological Research, 149, pp 135-138

- Lemanceau P, Bauer P, Kraemer S, Briat J.F. 2009. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant Soil*, 321, pp 513-535.
- Lemanceau P., Alabouvette C., "Suppression of Fusarium wilts by fluorescent Pseudomonads: mechanism and applications", *Biocontrol sciences and Technology*, (1993), 219-234.
- Leong S., Latiffah K.Z. and Baharuddin S., 2009. Molecular Characterization of *Fusarium Oxysporum* f sp. *Cubense* of Banana American Journal of Applied Sciences. 6, (7), pp 1301-1307.
- Léon-Kloosterziel K.M., Verhagen B.W., Keurentjes J.J, VanPelt J.A, Rep M., Van Loon L.C, Pieterse C.M, 2005. Colonization of the *Arabidopsis* rhizosphere by fluorescent *Pseudomonas* spp. activates a root-specific, ethylene-responsive PR-5 gene in the vascular bundle. *Plant Mol Biol.*; 57, (5), pp 731-48.
- Lepoivre P., 2003. *Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*. De Boeck Université, Bruxelles, 432 p.
- Leslie J.F., 1995. *Gibberella fujikuroi*: Available populations and variable traits. *Canad. J. Botany*, 73 (suppl. 1), 282 p
- Liang J.G., Tao R.X., Hao Z.N., Wang L.P. and Zhang X., 2011. Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. *African Journal of Biotechnology*, 10, (36), pp 6920-6927.
- Levine A. , Tenhaken R. , Dixon R. and Lamb C. , 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, [79 \(4\)](#)), pp 583-593.**
- Lipka V., Dittgen J., Bednarek P., Bhat R., Wiermer M., Stein M., Landtag J., Brandt W., Rosahl S., Scheel D., Llorente F., Molina A., Parker J., Somerville S., Liefert P.S., 2005. Pre- and postinvasion defenses both contribute to nonhost resistance in *Arabidopsis*. *Science*, 310: 1180-1183.
- Liu L., Kloepper J.W., and Tuzun S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt By plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 85 (6), pp 695-695.
- Liu X., Williams C.E., Nemacheck J.A., Wang H., Subramanyam S., Zheng C., and Chen M.S., 2010. Reactive Oxygen Species Are Involved in Plant Defense against a Gall Midge. *Plant Physiol.* 152, (2), pp 985-999.
- Liu Y.H., Huang C.J., and Chen C.Y., 2008. Evidence of induced systemic resistance against *Botrytis elliptica* in lily. *Phytopathology*. 98, 7, pp 830-836.
- Louvet J., 1979. General aspects of soil disinfestation. In: Mulder D (ed) *Soil disinfestation*. Elsevier Scientific, New York, pp 1-8
- Lugtenberg B.J.J., Dekkers L., and Bloemberg G.V., 2001. Molecular determinants of rhizosphere colonization by pseudomonas. *Annual Review of Phytopathology*, 39, pp 461-490.

- Lugtenberg B. and Kamilova F., 2009. Plant-Growth-Promoting rhizobacteria. Annual Review of Microbiology, 63, pp 541-556.
- Mahé E., Vossen P., Hooven H.W., Van den D., Nguyen L., Vervoort J., De Wit P.J.G.M., 2009. Solid-phase synthesis, conformational analysis, and biological activity of AVRp elicitor peptides of the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum*. The Journal of Peptide Research, 52, (6), pp 482-494.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PUR presses polytechniques, Lausanne, 192 p.
- 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, pp 83-89.
- Marek-Kozaczuk M. and Skorupska A., 2001. Production of B-group vitamins by plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and the importance of vitamins in the colonization and nodulation of red clover. Biol Fertil Soils 33, pp 146-151.
- Martinez C., 1997. Roles des peroxydases dans la résistance du cotonnier à la bactériose causée *Paraxanthomonas campestris* pathovar *malvacearum*. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier TI Sciences et Techniques du Languedoc, 125 p.
- Maurhofer M., Keel C., Schnider U., Voisard C., Haas D., and Défago G. 1992. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity. Phytopathology, 82, pp 190-195.
- Maurhofer M., Baehler E., Notz R., Martinez V. and Keel C., 2004. Cross-talk between 2,4-diacetylphloroglucinol-producing biocontrol pseudomonads on wheat roots. Appl. Environ. Microbiology, 70, pp 1990-1998.
- Mckinney H.H., 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Res., 26, pp 195-218.
- Mercado-Blanco J., Rodríguez-Jurado D., Hervás A. and Jiménez-Díaz R.M. 2004. Suppression of Verticillium wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. Biological Control, 30, 474-486.
- Merkouropoulos G., Barnett D.C., Shirsat A.H., 1999. The *Arabidopsis* extensin gene is developmentally regulated, is induced by wounding, methyl jasmonate abscisic and salicylic acid, and codes for a protein with unusual motifs. Planta 208, pp 212-219.
- Mert-Türk F., 2002. Phytoalexins: Defence or just a response to stress? Journal of Cell and Molecular Biology, 1, pp 1-6.
- Messiaen C., Blancard D., Rouxel F. et Lafon R., 1991. Les Maladies des plantes maraîchères : *Du labo au terrain* . <http://books.google.com/books?id=VH1MHZjbHzQC&dq=Fusarium+oxysporum+lycopersici+chlamydospore++germination&hl=fr&site=reviews> Editions Quae, Paris, 552 p.
- Messiaen C.M., Messiaen-Pagotto F., 2010. Le potager familial méditerranéen. Editions Quae, France, 192 p.
- Mes J.J., Weststeijn E.A., Herlaar F., Lambalk J.M., 1999. Biological and molecular characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* divides race 1 isolates into separate virulence groups. Phytopathology, 89, 156-160.

- Meyer, J.M. and Abdallah M.A., 1978. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: Biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107, pp 319-328.
- Meziane H., Van der Sluis I., Van Loon L.C., Höfte M., Bakker P.A.H.M., 2005. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. *Mol. Plant Pathol.* 6, pp 177-185.
- Michielse C.B, Wijk R.V., Reijnen L., Cornelissen B.J.C. and Rep M., 2009. Insight into the molecular requirements for pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through large-scale insertional mutagenesis Insight into the molecular requirements for pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through large-scale insertional Mutagenesis. *Genome Biology*, 10, (1), pp 1-18.
- Migula W., 1894. Über ein neues System der Bakterien. *Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe*, 1, pp 235-238.
- Miller H.S., Browne P., Prigent-Combaret C., Combes-Meynet E, Morrissey J.P., O'Gara F., 2010. *Environmental Microbiology Reports*, 2(3), pp 403-411.
- Miller M.B. and Bassler B.L. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 165-199.
- Mirleau P., Philippot L., Corberand T. and Lemanceau P., 2001. Involvement of Nitrate Reductase and Pyoverdine in Competitiveness of *Pseudomonas fluorescens* Strain C7R12 in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, (6), pp 2627-2635.
- Mishina T.E., Zeier J., 2007. Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in Arabidopsis. *The Plant Journal*, [50, \(3\)](#), pp 500-513.
- Mishra R.K, Prakash O., Alam M. and Ikshita A.D, 2010. Influence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the productivity of *Pelargonium graveolens* L. *Herit. Recent Research in Science and Technology*, 2,(5) pp 53-57.
- Misko A.L., Germida-James J., 2002. Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, 42, pp 399-407.
- Mittler R. and Lam E.** , 1996. Sacrifice in the face of foes: Pathogen-induced programmed cell death in plants. [Trends in Microbiology](#) , [4, \(1\)](#) , pp 10-15.
- [Molinaro A.](#) , [Newman M.A](#) ; [Lanzetta R.](#) , [Parrilli M.](#) , 2009. The Structures of Lipopolysaccharides from Plant-Associated Gram-Negative Bacteria. [European journal of organic chemistry](#) , 34, pp 5887-5896.
- Montesano M., Brader G., and Palva E.T., 2003. Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. *Mol. Plant Pathol.*, 4 (1), pp 73-79.
- Monneveux P. and Nemmar M., 1986. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L) et chez le blé dur (*Triticum durum*) et leur développement. *Agronomie*. 6, pp 583-590.
- Moya M.L.G, Aguilar M.I., Blanco R., Kenig A., Gomez J. and Tello J.C., 2004. Fusarium Wilt on Sweet Basil: Cause and Sources in Southeastern Spain. *Phytoparasitica*, 32 (4), pp 395-401.

- [Moynihan J.A.](#) , [Morrissey J.P.](#) , [Coppoolse E.R.](#) , [Stiekema W.J.](#) , [O'Gara F.](#) , [Boyd E.F.](#) , 2009. Evolutionary history of the *phl* gene cluster in the plant-associated bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Appl Environ Microbiol*, 75, (7), pp 2122- 2131.
- [M'piga P.](#) , [Belanger R. R.](#) , [Paulitz T. C.](#) , [Benhamou N.](#) , 1997. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 0 63-28 [Physiological and molecular plant pathology](#) , 50,(5), Pages 301-320.
- Murugan M.** , and **Dhandapani N.** , 2006. **Induced systemic resistance activates defense responses to interspecific insect infestations on tomato.** [Journal of vegetable science](#) , 12 (3), pp 43-62.
- Musoni A., Kimani P., Narla R.D., Buruchara R. and Kelly J., 2010. Inheritance of fusarium wilts (*Fusarium oxysporum* F. sp. *phaseoli*) resistance in climbing beans. *African Journal of Agricultural Research*, 5, (5), pp. 399-404.
- Muthuswamy M, 2005b. *Pseudomonas fluorescens* mediated vigour in Black pepper (*Piper nigrum* L.) under green house cultivation. *Annals of Microbiology*, 55, (3), 171-174.
- Mysore K.S.** and **Ryu C.M.**, 2004. Non host resistance: How much do we know?. *Trends in Plant Science*, [9. \(2\)](#) , pp 97-104.
- Nadales E.P., 2010. Msb2, a mucin-like membrane protein functioning in signalling and pathogenesis of *Fusarium oxysporum*, Doctoral thesis, Córdoba, 201 p.
- Nakkeeran S., Fernando W.G.D. And Siddiqui Z.A., 2005. Plant growth promotin rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In Siddiqui Z.A. (ed) PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Dordrecht, The Netherlands 313 p.
- Naturforsch Z., 2004. Up-regulation of Pathogenesis-related Proteins in the Apoplast of *Malus domestica* after Application of a Non-pathogenic Bacterium .*Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 59, pp 843-848.
- Naz I. and Bano A., 2010. Biochemical, molecular characterization and growth promoting effects of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. isolated from weeds grown in salt range of Pakistan Plant Soil, 334, pp 199-207.
- Nelson L. M., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. *Crop Management*, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria/>
- Nelson S.C., 2008. Late Blight of Tomato (*Phytophthora infestans*). *Plant Disease*, 45, pp 1-10.
- Niderman T., Genetet I., Bruyère T., Gees R., Stintzi A., Legrand M., Fritig B., and Möisinger E., 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal. Isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol*, 108, (1), pp 17-27.
- Niranjan R.S., Prasad S.N. and Shekar S.H., 2004. Nove: Proline - An inducer of resistance against pearl millet downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola*. *Phytoparasitica*, 32, (5), pp 523-527.

- Niranjan R.S., Shetty H.S. and Reddy M.S., 2005. Chapter 7: Plant growth-promoting rhizobacteria: potential green alternative for plant productivity in IN Siddiqui Z.A. (ed) PGPR: Biocontrol and Biofertilization, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 313 p.
- Nürnberg T., Brunner F., Kemmerling B., Piater L., 2004. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunol Rev*, 2004, 198:249-266.
- Nürnberg T. and Lipka V., 2005. Non-host resistance in plants: New insights into an old phenomenon. *Molecular plant pathology*, 6 (3): 335-345.
- Ohara T., Inoue I., Namiki F., Kunoh H. and Tsuge T., 2004. *REN1* is required for development of microconidia and macroconidia, but not of chlamydospores, in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Genetics Society of America*, 166, pp 113-124.
- Olivain C. and Alabouvette C., 1999. Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a non-pathogenic strain. *New Phytol.*, 141, 497-510
- Ongena M., Daayf F., Jacques P., Thonart P., Benhamou N., Paulitz T. C., Bélanger R. R., 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology*, [49, \(4\)](#) pp 523-530.
- Ongena M., Giger A., Jacques P., Dommes J. and Thonart P., 2002. Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean by *Pseudomonas putida* BTP1. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, pp 187-196.
- Ongena M. and Thonart P., 2006. Resistance induced in plants by non-pathogenic microorganisms: Elicitation and defense responses. In: *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*. 1st ed. Japan: Global Science Books, 447-463.
- Ongena M., Jourdan E., Adam A., Paquot M., Brans A., Joris B., Arpigny J.L., Thonart., 2007. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental Microbiology*, 9, (4), pp 1084-1090.
- [Palleroni N.J](#) , 1983. The taxonomy of bacteria. *BioScience*, 33, pp 370-377.
- Palleroni N.J., 1993. *Pseudomonas* classification. A new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 64 (3-4), pp 231-251.
- [Paré P.W.](#), [Zhang H.](#), [Aziz M.](#), [Xie X.](#), [Kim M.S.](#), [Shen X.](#) and [Zhang J.](#), 2011. Beneficial rhizobacteria induce plant growth: mapping signaling networks in *Arabidopsis*. [Soil Biology](#) , 23, (2), pp 403-412.
- [Park K.H](#) ., [Lee C.Y](#) ., [Son H.J](#) ., 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett Appl Microbiol*, 49 (2), pp 222-228.
- Parret A.H.A., and De Mot R., 2001. Bacteriocin production by rhizosphere-colonizing fluorescent *Pseudomonas*. Proceedings of the 5th International PGPR Workshop. <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/parret.pdf>.
- Parret A.H.A., and R. De Mot. 2002. Bacteria killing their own kind: novel bacteriocins of *Pseudomonas* and other β -proteobacteria. *Trends Microbiol.*, 10, pp 107-112.

Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C., 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports* 24, pp 255-265.

Patten C.L. and Glick B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 3795-3801.

Pavlo A., Leonid O., Iryna Z., Natalia K., Maria P.A., 2010. Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biological Control*, xxx, pp xxx-xxx.

Peltier R., 1996. Les parcs à Faidherbia. Editions Quae, France, 311 p.

[Penrose D.M.](#) , [Moffatt Barbara A.](#) , [Glick Bernard R](#) , 2001. Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-containing bacteria on roots of canola seedlings http://www.refdoc.fr/?traduire=en&FormRechercher=submit&FormRechercher_Txt_Recherche_name_attr=listeTitreSerie%20%28Canadian%20journal%20of%20microbiology%29 . *Canadian Journal of Microbiology*, 47 (1), pp 77-80.

Percival Glynn C., 2001. Induction of systemic acquired disease resistance in plants: Potential implications for disease management in urban forestry. *Journal of Arboriculture*, 7, (4), pp 181-192.

Persello-Cartieaux F., Nussaume L., and Robaglia C., 2003. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ.*, 26, pp 189-199.

Pervent M. et Nacry P., 2008. Dispositif du split-root in vitro pour l'analyse architecturale du système racinaire chez *Arabidopsis thaliana*. *Cah. Techn. INRA*, 65, pp 23-30.

Pieterse C.M.J., Van Wees S.C.M., Van Pelt J.A., Knoester Marga, Laan Ramon, Gerrits H., Weisbeek P.J., and Van Loon L.C., 1998. A Novel Signaling Pathway Controlling Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 10, pp 1571-1580.

Pieterse C.M.J. and Van Loon L.C., 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends in Plant Reviews*, 4 (2), pp 52-58.

Pieterse C.M.J., Van Pelt J.A., Ton J., Parchmann S., Mueller M.J., Buchala A.J., Meâ Traux J-P And Van Loon L.C., 2000. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57, pp 123-134.

Pieterse C.M.J., Van Pelt J.A., Van Wees S.C.M., Ton J., Leon-Kloosterziel K. M., Keurentjes J.J.B., Verhagen B.W.M., Marga K., Van der Sluis I., Bakker P.A.H.M and Van Loon L.C., 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signalling and expression. *European Journal of Plant Pathology*, 107, pp 51-61.

Pieterse C.M.J and Van Loon L.C., 2007. NPR1: The spider in the web of induced resistance signaling pathway. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, pp 456-464.

Pieterse C.M.J., Leon-Reyes A., Van der Ent S., Van Wees S.C.M., 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat. Chem. Biol.* 5, pp 308-316.

- Pozo M.J., Van der Ent S., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J., 2008. Transcription factor MYC2 is involved in priming for enhanced defense during rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 180, 511-523.
- Prell H.H., Day Á, Peter R., 2001. Plant-fungal pathogen interaction: A classical and molecular view pages. Springer, Berlin Heidelberg, pp 1-7.
- Prince R.W., Cox C.D., and Vasil M.L. 1993. Coordinate regulation of siderophore and exotoxin A production: Molecular cloning and sequencing of the *Pseudomonas aeruginosa* fur gene. *J. Bacteriol.* 175, pp 2589-2598.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., 2003. *Microbiologie*. De Boeck Supérieur (2^{ème} édition), Bruxelles, 1164 p.
- Raaijmakers J.M., Leeman M., Van Oorschot M.M.P., Van der Sluis I., Schippers B., Bakker P.A.H.M., 1995. Dose-response relationships in biological control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathol* 85, pp 1075-1081.
- Ramamoorthy V., Viswanathan R., Raguchande T., Prakasam V. and Samiyappan R., 2001.** Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. [Crop Protection](#) , 20, 1 , pp 1-11.
- [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 and soil](#) , 239 (1), pp 55-68.
- [Ramette A.](#) , [Frapolli M.](#) , [Défago G.](#) , [Moënne-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.
- Ran L.X., Liu C.Y., Wu G.J., Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., 2005. Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. in China. *Biological Control*, 32, pp 111-120
- Raupach G.S. and Kloepper J.W. (2000). Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Dis.*, 84 (10), pp 1073-1075.
- Ravel J. and Cornelis P., 2003, Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in pseudomonads. *Trends Microbiol*, 11, pp 195-200.
- Ravindra N.P., Raman G., Narayanan K.B. and Sakthivel N., 2008. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. *BMC Microbiology*, 8, 230, pp 1-14.
- Reddy P.B. and Rao K.S., 2009. Biochemical and PCR-RAPD characterization of *Pseudomonas fluorescens* produced antifungal compounds inhibit the rice fungal pathogens in vitro. *Electronic Journal of Environmental*, 8, (10), pp 1062-1067
- Redly G.A. and Poole K., 2003. Pyoverdine-mediated regulation of FpvA synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: Involvement of a probable extracytoplasmic-function sigma factor, Fpvl. *J. Bacteriol.*, 185, pp 1261-1265

- Reitz M., Hoffmann-Hergarten S., Hallmann J.; and Sikora R.A., 2002. Induction of systemic resistance in potato by rhizobacterium *Rhizobium etli* strain G12 is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins and enhanced lignin biosynthesis. [Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz](#), 108, (1), pp 11-20.
- Rifat H., Safdar A., Ummay A., Rabia K., Iftikhar A., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion. *Ann Microbiol.* 20 p. DOI 10.1007/s13213-010-0117-1.
- Robert D., Catesson A.M., 2000. [Biologie végétale II: caractéristiques et stratégie évolutive des plantes](#). Editions Doin, Paris, 356 p.
- Rodriguez H, Fraga R (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances.* 17: 319-339.
- Rosa A., Castillo R.Æ, Carmen H., Marc G.Æ., Christiane G., 2005. Organization of phenylalanine ammonia lyase (PAL), acidic PR-5 and osmotin-like (OSM) defence-response gene families in the potato genome. *Mol Gen Genomics*, 274, pp 168-179.
- Rosas S.B., Andrés J.A., Rovera M., Correa N.S., 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis. [Soil Biology and Biochemistry](#), 38, (12), pp 3502-3505.
- Rudolph A.S., Crowe J.H. and Crowe L.M. 1986. Effects of 3 stabilizing agents proline, betaine, and trihalose on membrane phospholipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 245, pp 134-43.
- Rudrappa T., Biedrzycki M.L., Kunjeti S.G., Donofrio N.M., Czymmek K.J., Paré P.W. and Bais H.P., 2010. The rhizobacterial elicitor acetoin induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Communicative & Integrative Biology* 3, (2), 130-138
- Ruelland E., Vaultier M.N., Zachowski A., Hurry V., Jean-Claude Kader and Michel D., 2009. Cold Signalling and Cold Acclimation in Plants. *Adv Bot Res* 49, pp 35-150.
- R#ži#ka K., Ljung K., Vanneste S., Podhorská R., Beeckman T., Friml J. and BenkováE., 2007. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. *The Plant Cell*, 19, pp 2197-2212.
- Ryu C.M., Farag M.A., Hu C.H., Reddy M.S., Kloepper J.W. and Paré P.W., 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 134, pp 1017-1026.
- Ryu C.M, Murphy J.F., Reddy M.S., and Kloepper J.W., 2007. A two-strain mixture of rhizobacteria elicits induction of systemic resistance against *Pseudomonas syringae* and cucumber mosaic virus coupled to promotion of plant growth on *Arabidopsis thaliana*. *J. Microbiol. Biotechnol*, 17, (2), pp 280-286.
- Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G., Molina A., Steiner H., Hunt M.D., 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 1996, 8:1809-1819.
- Saikia R., Singha T., Kumara R., Srivastavaa J., Srivastavab A.K., Singhc K. and Arora D.K., 2003. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas*

- fluorescens* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in chickpea. Microbiological Research, 158, (3), pp 203-213.
- Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide.; Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide., Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide., Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide., Kumar R., 2004. Induction of defense Related Enzymes and Pathogenesis Related Proteins in *Pseudomonas fluorescens* treated chickpea in response to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide., 32, (1), pp 47-53.
- Saikia R., Srivastava A.K., Singh K., Arora D.K. and Min-Woong L., 2005. Effect of iron availability on induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of chickpea by *Pseudomonas* spp. Mycobiology, 33, (1), pp 35-40.
- Saloum M., 1986. Contribution à l'étude de la fusariose vasculaire de la tomate sur le littoral Algérois. Mémoire Ingénieur Agronome, El Harrach, 65 p.
- Sanchez L., Weidmann S., Brechenmacher L., Batoux M., Van Tuinen D., Lemanceau P., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., 2004. Common gene expression in *Medicago truncatula* roots in response to *Pseudomonas fluorescens* colonization, mycorrhiza development and nodule formation. New Phytol, 161, 855-863.
- Sanchez L., Weidmann S., Arnould C., Rose B.A., Gianinazzi S. and Gianinazzi-Pearson V., 2005. *Pseudomonas fluorescens* and *Glomus mosseae* Ttrigger DMI3-dependent activation of genes related to a signal transduction pathway in roots of *Medicago truncatula*1. Plant Physiol., 139, (2). <http://www.jstor.org/pss/4281935>.
- Saravanakumar D., Vijayakumar Charles, Kumar N. and Samiyappan R., 2007. **PGPR-induced defense** responses in the tea plant against blister blight disease. [Crop Protection](#) 26, (4), pp 556-565.
- Saravanakumar D., Lavanya N., Muthumeena B., Raguchander T., Suresh S., Samiyappan R., 2008. *Pseudomonas fluorescens* enhances resistance and natural enemy population in rice plants against leafhopper pest Journal of Applied Entomology. 132, (6), pp 469-479
- Satrani B., El Ouadihi N., Guedira A., Frey-Klett P., Arahou M., Garbaye J., 2009. Effet de la bactérisation des graines sur la croissance des plants de *Cedrus atlantica* Manetti. Biotechnol. Agron. Soc. Environ.13(3), 367-372.
- Schmele I. and Kauss H., 1990. Enhanced activity of the plasma membrane localized callose synthase in cucumber leaves with induced resistance. Physiological and Molecular Plant Pathology, 37, (3), pp 221-228.
- Schuhegger R., Ihring A., Gantner S., Bahnweg G., Knappe C., Vogg-G., Hutzler P., Schmid M., Breusegem F.V., EBERL L., Hartmann A., Langebartels C, 2006. Induction of systemic resistance in tomato by *N*-acyl-L-homoserinylactone-producing rhizosphere bacteria Plant, Cell and Environment(2006)29, PP 909-918.
- Schwessinger B. and Zipfel C., 2008. News from the frontline: Recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. Current Opinion in Plant Biology, 11, pp 389-395.
- Schnider U., Keel C., Blumer C., Troxler J., Défago G., Haas D., 1995. Amplification of the housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. J Bacteriol, 177, pp 5387-5392.

- Sendhilve V., Marimuthu T., Samiappan R., 2007. Talc-based formulation of *Pseudomonas fluorescens*-induced defense genes against powdery mildew of grapevine. [Archives of Phytopathology and Plant Protection](#) , **40** (2), pp 81-89.
- Seneviratne [G.](#), [M.](#), [Weerasekara](#) L.M.A.W, [Seneviratne](#) K.A.C.N., [Zavahir](#) J.S., [Kecskés](#) M.L. and [Kennedy](#) I.R., 2011. Importance of Biofilm Formation in Plant Growth Promoting Rhizobacterial Action. [Microbiology Monographs](#) , **18**, 81-95.
- Setti B., 1986. Contribution à l'étude de la fusariose vasculaire de la tomate sur le littoral Algérois. Mémoire Ingénieur Agronome, El harrach, 35 p.
- Shanahan P., Borro A., O'Gara F., and Glennon J.D., 1992a, Isolation, trace enrichment and liquid chromatographic analysis of diacetylphloroglucinol in culture and soil samples using UV and amperometric detection. *J. Chromatogr.* **606**, pp 171-177.
- Sharma A., Johri B.N., Sharma A.K. and Glick B.R., 2003.** Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain GRP₃ influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). [Soil Biology and Biochemistry](#) , **35, 7** , pp 887-894.
- Sharma [A.](#) , [Pathak](#) A., [Sahgal](#) M., [Meyer](#) J.M., [Wray](#) V. and Johri [B.N.](#) , 2007. Molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria that enhance peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activities in chile (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) . [Archives of Microbiology](#) , **188 (5)** , pp 483-494.
- Shearer H.L., Wang L., De Long C., Despres C., and Fobert P.R., 2009. NPR1 enhances the DNA binding activity of the *Arabidopsis* bZIP transcription factor TGA71. *Botany*, **87**, pp 561-570.
- Shetty N.P., Jensen J.D., Knudsen A., Finnie C., Geshi N., Blennow A., Collinge D.B. and Jørgensen H.J.L., 2009. Effects of β -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *J. Exp. Bot.*, **60**, (15), pp 4287-4300.
- Shi S., Richardson A.E., O'Callaghan M., DeAngelis K.M., Jones E.E., Stewart A., Firestone M.K., Condon Leo M. 2011. *FEMS Microbiology Ecology*. **77 (3)**, pp 600-610.
- Siddiqui Z.A., 2003. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In Siddiqui Z.A., PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 2006, Springer, Netherlands, 313 p.
- Siddiqui I.A., Haas D., and Heeb S., 2005. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with Activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied And Environmental Microbiology*, **71**, (9), pp 5646-5649.
- [Siddiqui I.A.](#) , [Shahid Shaukat S.](#) , [Imtiaz hussain S.](#) , 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 & biotechnology](#) , **22 (6)**, pp 641-650.

- Simeoni L.A., Lindsay W.L. and Baker R., 1987. Critical iron level associated with biological control of *Fusarium* wilt. *Phytopathology* 77, pp 1057-1061.
- Slama I., Messedi D., Ghnaya T., Savoure A. and Abdely C., 2006. Effects of water deficit on growth and proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*. *Environmental and Experimental Bot.*, 56, pp 231-238.
- Snyder W.C., Hansen H.N., 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27, pp 64-67.
- Sobeih W.Y., Dodd I.C., Bacon M.A, Grierson D., Davies W.J., 2004. Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root-zone drying. *Journal of Experimental Botany*, 55, pp 2353-2363.
- Soltani A.A., 2010. Plant Growth Promoting Characteristics in Some *Flavobacterium* spp. Isolated from Soils of Iran. *Journal of Agricultural Science*, 2 (4), pp 106-115.
- Somers E., Vanderleyden J., and Srinivasan M., 2004, Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet, *Crit. Rev. Microbiol.*, 30, pp 205-240.
- [Someya N .](#) , [Tsuchiya K .](#) , [Yoshida T .](#) , [Noguchi M.T .](#) , [Sawada H .](#) , 2006. Combined use of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain LRB3W1 with reduced fungicide application for the control of tomato *Fusarium* wilt. [Biocontrol Sci.](#) 11 (2), pp75-80.
- Song [J.](#) and Wang Z., 2008. Molecular cloning, expression and characterization of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*SmpPAL1*) from *Salvia miltiorrhiza*. [Molecular Biology Reports](#) , 36 (5) , pp939-952.
- Srivastava A., Handa A.K., 2005. Hormonal regulation of tomato fruit development: a molecular perspective. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, pp 67-82.
- Stein E., Molitor A., Karl -Heinz K. and Waller F., 2008. Systemic Resistance in *Arabidopsis* Conferred by the mycorrhizal fungus *Piriformospora indica* requires jasmonic acid signaling and the cytoplasmic function of NPR1. *Plant Cell Physiol*, 49, 11, pp 1747-1751.
- Steindler L., Bertani I., De Sordi L., Bigirimana J. and Venturi V., 2008. The presence, type and role of N -acyl homoserine lactone quorum sensing in fluorescent *Pseudomonas* originally isolated from rice rhizospheres are unpredictable. *FEMS Microbiol Lett.* 288, pp 102-111.
- Steinkellner S., Mamerler R. and Vierheilig H., 2008. Germination of *Fusarium oxysporum* in root exudates from tomato plants challenged with different *Fusarium oxysporum* strains. *Eur J Plant Pathol*, 122, pp 395-401.
- Steve H.D., Jack K.C., Mary L.F., 2004. Pests of landscape trees and shrubs : an integrated pest management guide - 2nd Edition. ANR publication. 501 p.
- Sturz A.V., Christie B.R., 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Research*, 72, pp 107–123.
- Summart J., Thanonkeo P., Panichajakul S., Prathepha P. and Mc Manus M.T., 2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai

- aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. *African Journal of Biotechnology*, 9 (2), pp 145-152.
- Suty L., 2010. *La lutte biologique: Vers de nouveaux équilibres écologiques Sciences en partage*. Editions Quae, Paris, 328 p.
- Swarnalee D., Appa R.P., 2010. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): The bugs to debug the root zone. *Hyderabad*, 36, (3), pp 232-244.
- Szatmari A., Ott P.G., Varga G.J., Besenyei E., Czalleng A., Klement Z., Bozso Z., 2006. Characterisation of basal resistance (BR) by expression patterns of newly isolated representative genes in tobacco. *Plant cell reports*, 25, (7), pp 728-740.
- Tebibel N., 1979. Etude comparative de quatre isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercisi* issus de quatre variétés de tomate Mémoire Ingénieur Agronome, El Harrach, 111 p.
- Tello-Marquina J. and Alabouvette C.C., 1984. Observations sur la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie*, 4, (9), pp 885-890.
- Thangavelu R., Palaniswami A., Doraiswamy S., Velazhahan R., 2003. The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on induction of defense enzymes and phenolics in banana. *Biologia plantarum*, 46 (1), pp 107-112.
- Theocharis A., 2010. Physiological responses of *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN colonized plantlets of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to low non-freezing temperatures. Thisis Doctorat, 226p.
- Ton J., Davison S., Van Wees S.C.M., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J, 2001. The *Arabidopsis* *ISR1* locus controlling rhizobacteria-mediated induced systemic resistance is involved in ethylene signaling. *Plant Physiol.*, 125, pp 652-661.
- Ton J., Van Pelt J.A., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J., 2002. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 15, pp 27-34.
- Ton J., Van der Ent S., Van Hulten M., Pozo M., Van Oosten V., Van Loon L.C., Mauch-Mani B., Turlings T.C.J., and Pieterse C.M.J., 2009. Priming as a mechanism behind induced resistance against pathogens, insects and abiotic stress. *IOBC/wprs Bull.* 44, pp 3-13.
- Tonelli M.L., Furlan A., Taurian T., Castro S., Fabra A., 2011. Peanut priming induced by biocontrol agents. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 75, pp 100-105.
- Toua D., "Essai d'utilisation de *Pseudomonas fluorescens* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* et de *Verticillium dahliae* sur tomate et dans la promotion de la croissance végétale. Thèse Magister. ENSA, El Harrach, Alger, (1996), 138p.
- Turnbull G.A., Morgan J.A.W., Whipps J.M., and Saunders J.R. 2001. The role of bacterial motility in the survival and spread of *Pseudomonas fluorescens* in soil and in the attachment and colonization of wheat roots. *FEMS Microbiol, Ecol.* 36, pp 21-31.
- Tuzun S., Bent E., 2006. Multigenic and induced systemic resistance. Éditeur Birkhäuser, Springer science + Business Medea, inc, 521 p.
- Tzeng D.D., Wakeman R.J. and DeVay J.E., 1985. Relationships among *Verticillium* wilt development, leaf water potential, phenology and lint yield in cotton. *Physiological Plant Pathol.*, 26, pp 73-81.

- Umamaheswari C., Sankaralingam A., and Nallathambi P., 2009. Induced systemic resistance in watermelon by biocontrol agents against *Alternaria alternata*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42 (12), pp 1187-1195.
- Umesha S., 2006. Note: Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. Phytoparasitica, 34 (1), pp 68-71.
- Upadhyay A., Srivastava S., 2010. Phenazine-1-carboxylic acid is a more important contributor to biocontrol *Fusarium oxysporum* than pyrrolnitrin in *Pseudomonas fluorescens* strain Psd. Microbiol Res. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20813512>)
- Vallée C., Bilodeau G., Joliette-De L.C., 1999. Les techniques de culture en multicellules. Presses Université Laval, Canada, 394 p.
- Van der Ent S., Van Hulten M., Maria J.P., Czechowski T., Udvardi Michael K., Pieterse C.M.J. and Ton J., 2009a. Priming of plant innate immunity by rhizobacteria and aminobutyric acid: differences and similarities in regulation. New Phytologist, 183, pp 419-431.
- Van der Ent S., Van Wees S.C.M., Pieterse Corné M.J., 2009b. Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. Phytochemistry, 70, pp 1581-1588.
- Van Peer R., Niemann G.J. and Schippers B., 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. Phytopathology, 81, pp 728-734.
- Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., and Pieterse C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. rev. phytopathol, 36, pp 453-483.
- Van Loon L.C. and Bakker P.A.H.M., 2006. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. In Siddiqui Z.A. (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Dordrecht, Netherlands, Springer, 313 p.
- Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Van der Heijdt W.H.W, Wendehenne D., and Pugin Alain, 2008. Early Responses of Tobacco Suspension Cells to Rhizobacterial Elicitors of Induced Systemic Resistance. The American Phytopathological Society, 21, (12), pp 1609-1621.
- Vargas L.K., Lisboa B B., Schlindwein G., Granada C.E., Giongo A., Beneduzi A. and Pereira P., Luciane M., 2009. Occurrence of plant growth-promoting traits in clover nodulating rhizobia strains isolated from different soils in Rio Grande do Sul state. R. Bras. Ci. Solo, 33, pp 1227-1235.
- Varma A., Chincholkar S.B., 2007. Microbial siderophores. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 248 p.**
- Van Wees S.C.M., Pieterse C.M.J., Trijssenaar A., Van't Westende Y.A.M., Hartog Femke, and Van Loon L.C., 1997. Differential Induction of Systemic Resistance in *Arabidopsis* by Biocontrol Bacteria. Molecular Plant-Microbe Interactions, 10, (6), pp 716-724.
- Van Wees S.C.M., Luijendijk M., Smoorenburg I., Van Loon L.C., Pieterse C.M.J., 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is

- not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. *Plant Molecular Biology*, 41 (4), pp 537-549.
- Van Wees S.C.M., De Swart E.A.M., Van Pelt Johan A., Van Loon L.C., and Pieterse C.M.J., 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS*, 97 (15), pp 8711-8716.
- Van Wees S.C.M., Van der Ent S., Pieterse C.M.J. 2008. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*11, pp 443-448.
- Vasil M.R., and Ochsner U.A., 1999. The response of *Pseudomonas aeruginosa* to iron: Genetics, biochemistry and virulence. *Mol. Microbiol.* 34, 399-413.
- Vega N.W.O., 2007. A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. *Rev. Fac. Nal.Agrc. Medellin*, 60, pp 3621-3643.
- Verhagen B.W.M., Glazebrook J., Zhu T., Chang H.S., Van Loon L.C, and Pieterse CM. J., 2004. The Transcriptome of Rhizobacteria-Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17 (8), pp. 895-908.
- Verhagen B.W.M., Trotel-Aziz P., Couderchet M., Höfte M. and Aziz A., 2010. *Pseudomonas spp.* induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. *J. Exp. Bot.*, 61, (1), pp 249-260.
- Vijayan K.K., Bright Singh I.S., Jayaprakash N.S. Alavandi S.V., Somnath Pai S., Preetha R., Rajan J.J.S., Santiago T.C., 2006. A brackishwater isolate of *Pseudomonas* PS-102, a potential antagonistic bacterium against pathogenic vibrios in penaeid and non-penaeid rearing systems. *Aquaculture*, 251, pp 192–200
- Visca P., Imperi F. and Lamont IL, 2007. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. *Trends Microbiol*, 15, pp 22–30.
- Vleesschauwer D.D., Bakker P.A.H.M., Djavaheri Mohammad and Höfte Monica, 2008. *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced systemic resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response. *Plant Physiology*, 148, pp 1996-2012.
- Vessey J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, pp 571-586.
- Von Bodman S.B, Bauer W.D and Coplin D.L, 2003. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. *Annu Rev Phytopathol* 41 pp 455-482.
- Walker J.M., 2002. *The Protein Protocols Handbook*. Totowa (Second edition), New Jersey, 1115 p.
- Walz A., Oliver S., 2009. #-Aminobutyric Acid-induced Resistance in Cucumber against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. *Journal of Phytopathology*, [157 \(6\)](#), pp. 356-361.
- Weert [S.D.](#) and Bloemberg [G.](#) , 2006. Rhizosphere competence and the role of root colonization in biocontrol. [Plant-Associated Bacteria](#) , 2, pp 317-333.

- Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B Mc Spadden., Thomashow L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, pp 309-348.
- Weller D.M., Van Pelt, J. A., Mavrodi, D. V., Pieterse, C.M.J., Bakker P.A.H.M., and Van Loon L.C. 2004. Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*. (Abstr.) *Phytopathology* 94, S108 http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq_no_115=163800
- Weller D.M., 2007. The Nature and Application of Biocontrol Microbes III: *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. *Phytopathology*, 97, (2), pp, 250-256.
- Whipps, J.M. 1997. Developments in the biological control of soil-borne plant pathogens. *Adv. Bot. Res.* 26, pp 1-133.
- Whipps J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52, pp 487-511.
- Wildermuth M.C., Dewdney J., Wu G., Ausubel F.M., 2001. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*, 414, pp 562-565.
- Woltz, S.S. and J.P. Jones. 1981. Nutritional requirements of *Fusarium oxysporum*: Basis for a disease control system, pp. 340-349.
- Yan Z., Reddy M.S., Ryu C.M., McInroy J.A., Wilson M., and Kloepper J.W., 2002. Induced Systemic Protection Against Tomato Late Blight Elicited by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. 92, (12), pp 1329-1333.
- Yoshioka H., Bouteau F., and Kawano T., 2008. Discovery of oxidative burst in the field of plant immunity Looking back at the early pioneering works and towards the future development. *Plant Signal Behav*, 3, (3), pp153-155.
- Young N.D., 1996. QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. *Annu Rev Phytopathol* 34, pp 479-501.
- Zahir Z.A., Arshad M. and Frankenberger W.T., Jr. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: perspectives and application in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, pp 96-168.
- Zdor, R.E., Anderson, A.J., 1992. Influence of root colonizing bacteria on the defence responses in bean. *Plant Soil* 140, pp 99-107.
- Zellerhoff N., Himmelbach A., Dong W., Bieri S., Schaffrath U. and Schweizer., 2010. Nonhost resistance of barley to different fungal pathogens is associated with largely distinct, quantitative transcriptional responses. *Plant Physiology*, 152, pp 2053-2066.
- Zerrad W., Maataoui B.S., Hilali S., El Antri et A. Hmyene S., 2008. Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Lebanese Science Journal*, 9, (2), pp 27-36.
- Zhang S. and Klessig D.F., 2001.** MAPK cascades in plant defense signaling. [*Trends in Plant Science*](#) , 6, (11), pp 520-527.
- Zhang H., Kim M.S., Krishnamachari V., Payton P., Sun Y., Grimson M., Farag M.A., Ryu C.M., Allen Randy, Melo Itamar S, Paré Paul W, 2007. Rhizobacterial volatile

emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta*, 226, (4), pp 839-851.

Zipfel C., 2008. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Curr Opin Immunol.* 20,(1), pp 10-16.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche technique de la variété Marmande V (Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles, Staoueli, ITCMI)

- Plante
 - Type de semences : fixée ou standard
 - Croissance : semi déterminée
 - Vigueur : moyenne
 - Précocité : très bonne
 - Couvert végétal : moyen
 - Couleur du feuillage : vert
 - Aération : moyenne
 - Ecart entre nœud : court à moyen
- Fruit
 - Forme : ronde, aplatie, côtelée
 - Couleur : rouge intense
 - Collet vert : très peu marqué
 - Cicatrice stylaire : moyennement marquée
 - Chair : peu charnue, bien juteuse
 - Nombre de fruits par bouquet : 4 à 6
 - Nombre de loges par fruit : 4 à 5
 - Calibre du fruit : moyen
 - Poids moyen d'un fruit : 120 à 150 g
 - Fermeté du fruit : peu ferme
 - Goût : très bon
- **Production :**
rendement précoce élevé
- Destination :
sous abris plastiques et plein champ
- Résistance aux maladies :
Verticilliose

Annexe 2 : Moyennes des températures par semaine enregistrées sous serre.

Périodes	Températures en C°		
	08 ^h	12 ^h	16 ^h
29-01-11 au 07-02-11	13,3	20,4	21,4
08-02-11 au 17-02-11	13,2	23,8	23,35
18-02-11 au 27-02-11	12	21,9	23,3
28-02-11 au 09-03-11	13,2	26,7	25,9
10-03-11 au 19-03-11	14,4	25,4	25,85
20-03-11 au 29-03-11	15,5	30	28,5
30-03-11 au 08-04-11	19,3	32,6	30,1
09-04-11 au 18-04-11	19,1	28,7	29,4
19-04-11 au 28-04-11	21	32	31,1
29-04-11 au 08-05-11	22	35	31
09-05-11 au 18-05-11	20	26,7	23

Annexe 3 : Milieux de culture

- **Milieu King B** (King et *al.*, 1954).
 - Peptone(Difco) 20 g
 - Glycérol (prolabo) 15 ml
 - K₂HPO₄ (sigma) 1,5 g
 - MgSo₄ (sigma) 1,5 g
 - Agar (sigma) 15 g
 - Eau distillée 1000 ml
 - pH=7,2, autoclavage 20 minutes à 120 °C
- **Milieu PDA gélosé** (Potato Dextrose Agar) (Jonsthorpe et Booth, 1983).
 - Pomme de terre 200 g
 - Dextrose 20 g

- Agar 15 g
- Eau distillée 1000 ml
- pH=7, autoclavage 20 minutes à 120 °C

· **Milieu mixte.**

- PDA 50%
- KB 50%
- pH= 7, autoclavage 20 minutes à 120 °C

· **Milieu PDA liquide** (Potato Dextrose Agar) (Jonsthorpe et Booth, 1983).

- Pomme de terre 200 g
- Dextrose 20 g
- Eau distillée 1000 ml
- pH=7, autoclavage 20 minutes à 120 °C

Annexe 4 : Analyse statistique des diamètres de croissance de FOL

Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
Répétitions	2	0,48	0,24	2,86	0,087	NS
Traitements	8	53,13	6,64	78,5	<0,0001	S
Résiduelle	16	1,35	0,085			

Annexe 5 : Analyse statistique de l'évolution de la maladie et des taux de bioprotection

Infection	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	5,55	2,77	0,15	0,87	NS
	Traitements	7	3728,7	532,67	27,97	0,0001	S
	Résiduelle	14	266,58	19,04			
McKinney	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	21,08	10,54	0,37	0,7	NS
	Traitements	7	12493,33	1784,76	62,05	0,0001	S
	Résiduelle	14	402,71	28,76			
Gravité	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,17	0,09	0,82	0,462	NS
	Traitements	7	22,93	3,28	30,95	0,0001	S
	Résiduelle	14	1,48	0,1			
Bioprotection (infection)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	7,39	3,7	0,14	0,87	NS
	Traitements	5	1744,73	348,95	13,18	0,0004	S
	Résiduelle	10	264,74	26,47			
Bioprotection (McKinney)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	23,03	11,52	0,23	0,801	NS
	Traitements	5	2838	567,6	11,16	0,0008	S
	Résiduelle	10	508,54	50,85			

Annexe 6: Analyse statistique des teneurs en chlorophylle

Période 1	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,11	0,054	0,59	0,56	NS
	Traitements	13	8,79	0,67	7,28	<0,0001	S
	Résiduelle	26	2,41	0,092			
Période 2	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,032	0,016	0,55	0,58	NS
	Traitements	13	17,04	1,31	44,01	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,77	0,03			
Période 3	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,034	0,017	0,54	0,59	NS
	Traitements	13	6,59	0,51	16,17	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,81	0,031			
Période 4	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,18	0,088	1	0,38	NS
	Traitements	13	5,17	0,4	4,51	0,0005	
	Résiduelle	26	2,29	0,088			
Période 5	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,003	0,001	0,05	0,95	NS
	Traitements	13	2,86	0,22	8,25	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,69	0,027			
Période 6	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,02	0,1	0,83	0,45	NS
	Traitements	13	2,87	0,22	18,08	<0,0001	S
	Résiduelles	26	0,32	0,01			

Annexe 7 :Analyse statistique des teneurs en proline

Période 1	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,00002	0,00001	0,45	0,64	NS
	Traitements	13	0,014	0,001	43,26	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,0006	0,00002			
Période 2	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,00001	0,00001	0,59	0,56	NS
	Traitements	13	0,015	0,001	127,88	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,00023	0,00001			
Période 3	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,00007	0,00004	2,54	0,098	NS
	Traitements	13	0,007	0,001	42,76	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,0004	0,00001			
Période 4	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,000009	0,00004	0,00001	1,87	NS
	Traitements	13	0,001	0,00008	33,02	<0,0001	S
	Résiduelle	25	0,00006	0,000002			
Période 5	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,00002	0,00001	0,89	0,42	NS
	Traitements	13	0,0008	0,00006	4,51	0,0005	S
	Résiduelle	26	0,0004	0,00001			
Période 6	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,000001	0,0000003	0,06	0,94	NS
	Traitements	13	0,002	0,00014	32,48	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,0001				

Annexe 8 : Analyse statistique des teneurs en protéines totales

Période 1	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,007	0,0035	0,2	0,82	NS
	Traitements	13	1,5	0,12	6,58	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,46	0,017			
Période 2	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,52	0,26	3,64	0,06	NS
	Traitements	13	2,89	0,22	3,13	0,006	S
	Résiduelle	26	1,85	0,07			
Période 3	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,11	0,057	2,79	0,08	NS
	Traitements	13	3,76	0,29	14,22	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,53	0,02			
Période 4	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,0004	0,0002	0,06	0,95	NS
	Traitements	13	0,53	0,041	11,42	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,09	0,004			
Période 5	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,026	0,012	0,17	0,85	NS
	Traitements	13	3,39	0,26	3,42	0,0037	S
	Résiduelle	26	1,98	0,076			
Période 6	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Répétitions	2	0,0023	0,0011	0,15	0,86	NS
	Traitements	13	1,88	0,41	18,28	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,21	0,01			

Annexe 9: Analyse statistique des paramètres de croissance et de production

Poids frais (tige+feuilles)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	125,56	62,78	2,8	0,08	NS
	Traitements	13	26799,46	2061,5	91,97	<0,0001	S
	Résiduelle	26	582,79	22,42			
Poids sec (tige+feuilles)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,34	0,17	1,09	0,35	NS
	Traitements	13	995,5	76,58	476,39	<0,0001	S
	Résiduelle	26	4,17	0,16			
Poids frais des racines	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	25,48	12,74	2,54	0,1	NS
	Traitements	13	2377,02	182,85	36,39	<0,0001	S
	Résiduelle	26	130,65	5,03			
Poids sec des racines	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	1,05	0,52	1,6	0,22	NS
	Traitements	13	22,83	1,76	5,35	0,0001	S
	Résiduelle	26	5,83	0,22			
Poids frais des fruits	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	13,25	6,63	0,24	0,8	NS
	Traitements	13	21098,69	1622,98	58,08	<0,0001	S
	Résiduelle	26	726,52	27,94			
Poids sec des fruit	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,011	0,006	0,06	0,94	NS
	Traitements	13	114,05	8,77	90,86	<0,0001	S
	Résiduelle	26	2,51	0,097			
Nombre de fruits/plant	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,014	0,007	1,65	0,21	NS
	Traitements	13	10,84	0,83	198,38	<0,0001	S
	Résiduelle	26	0,1	0,004			

Annexe 9 (suite) : Analyse statistique des paramètres de croissance

Longueurs racinaires	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	50,99	25,5	2,28	0,12	NS
Traitements	13	428,79	32,98	2,95	0,009	S	
Résiduelle	26	290,56	11,17				
Hauteurs des tiges	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	3,67	1,83	0,06	0,93	NS
Traitements	13	7462,99	574,08	20,27	<0,0001	S	
Résiduelle	26	736,4	28,32				
Poids frais des racines (lot A et B)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,22	0,11	0,06	0,94	NS
Traitements	13	233,14	17,93	9,54	<0,0001	S	
Résiduelle	26	48,88	1,88				
Poids frais des racines (lot A et B)	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	0,15	0,08	0,7	0,5	NS
Traitements	13	2,42	0,19	1,71	0,12	S	
Résiduelle	26	2,84	0,1				
Longueur des racines	Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
	Blocs	2	53,6	26,8	1,54	0,23	NS
Traitements	20	613,17	30,66	1,76	0,06	NS	
Résiduelle	40	697,27	17,43				

Annexe 10 : Analyse statistique des concentrations finales bactériennes et fongiques

Source de variation	DDL	SCE	CM	F	Probabilité	Signification
Répétitions	2	2,86	1,43	0,92	0,42	NS
Traitements	7	1,03	1,47	9,42	0,0007	S
Résiduelle	11	1,71	1,56			