

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etude
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

**Utilisation des PGPR comme agents de lutte
biologique contre les maladies fongiques des plantes**

Présenté Par :

- 1) Mlle. BENKRAMA FAFA
- 2) Mlle. MILOUD MANEL

Devant le jury composé de :

Dr. Bennabi F.	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr.Tahari F.Z.	MAB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinateur
Dr Chibani H.R.	MAB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la force, la volonté et la patience d'accomplir tout le long de nos études.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre encadrante

*Mlle **Chibani Hiba Rahman**, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail ainsi que pour sa disponibilité, ses conseils et pour son soutien et sa patience.*

*Nous tenons à gratifier aussi les membres de Jerry : Mr **Bennabi F** et Mlle **Tahari F.Z** de l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail et de l'enrichir par leurs propositions et leurs conseils.*

Nos remerciements s'adressent également aux :

Enseignants du département SNV de l'université d'Ain-Temouchent pour leurs qualités scientifiques et pédagogiques.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

On ne pourrait pas terminer ces remerciements sans une énorme pensée pour nos parents.

** Miloud Manel **

Toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne seraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi c'est tout simplement que je dédie ce travail à...

Allah

Le tout miséricordieux, le tout puissant qui ma inespéré, qui ma guidé sur le droit chemin.

Soumission, louange et remerciement pour votre clémence et miséricorde.

A mon très cher père

Je vécu dans l'administration de la grande personnalité et de la bonté.

Tu es pour moi l'exemple de la réussite et de grand cœur.

Puisse ce travail symbolisé le fruit de tes longues années de sacrifices consentie pour mes études et mon éducation.

A ma très chère mère

Ta noblesse et ta bonté sont sans limites

Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon bien être

A mes grandes mères

Que Dieu tout puissant préserve vos sourires et vous assure une bonne santé et une longue vie

A mon très chère

Frère : Moustapha

Et mes sœurs : Marwa, Ikram

J'importe Dieu à vous apporter bonheur et vous aide à réaliser vos vœux

A la mémoire de mon grand père

Puisse ton âme repose en paix. Que Dieu t'accueille dans son éternel paradis

A mes très chers amis (es)

Souad, Zineb, Chahinez, Samah, Nadjia, Mokhtar, Amine, Oussama, Salim

A tous mes collègues de la promotion

A mon binôme Fafa

Merci pour tous les moments qu'on a partagés ...

*** Benkrama Fafa***

Toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne seraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi c'est tout simplement que je dédie ce travail à...

Allah

Le tout miséricordieux, le tout puissant qui ma inespéré, qui ma guidé sur le droit chemin.

Soumission louange et remerciement pour votre clémence et miséricorde.

A la mémoire de ma mère

Puisse ton âme repose en paix. Que Dieu t'accueille dans son éternel paradis

A mon très cher père

Je vécu dans l'administration de la grande personnalité et de la bonté.

Tu es pour moi l'exemple de la réussite et de grand cœur.

Puisse ce travail symbolisé le fruit de tes longues années de sacrifices consentie pour mes études et mon éducation.

A mes très chers

Frères : Nafaa, Mohamed, Bilel, Abd El Illah

Et mes sœurs : Fatima, Khadidja

J'importe Dieu à vous apporter bonheur et vous aide à réaliser vos vœux

A tout mes oncles et tantes

Ce travail et aussi le fruit de vos encouragements et de vos bénédictions

A mon très chère amie

Iman

A tous mes collègues de la promotion

A mon binôme Manel

Merci pour tous les moments qu'on a partagés ...

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralité sur la rhizosphère et les PGPR.....	04
1.1 Le sol.....	04
1.2. La rhizosphère.....	04
1.3. Activité microbiologique de la rhizosphère.....	05
1.4. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes.....	05
1.5. Biodiversité des PGPR dans la rhizosphère	06
1.5.1. Les rhizobia.....	06
1.5.2. Les PGPR diazotrophes.....	06
1.5.2.1. Azotobacter.....	06
1.5.2.2. Azospirillum.....	07
1.5.3. Bacillus.....	07
1.5.4. Pseudomonas.....	07
2. Les maladies fongiques.....	07
2.1. Les champignons phytopathogènes.....	07
2.2. Les maladies des plantes.....	08
2.3. Les différents types des maladies des plantes	08
2.3.1. La fusariose.....	08
2.3.2. Le mildiou.....	09
2.3.3. La moniliose.....	10
2.3.4. Altenariose.....	11
3. La lutte biologique.....	12
3.1. Historique.....	12
3.2. Mécanismes d'action des bactéries impliquées dans la lutte biologique.....	13
3.2.1. Compétition pour l'espace et nutriments.....	13

3.2.2. Antibiose et parasitisme.....	13
3.2.3. La Resistance systémique induite.....	14
3.3. Mécanismes d'actions impliquées dans la promotion de la croissance des plantes.....	14
3.3.1. La fixation d'azote.....	14
3.3.2. La solubilisation de phosphate.....	15
3.3.3. Production des sidérophores.....	15
3.3.4. Production des phytohormones.....	16
3.3.4.1. Acide Indole-3-Acétique.....	16
3.3.4.2. Cytokinines.....	16
3.3.4.3. Ethylène.....	17
3.4. Les agents utilisés en lutte biologique.....	17
3.4.1. Bacillus subtilis.....	17
3.4. 2. Burkholdria phytofirmans.....	18
3.4. 3. Pseudomonas fluorescens.....	18
4. Les biopesticides microbiens.....	19
4.1. Le marché des biopesticides.....	20

Chapitre II : Approche méthodologique

1. Etude de la souche antagoniste.....	24
1.1. Echantillonnage.....	24
2.2. Isolement et purification des bactéries	24
3.3. Identification bactérienne.....	24
2. Antagonisme in vitro.....	25
3. Antagonisme in vivo.....	25
3.1. Préparation et traitement des graines de tomates.....	25
3.2. Préparation des suspensions fongiques et infection des grains de tomate par l'agent phytopathogène.....	26
3.3. Semis des gaines traitées.....	26

Chapitre III : Etude comparative des résultats antérieurs

1. Origine des résultats.....	28
2. Isolement des bactéries.....	28
3. Antagonisme in vitro.....	28
4. Antagonisme in vivo.....	30

Conclusion.....	34
Référence bibliographique.....	36
Annexes.....	46

Résumé

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont indigènes de la rhizosphère végétale et jouent un rôle majeur dans le biocontrôle des agents pathogènes des plantes. Les PGPR peuvent considérablement améliorer la germination des graines et le développement des racines. Ces rhizobactéries peuvent stimuler la croissance des plantes directement en produisant des hormones de croissance et en améliorant l'absorption des nutriments ou indirectement en modifiant l'équilibre microbien dans la rhizosphère en faveur des micro-organismes bénéfiques. Ils peuvent supprimer un large éventail des maladies fongiques. L'utilisation de PGPR est devenue une pratique courante dans de nombreuses régions du monde. Notre objectif est basé sur l'étude de comparaison sur l'effet antagoniste de quelques souches PGPR vis-à-vis le champignon phytopathogène responsable de la fusariose vasculaire des plantes cultivées. D'après l'étude comparative des résultats antérieurs sur l'effet antagoniste des souches PGPR in vitro et in vivo, nous avons constaté que les PGPR *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp* et les actinomycètes ont une efficacité potentiel vis-à-vis l'agent phytopathogène *F. oxysporum*.

Mots clés: Effet antagoniste, Lutte biologique, Maladies fongiques, PGPR, Rhizosphère.

Abstract:

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are indigenous to plant rhizosphere and play a major role in the biocontrol of plant pathogens. PGPR can significantly enhance seed germination and root development. These rhizobacteria can stimulate plant growth directly by producing growth hormones and improving nutrient uptake or indirectly by altering the microbial balance in the rhizosphere in favor of beneficial microorganisms. They can suppress a wide range of fungal diseases. The use of PGPR has become a common practice in many parts of the world. Our objective is based on the comparative study on the antagonistic effect of some PGPR strains against phytopathogenic fungus responsible for *Fusarium* head blight of crops. From the comparative study of previous results on the antagonistic effect of PGPR strains in vitro and in vivo, we found that PGPR *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp* and actinomycetes have potential efficacy against the phytopathogenic agent *F. oxysporum*.

Key words: Antagonistic effect, Biological control, Fungal diseases, PGPR, Rhizosphere.

ملخص :

البكتيريا الجذرية المحفزة لنمو النبات (PGPR) هي أصيلة في التربة وجذر النبات وتلعب دورًا رئيسيًا في مكافحة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية. يمكن أن تحسن PGPRs بشكل كبير إنبات البذور وتطور الجذور. يمكن لهذه البكتيريا الجذرية أن تحفز نمو النبات مباشرة عن طريق إنتاج هرمونات النمو وتعزيز امتصاص المغذيات أو بشكل غير مباشر عن طريق تغيير التوازن الميكروبي في الجذور لصالح الكائنات الحية الدقيقة المفيدة. يمكنهم قمع مجموعة واسعة من الأمراض الفطرية. أصبح استخدام PGPR ممارسة شائعة في أجزاء كثيرة من العالم. يعتمد هدفنا على دراسة المقارنة حول التأثير المضاد لبعض سلالات PGPR ضد الفطريات الممرضة للنبات المسؤولة عن نبول الفيوزاريوم الوعائي في النباتات المزروعة. بناءً على الدراسة المقارنة للنتائج السابقة حول التأثير المضاد لسلالات PGPR في المختبر وفي الجسم الحي ، وجدنا PGPR *Pseudomonas spp* و *Bacillus spp* والفطريات الشعاعية التي لها فعالية محتملة ضد العامل الممرض للنبات (*F. oxysporum*).

الكلمات المفتاحية : التأثير المضاد ، مكافحة البيولوجية ، الأمراض الفطرية ، PGPR ، الجذور.

Liste des abréviations

ADNr 16s : Acide Désoxyribonucléique ribosomique 16s

AIA : Acide Indole -3- Acétique

API : Appareil et Procédés d'Identification

BN : Bouillon Nutritif

B. phytofirmans : *Burkholdria phytofirmans*

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

Cm : Centimètre

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DW : Dry Weigh

EPA : Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis

FW: Fresh Weigh

Fe²⁺: ions ferreux

g: Gramme

GN: Gélose Nutritive

h: Heure

HCN: Cyanure d'hydrogène

J. C : Jésus-Christ

LR : Longueur de la Plante

m : Mètre

min : Minute

ml : Militer

nm : Nanomètre

ng: Nano gramme

N₂ : Azote

P : Phosphate

P. viticola : *Plasmopara viticola*

P. putida : *Pseudomonas Putida*

PCR : Polymérase Chaîne Réaction

PDA: Potato- Dextrose- Agar

Ph: Potentiel Hydrogène

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

PSB: Phosphate Solubilizing Bacteria

RSI: Résistance Systémique Induite

Spp : Espèce non précise

UFC : Unité formant Colonie

µg : Microgramme

µl : Microlitre

USA : Etats- Unis d'Amérique

°C : degré Celsius

% : pourcentage

\$: Dollar

Liste des Figures

Figure 01 :	Schéma représentative des trois zones de la rhizosphère.....	05
Figure 02 :	Palmier-Dattier atteint de la fusariose.....	09
Figure 03 :	Cycles de contamination de la vigne par <i>P. viticola</i> et diversité des symptômes occasionnés sur les organes végétatifs.....	09
Figure 04 :	Les chérelles de cacao, les symptômes interne et externe de la maladie causée par <i>M.rareri</i>	10
Figure 05 :	Symptômes d'altenariose sur les feuilles de la carotte.....	11
Figure 06 :	Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010.....	20
Figure 07 :	Essai d'antagonisme entre souche PGPR et <i>Fusarium oxysporum</i>	25

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Les microorganismes inscrits en tant que biopesticides.....	22
Tableau 02 :	Etude comparative des travaux sur l'effet antagoniste des PGPR vis-à-vis le champignon phytopathogène <i>Fusarium oxysporum</i>	28

Introduction

L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives, les pertes économiques sont énormes, d'après la F.A.O (1999) les maladies phytopathogènes réduisent de 12 à 14% la production agricole mondiale, 70% des dommages étant d'origines fongique. La majorité des maladies des plantes sont causées par les champignons telluriques largement distribués dans le sol, provoquant les pourritures des cultures aussi ils endommagent de nombreuses espèces d'arbres forestiers. Les microorganismes pathogènes et surtout les champignons telluriques sont difficiles à contrôler presque'ils peuvent survivre dans le sol pour de long période. Pour lutter contre ces maladies, l'application illimitée des pesticides dans le sol peut entraîner la pollution de l'environnement. Outre l'efficacité des fongicides chimiques est souvent comprise par l'émergence des pathogènes résistants (**Aouar, 2012**).

En raison de l'aggravation des problèmes en manière de contrôle des maladies fongiques, une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux qui sont mis dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueux à l'environnement (**Aouar, 2012**).

La lutte biologique est l'une des méthodes promoteuse elle consiste en l'utilisation des microorganismes antagonistes (Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, PGPR), sont définis comme des bactéries présente dans la rhizosphère, pour lesquelles un effet positif sur la physiologie végétal est reconnue. La plupart des microorganismes sont très spécifiques de leur cible et sont donc inoffensifs pour les organismes non hôtes (**Aouar, 2012**).

Certains PGPR stimulent la croissance des plantes en absence de pathogène, ces effets directs regroupent l'accroissement de la masse aérienne et racinaires, l'élongation racinaires et les levées accélérés des plantules, ces augmentations s'expliquent par des meilleurs prélèvements et assimilations des éléments nutritifs par la plante et la production des phytohormones. D'autres PGPR produisent des effets bénéfique sur la croissance des plantes en présence d'un pathogènes, ces modes d'action indirect sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et au développement de résistance induite chez les plantes (**Beauchamp, 1993**).

L'objectif de notre étude consiste à une étude comparative sur les effets antagonistes des PGPR contre la maladie de la fusariose causée par *F. oxysporum*.

Notre mémoire se présente en deux grandes parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur les recherches effectuées dans notre domaine de recherche.
- La deuxième partie présente l'approche méthodologique et des études comparatives des résultats antérieures.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur la rhizosphère et les PGPR

1.1. Le sol

Le sol est un milieu vivant très structuré. Un milieu poreux constitué d'un ensemble de cinq fractions différentes : les minéraux solides, les matières organiques, la fraction vivante, la phase gazeuse et la phase liquide. Le sol et par son fonctionnement et son organisation, un véritable système écologique dynamique, est le milieu commun à l'ensemble des écosystèmes terrestres (forestiers, prairiaux, agricoles) et participe activement à leur fonctionnement (**Gros, 2002**). Le sol est le support des végétaux, le milieu dans lequel grâce à leurs racines, les plantes se procurent l'eau et les éléments nutritifs dont elles ont besoin.

1.2. La rhizosphère

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner (**Hartmann *et al.*, 2008**), la rhizosphère est la zone du sol située près des racines et caractérisée par une activité microbiologique intense. Le sol et le biote du sol interagissent les uns avec les autres, ces interactions sont souvent bénéfiques pour améliorer la fertilité des sols et augmentent la dégradation des produits chimiques toxiques (**Lynch *et al.*, 2001**). Son volume est variable selon le développement racinaire : il représente entre 0,1 et 1% du sol globale des écosystèmes forestiers et près de 100% des premiers centimètres des sols prairiaux (**Lynch et Whipps, 1990**).

La subdivision de cette rhizosphère en trois grandes composantes a été signalée par Bowen et Rovina (1999) (**Figure 01**). Ces régions ; ectorrhizosphère (à l'intérieur de laquelle diffusent les exsudats solubles et volatils en provenance des racines), La rhizoplane (zone constituée par la surface des racines) et l'endorrhizosphère (constituée par les cellules du cortex racinaire envahies par les microorganismes saprophytes) qui interagissent ensemble soutiennent la compétition entre les organismes pour plus des compétences, de capacité saprophyte et potentiel d'amélioration la croissance des plantes. (**Dommergues, 1975 ; Kenneth *et al.*, 2019**).

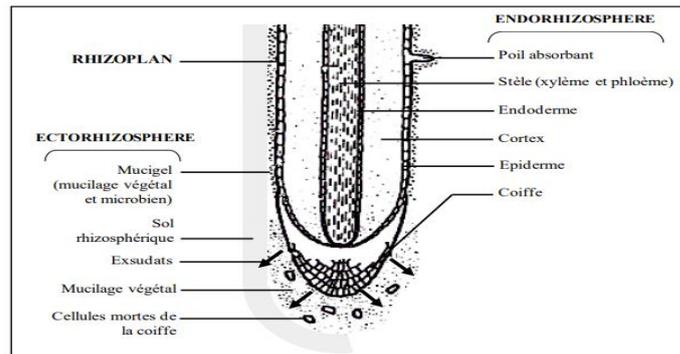


Figure 01 : Schéma représentative des trois zones de la rhizosphère (Berendsen *et al.*, 2012).

1.3. L'activité microbiologique de la rhizosphère

La microbiologie du sol est complexe, elle comprend des bactéries, des champignons..., ceux-ci peuvent jouer un rôle de stimulation de croissance par l'apport d'éléments nutritifs, et de protection des pathogènes environnants (Amarger, 2002). Les interactions bénéfiques entre les plantes et les microorganismes dans la rhizosphère sont déterminants pour la santé des plantes et la fertilité des sols (Gholami *et al.*, 2012). Il est reconnu que ces interactions sont dépendantes des racines vivantes ou du matériel végétal mort disponible (Barea *et al.*, 2005). Les microorganismes du sol ont une grande importance dans le cycle des nutriments et dans l'entretien de la santé et de la qualité du sol (Jeffries *et al.*, 2003). Elles sont impliquées dans les activités fondamentales qui assurent la stabilité et la productivité du système agricole et de l'écosystème naturel (Barea *et al.*, 2005).

La structure des racines et la composition des exsudats racinaires changent durant le développement de la plante ainsi qu'en fonction de conditions environnementales telles que la disponibilité de l'eau et la température. Par conséquent, la dynamique de la population des microorganismes rhizosphériques peut aussi se changer (Bertrand *et al.*, 2000).

1.4. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ; un groupe des bactéries bénéfiques qui sont également utilisés pour stimuler la croissance de la plante et augmenter le rendement des cultures (Saharan et Nehra, 2011). La plupart des PGPR sont libres ou associatives ce qui signifie qu'ils ne forment pas des structures symbiotiques telles que des nodules avec des plantes hôtes (Bent *et al.*, 2001).

Les PGPR sont classés en fonction de leurs activités fonctionnelles en :

- Biofertilisants : en augmente la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère.
- Phytostimulants : par la promotion de la croissance des plantes.
- Agents de biocontrôle: en luttant contre les maladies (**Antoun et Prévost, 2005**).

1.5. Biodiversité des PGPR dans la rhizosphère

Elles présentent une diversité de genres et d'espèces. Elles appartiennent majoritairement aux quatre phylums suivants: Proteobacteries, Firmicutes, Actinobacteries et Bacteroidetes (**Hugenholtz, 2002**). De nombreux genres bactériens incluent les PGPR, révélant des taxons très divers (**Kloepper, 1992**). Certains microorganismes, principalement des bactéries telles *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* (**Gray et Smith, 2005**) sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires.

1.5.1. Rhizobia

La mise en place d'une relation non spécifique des rhizobia avec les racines des plantes non légumineuses a favorisé les espèces de ce genre de devenir des PGPR. Outre leurs activités fixatrices de l'azote atmosphérique, les rhizobia contribues à l'amélioration de la disponibilité des phosphates pour la plante par mobilisation des formes organiques et inorganiques (**Saharan et Nehra, 2011**). Ainsi les rhizobia sont utilisés comme agent de biocontrôle depuis plus d'un siècle.

1.5.2. Les PGPR diazotrophes

Des bactéries libres fixatrices de l'azote sont préalablement utilisées pour la stimulation de la croissance des plantes (**Ahmed et al., 2008**).

1.5.2.1. *Azotobacter*

Azotobacter paspali, décrite par Dobereiner et Pedrosa (1987) est une bactérie aérobie stricte, non symbiotique, fixatrice de l'azote atmosphérique, isolée à partir de la rhizosphère de *Paspalum notatum*, une herbe tropicale qui possède une grande spécificité d'hôte (**Laradj Zazou, 2017**), *Azotobacter paspali* affecte positivement la germination des graines et leur développement, il est noter que l'inoculation des cultures de blé par ce genre augmente le rendement de 30% (**Saharan et Nehra, 2011**).

1.5.2.2. *Azospirillum*

Les espèces d'*Azospirillum*, isolées à partir des rhizosphères de plusieurs céréales à travers le monde principalement dans des régions tropicales et tempérées sont utilisées depuis les années 1970. Cette bactérie initialement sélectionnée par sa capacité fixatrice de l'azote atmosphérique représente un bon candidat PGPR (**Antoun et Prévost, 2005**).

1.5.3. *Bacillus*

Certaines espèces de ce genre sont diazotrophes, Ils ont la capacité de produire des phytohormones, des sidérophores et de l'HCN. Le genre *Bacillus megatorium* est très cohérent dans l'amélioration de différence paramètres racinaires (longueur de la racine et teneur en matière sèche de la racine) (**Saharan et Nehra, 2011**).

1.5.4. *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* a été décrit en 1894, englobe des bactéries ubiquitaires possédant une grande diversité, incluant des espèces saprophytes et parasites (**Migula, 1894**). Les *Pseudomonas sp* et les *Pseudomonas fluorescens* sont des bactéries omniprésentes dans le sol, l'inoculation des grains de pomme de terre par *Pseudomonas putida* provoque une augmentation du rendement jusqu'à 144% sur le terrain (**Saharan et Nehra, 2011**).

2. Les maladies fongiques

2.1. Les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes telluriques (fungi ou mycète) constituent un groupe d'organismes microscopiques hétérotrophes, ubiquitaires, présentes des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées (**Kirk et al., 2001**), provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes.

Sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée, par conséquence elles réduisent de façon importante la productivité des cultures causant des pertes économiques importantes (**Agrios, 2005**)

Dans le sol, la plupart des champignons phytopathogènes ne persistent sous forme mycélienne actives mais à l'état passif sous forme d'organes adaptés à la conservation tels que des sclérotés, des chlamydospores ou des oospores. Ce phénomène, dénommé fongistase, est lié à la présence dans le sol de substances inhibitrices de la germination des organes

fongique ou au manque des substrats nutritifs indispensables au développement des champignons. Si l'équilibre biologique du sol est modifié, en particulier par apport de substances organiques, les organes de conservation des champignons germent, mais le mycélium ainsi formé est ensuite plus ou moins rapidement lysé après avoir donné naissance ou non à des nouveaux organes de conservation (**Louvet, 1975**).

2.2. Les maladies des plantes

Une maladie de la plante peut être définie par une succession de réponses visibles ou invisibles à un organisme phytopathogène ou au changement environnemental inadéquat qui peut réduire la valeur économique, esthétique et biologique des toutes espèces.

Les maladies des plantes peuvent subdiviser en deux catégories : les maladies non parasitaires (non infectieuses, non transmissible) et les maladies parasitaires (infectieuses). La plupart des maladies des plantes sont dues à des champignons parasitaires peuvent pénétrer dans la plante directement et parfois à travers les blessures (**Alain, 2013**).

2.3. Les principales maladies fongiques des plantes

2.3.1. La fusariose

Une maladie qui touche les plantes cultivées notamment les palmiers (**Figure 02**), l'agent causal de cette maladie est le *Fusarium oxysporum* ; une fois que la parasite pénètre dans ces racines, il progresse toujours de bas en haut à travers le stipe vers le bouquet foliaire, en suivant le chemin parcouru par certains vaisseaux et induit des gommages et des thylles qui obstruent ces vaisseaux. Les contaminations peuvent se produire à toutes périodes de la vie de ces plantes. Les symptômes se traduisent par un jaunissement des jeunes feuilles et une croissance ralentie. Des fibres brunes peuvent être décelées sur une coupe d'un pétiole d'une feuille au cours de dessèchement. La mort du palmier peut intervenir 3 à 4 mois après l'apparition des premiers symptômes (**Louvet et al., 1970**).



Figure 02 : Palmier-Dattier atteint de la fusariose (Hakkou *et al.*, 2012 ; Zabbourdj, 2014).

2.3.2. Le mildiou

Une maladie causée par un endoparasite biotrophe obligatoire de la classe des oomycètes, le mildiou causé par le champignon *Phytophthora infestans* cet organisme peut causer des pertes considérables dans les cultures de pomme de terre (Platt, 2008). D'autre espèce *Plasmopara viticola* causé le mildiou ; une des principales maladies de vigne, pouvant non seulement affecter gravement la quantité et la qualité de la récolte mais aussi affaiblir la plante l'année suivante en cas de fort défoliation précoce (Dubuis *et al.*, 2012) (Figure 03).

Le développement de la maladie peut être très rapide quand la température est douces (11°C – 24°C) et quand la saison est humide cela peut détruire la plantation en quelques jours seulement et peut tuer le feuillage et les tiges durant la saison de croissance (Jean-Denis, 2005).

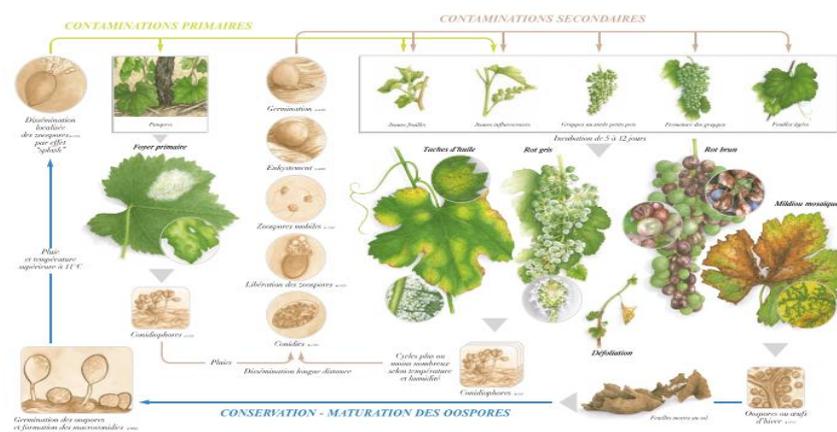


Figure 03 : Cycles de contamination de la vigne par *P. viticola* et diversité des symptômes occasionnés sur les organes végétatifs (Combiér, 2019).

2.3.3. La moniliose

Une maladie cryptogamique touchant les arbres fruitiers causée principalement par *Moniliophthora rareri* qui attaque les cacaoyers. La maladie se rencontre de 0 à 1000 m d'altitude, dans des zones sèches irriguées aussi bien que très humide, ainsi qu'une température ambiante et une aération pauvre et un excès d'obscurité, augmente l'intensité de la maladie (Thévenin et Trocmé, 1996).

Au repris de la pluie le champignon attaque les jeunes chérelles de petit pic de production à partir de l'inoculum primaire par des cabosses modifiées restées dans la cacaoyère. Environ deux mois après une importante source des conidies sera disponibles pour attaquer les jeunes cabosses de la grande récolte dès leur formation ainsi engendre un pic important de la maladie. La plus grande sensibilité est obtenue sur les fruits au moins de trois mois (sur tissu en croissance active), la germination des conidies est optimale à 24°C. Deux heures après, elle commence la mise en contact avec une pellicule d'eau et est complète en 6 à 7 h (Thévenin et Trocmé, 1996).

Les premiers symptômes se traduire par l'apparition de points huileux et la déformation de la cabosse suite au développement intercellulaire du champignon ; l'activité cambiale est alors stimulée. Ensuite des lésions de couleur brun-noir irrégulières vont rapidement envahir toute la surface du fruit, un mycélium blanc se développe 3 à 7 jours après, suivi rapidement par la formation d'un épais feutrage de spores dont la couleur évolue de crème à gris-brun en fonction de leur maturité. Les tissus sont désorganisés et détruits (Thévenin et Trocmé, 1996) (Figure 04).



Figure 04 : Les chérelles de cacao, les symptômes internes et externes de la maladie causée par *M.rareri* (Curtet, 2016).

2.3.4. Altenariose

Une maladie des taches brunes et la pourriture noire des fruits d'agrumes, causée par *Altenaria dauci*, un champignon nécrotrophe responsable des dommages aux produits agricoles au champ et en post-récolte, il attaque les feuilles, les tiges et les fruits (**Achetbi et al., 2021**).

La maladie se manifeste essentiellement en fin d'été mais des dégâts peuvent survenir dès le mois de mai et jusqu'à octobre si les conditions climatiques sont favorables. A l'automne après la récolte, l'*Altenaria dauci* se développe en saprophyte sur les résidus de culture dans une gamme de température allant de 8°C à 28°C, si l'humidité relative est supérieure à 96% ou en présence d'eau sur les surfaces des plantes (**Lecomte, 2013**).

Les premiers signes de l'altenariose sont des petites tâches jaune-brun à bord jaunes sur les folioles âgées. À un stade plus avancé, le feuillage devient brun-noir et dépérit (**Figure 05**). Une attaque précoce sur des cultures jeunes peut entraîner leurs pertes si elle pas combatte, alors qu'une attaque tardive réduit les rendements car les plantes essaient de compenser la perte de surface foliaire par l'émission de nouvelles feuilles, réduisant ainsi la dotation des racines. Le feuillage contaminé se dessèche ou pourrit, les tiges sont cassantes ce qui complique la récolte et entraîne des pertes. L'altenariose peut aussi causer des taches alvéolaires noires à la surface des racines et faire dépérir les jeunes plantes à la levée (**Frank et al., 2012**).



Figure 05 : Symptômes d'altenariose sur les feuilles de la carotte (**Benichou, 2011**).

3. La lutte biologique

D'après Milaire, la lutte biologique est l'utilisation des organismes vivants pour empêcher ou réduire les pertes ou les dommages causés par des organismes nuisibles (**Perron, 1999**). D'après drische et bellows (1996), la lutte biologique est un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénéicité ou compétition.

La lutte biologique qui est le contrôle d'un ravageur par un ennemi naturel (auxiliaire), est naturellement présente dans la plupart des écosystèmes. Elle peut être utilisée volontairement en agriculture entre autres, en remplacement des pesticides conventionnels. En comparaison à ces derniers, elle est beaucoup plus écologique mais également des couts d'application substantiellement plus élevés (**Lambert, 2010**).

3.1. Historique de la lutte biologique

La première utilisation référencée de la lutte biologique a été effectuée par les chinois, dans les environs de l'an 304 avant J.C. dans les vergers d'agrumes, les fermiers utilisaient des fourmis tisserandes (*Oecophylla smaragdina Fabricius*) indigènes qui consommaient une variété des ravageurs pour protéger les fruits (**Lambert, 2010**).

En 1840, le français Boisgiraud est le premier à tester la lutte biologique en plein champ. Il a utilisé des coléoptères comme les carabiques et les staphylins pour faire des lâchers en vue de limiter les pullulations des bombyx disparate (ou spongieuse), puis pour combattre l'invasion de *Phylloxera* de la vigne (appelé aussi pou de la vigne). Ces techniques très empiriques ont été utilisées partout dans le monde de manière assez limitée jusqu'à la fin de XIX^e siècle. Après la deuxième guerre mondiale, le DDT est développé et sont découverte ses propriétés insecticides. L'élaboration de d'autres pesticides chimiques puissants et peu coûteux a diminué l'intérêt pour la lutte biologique et c'est seulement quand des problèmes se sont présentés qu'elle est revenue au goût du jour. Les récentes directives européennes visant à diminuer et/ou interdire l'utilisation de divers pesticides de synthèse ont largement contribué à un grand intérêt pour les méthodes de la lutte biologique et au développement de programme de recherche de nouvelles méthodes et de nouveaux auxiliaires de lutte biologique (**Suty, 2010**).

3.2. Mécanismes d'action des bactéries impliquées dans la lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique (PGPR) s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'espace), l'antibiose et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

3.2.1. Compétition pour l'espace et nutriments

Dans certains cas une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques ce qui réduit le nombre des sites habitables pour les microorganismes pathogènes et par conséquent leurs croissances (**Piano et al., 1997**). Dans certains cas les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer le pathogène fongique par une compétition pour le carbone et les sources d'énergies. Les PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (**Haas et Défago, 2005**). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (**Jofré et al., 2004**), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote(**Berggren et al., 2001 ; Gupta Sood, 2003**).

Un cas particulier de compétition pour nutriment concerne la compétition pour le fer ; les microorganismes ont la capacité de synthétiser des composés s'appropriant les ions ferriques présents dans la rhizosphère et les rendent indisponibles pour les champignons pathogènes entraînant une diminution de sa croissance (**Cherif, 2018**).

3.2.2. Antibiose et parasitisme

L'antibiose est le mécanisme le plus connu et peut être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogène dans les tissus de la plante hôte, il consiste en une inhibition directe de la croissance de pathogènes via la production des métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (**Cherif, 2018**). Ces métabolites secondaires sont des molécules bioactives à faible poids moléculaire tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), et la phénazine qui agissent comme des facteurs contre l'attaque des pathogènes. De même certaines souches de lutte biologique peuvent produire des enzymes telles que protéase, glucanase, cellulase et lipase pouvant lyser les cellules fongiques (**Kenneth et al., 2019**).

3.2.3. La résistance systémique induite

Lors de phénomène appelé « résistance systémique induite », des bactéries non pathogènes peuvent confère à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation des mécanismes de défense systémique. Cette immunité s'initie suite à la perception par la plante des molécules dites « elicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire. Ce phénomène fait appel séquentiellement à la reconnaissance par l'hôte d'eliciteurs produits par l'agent inducteur, à l'émission d'un signal requis pour propager l'état induite de manière systémique et à l'expression des mécanismes sensu stricto qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante. Les événements moléculaires associés à RSI sans de mieux en mieux connus. Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (**Glazebrook et al., 2003**).

Cependant ces vois s'interpénètrent et agissent avec d'autres mécanismes pour former un réseau de régulation modulable permettant à la plante d'initier une réponse défensive spécifique en fonction de la nature du pathogène (**De Vos et al., 2005**).

3.3. Mécanismes d'action impliqués dans la promotion de la croissance des plantes

3.3.1. La fixation d'azote

L'azote (N) est un élément vital pour toutes les formes de vie. L'élément nutritif le plus important pour la croissance des plantes, des nucléotides, des lipides membranaires et des acides aminés. Il constitue le quatrième plus importante masse sèche des plantes (**Kenneth et al., 2019**).

La fixation d'azote par les microorganismes vivant liberent, en association avec la plante ou vivant en symbiose représente la source la plus importante d'azote dans les écosystèmes. La plus parts des sols dans le monde sont pauvres en azote et les applications d'engrais azotés sont essentielles pour atteindre un rendement maximal (**Zerrouk, 2017**).

Les PGPR les plus connus pour leurs capacités de fixé l'azote sont : *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Diazotrophicus* (**Saharan et Nehra, 2011**), qui catalysent la réduction enzymatique de l'azote atmosphérique en ammoniac en utilisent un système conservé hautement complexe appelé la nitrogénase (**Kenneth et al., 2019**).

3.3.2. Solubilisation de phosphate

En plus de la fixation biologique de l'azote, la solubilisation de phosphate est également importante. Le phosphore est un élément largement distribué dans la nature sous deux formes organiques et inorganiques. C'est le deuxième nutriment limitant la croissance des plantes, il joue un rôle important dans les processus métaboliques majeur dans les plantes (photosynthèse, respiration, stockage et transfert d'énergie pendant la division cellulaire et l'élongation).

Les bactéries solubilisant le phosphate (PSB), telles que *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholdria*, *Serratia*, *Enterobacter* sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème. Les microorganismes permettent la disponibilité du P pour les plantes par minéralisation du P organique du sol et par solubilisation des phosphates précipités. Le principal mécanisme de solubilisation des phosphates est la production d'acides organiques. Les acides gluconiques et 2-cétogluconiques sont les plus fréquemment rencontrés. Les acides glycolique, oxalique, malonique et succinique, ont également été identifiés. Certaines souches sont capables de produire en plus des mélanges d'acides lactiques, isovalérique, isobutyrique et acétique. La libération de ces acides mobilisant le phosphore par l'intermédiaire d'interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate conduisent à l'acidification des cellules microbiennes et de leurs environnements et par conséquent la libération du phosphate sous forme ionique. La libération des groupements phosphates liés à la matière organique est assurée par l'action des phosphatases (Kenneth *et al.*, 2019 ; Saharan et Nehra, 2011).

3.3.3. Production des sidérophores

Le fer est un élément de croissance essentiel pour tous les organismes vivants. La rareté du fer biodisponible dans les habitats du sol et sur les surfaces des plantes provoque une compétition féroce. Dans des conditions limitant le fer ; les PGPR produisent des composés de faible poids moléculaire appelés sidérophores, en grec (transporteur de fer) (Saharan et Nehra, 2011).

Les PGPR produisent des ligands ferriques spécifiques chélater le fer agissent comme agent de piégeage pour surmonter l'insolubilité de fer et réguler son absorption. Les sidérophores ont été classés en deux groupes ; les hydroxamates et les catécholates, une grande variété de sidérophores est produite par les bactéries et les champignons et leurs nombres

augmentent au fur et à mesure que de nouveaux sidérophores sont identifiés (**Gupta et Gopal, 2008**).

3.3.4. Production des phytohormones

Les phytohormones régulent l'ensemble des activités cellulaires et jouent un rôle important dans l'organisation de nombreuses voies de transduction de signal lors de la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques. Les PGPR peuvent modifier l'architecture racinaire et favoriser le développement des plantes avec la production des différentes phytohormones comme : l'AIA (Acide indole-3- acétique : auxines), les cytokinines et l'éthylène se sont des biomolécules produites de manière endogène et exogène (**khan et al., 2020**).

3.3.4.1. Acide Indole-3-Acétique

L'AIA être la première phytohormone découverte par Darwin (1880), est l'hormone le plus important du groupe des auxines (**Ashrafuzzaman et al., 2009**) et le plus quantitativement produit par les PGPR, il fonctionne comme molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes (**Ryu et Patten, 2008**), la fonction de l'AIA se traduit par la délimitation de tissu vasculaire, l'initiation des racines latérales et adventifs ainsi la stimulation de la division cellulaire (**Kenneth et al., 2019**).

La biosynthèse de l'AIA est affectée par plusieurs facteurs environnementaux. En particulier, il y a une augmentation de sa production dans des conditions de PH élevé et en présence de plus grandes quantités de tryptophane (**Spaepen et al., 2009**). L'AIA est généralement produit sous forme de métabolite secondaire par les PGPR en utilisant les substrats riches exsudés par les racines des plantes. L'AIA et ses analogues actifs dans la plupart des plantes sont synthétisés à partir du tryptophane principal précurseur. Les exsudats des racines sont la source principale du tryptophane dans le sol (**Spaepen et al., 2007**).

3.3.4.2. Cytokinines

Les cytokinines sont des aminopurines N⁶-substituées qui influencent sur les processus physiologiques et le développement des plantes tels que la division cellulaire, la germination des graines, le développement des racines, l'accumulation de chlorophylle, l'expansion des feuilles et le retardement de la sénescence. Les cytokinines produites par les micro-organismes de la rhizosphère qui vivent à proximité de la racine sont également des

substances qui peuvent avoir un effet positif sur la santé de la plante. Cependant, les PGPR, y compris *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus*, et *Pseudomonas spp* ont été signalés comme synthétisant des cytokinines en culture pure (**García de Salamone *et al.*, 2001**).

3.3.4.3. Ethylène

L'éthylène est une phytohormone unique avec une large gamme d'activités biologiques. Phytohormone régulatrice de la croissance des plantes à des concentrations modérées impliquent dans l'élongation des racines, la germination des grains et murissement des fruits. A des concentrations élevés, il peut être nocif car dans les conditions du stress la plante augmente la production de l'éthylène ce qui induit à l'inhibition de leur croissance (**Kenneth *et al.*, 2019**). Pour surmonter ces conséquences alarmantes, une enzyme 1-acide aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) désaminase est nécessaire. Le rôle de ce biocatalyseur est de dégrader l'ACC de la plante, qui est le précurseur direct de la synthèse de l'éthylène dans la plante (**Kenneth *et al.*, 2019**).

3.4. Les agents utilisés en lutte biologique

Les souches destinées à la lutte biologiques contre les microorganismes telluriques doivent disposer non seulement d'une activité mycoparasitaire spécifique mais d'une bonne aptitude à la compétition saprophytique dans le sol (**Mouria *et al.*, 2005**).

3.4.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est souvent retrouvé en abondance dans la rhizosphère de nombreuses plantes qui est riche en sécrétions végétales et qui fournissent des nutriments aux bactéries. Cette abondance de nutriments permet aux *B.subtilis* de coloniser les racines et ainsi favoriser la croissance de la plante. Étant donné que cet environnement supporte la colonisation de *Bacillus subtilis* sur les racines, il y a formation de biofilm à la surface de celle-ci (**Carrier, 2018**).

Cette bactérie permettrait également le contrôle biologique de *Sclerotinia sclerotiorum* sur le soja et d'inhiber le développement de *radicis lucopersici* chez la tomate. Aussi peuvent avoir un effet inhibiteur sur les agents pathogènes par la production de lipopeptides antibiotiques, parmi ces lipopeptides: la subtiline et fengycines auraient un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des champignons, des utérines par leurs structures à queue hydrophobe provoquent des fuites de contenu cellulaire chez l'agent pathogène en s'insèrent

dans la membrane ce qui crée des ports, ainsi que les bacillomucines auraient à la fois un effet sur la paroi et sur la croissance mycélienne et les surfactines sont impliqués dans la formation de biofilm et agissent à titre de surfactants (**Carrier, 2018**).

3.4.2. *Burkholdria phytofirmans*

La bactérie *Burkholdria phytofirmans* souche PsJN a été isolée en 1991 de la racine d'oignon. La présence de cette bactérie dans la plante lui confère une résistance aux maladies fongiques, sans qu'il y ait besoin d'autres traitements phytosanitaires. Elle produit des homoserine lactone, molécule impliquée dans la colonisation racinaire des plantes. Elle pénètre dans la plante où elle trouve un environnement favorable à son développement sans affecter le fonctionnement de la plante hôte.

La bactérie n'a pas besoin d'être présente dans tous les organes pour améliorer la tolérance de la plante à la maladie dès qu'elle est présente dans les racines les autres organes présentent un certain niveau de protection car elle implique une sécrétion du signal véhiculé dans toute la plante. Des températures anormales induisent des changements physiologiques et biochimiques entraînent une perte de rendement, des études ont montré que l'inoculation bactérienne avec la souche PsJN de *B.phytofirmans* augmente les paramètres de croissance de la tomate tels que le teneur en chlorophylle et les échanges gazeux à des températures normales et élevées (25 et 32c°) (**Barka et al., 2013 ; Issa et al., 2018**).

3.4.3. *Pseudomonas fluorescens*

Les *Pseudomonas fluorescens* spp ont été étudiées depuis des décennies pour leurs effets bénéfiques sur la stimulation de la croissance et la suppression des maladies telluriques des plantes (**Bakker et al., 2007**). Ces rhizobactéries montrent des multiples propriétés : l'utilisation efficace des exsudats racinaires, la colonisation et la multiplication dans la rhizosphère, la spermosphère et à l'intérieure de cellule végétale (**Weller et al., 2002**). La colonisation des systèmes racinaires par cette bactérie implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption sur les racines et enfin une compétition pour les substances nutritifs (**Jacques et al., 1993**). Dans des conditions de carence en fer, les *Pseudomonas* synthétisent les sidérophores qui chélatent le fer, cette chélation réduit la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes et par conséquent provoque une diminution de leur croissance (**Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieaux et al., 2003 ; Suty, 2010**).

Les *Pseudomonas fluorescens Spp* peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acides indole-3-acétique (**Patten et Glick, 2002**), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes et l'une des principales raisons de l'augmentation de rendement (**Khakipour et al., 2008**).

4. Les biopesticides microbiens

Un biopesticide est formé de « pesticide » qui veut dire « tuer les pestes » et du préfixe « bio » qui signifie « vie » en grec. L'antinomie de ces deux termes souligne que les biopesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont basés sur l'utilisation d'agent ou facteurs liés à la vie.

Les biopesticides peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou un de ses dérivés, ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes), ou des micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi des substances d'origines naturelles telles que des extraits végétaux (**Thakore, 2006**).

Les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatible que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non cibles de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus sont souvent efficace en faible quantité et leurs activités protectrices peuvent relever les mécanismes multiples et déclenches donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IMP) (**Fravel, 2005 ; Thakore, 2006**), les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse n'est actuellement disponible. Ces agents microbiens sont utilisés à travers le monde dans les champs et dans les serres (**Ji et al., 2006; Lee et al., 2006; Minuto et al., 2006; Saravanakumar et al., 2007**), pour combattre un grand nombre des maladies causées par des pathogène du sol, foliaires ou de post-récoltes (**Akram, 2008**).

4.1. Le marché des biopesticides

En 2000, le marché des biopesticides était à l'état embryonnaire, la proportion des biopesticides vendus versus les pesticides chimiques n'atteignait que 0,25%. Après cinq ans, le marché des biopesticides représentait 2,5% du marché global des pesticides qui était équivalent d'environ 26,7 milliard USD. En 2006, Arysta life science (ALS) a estimé que ce marché était de 541 millions \$ alors qu'en 2008 il a atteint 750 million USD (3% du marché global des pesticides) selon Global Industry Analysts (GIA). Le marché mondial des biopesticides est évalué à 1,3 milliards \$ en 2011 et devrait atteindre 3,2 milliards USD d'ici 2017. L'Amérique du Nord a dominé le marché mondial des biopesticides représentant environ 40% de la demande de biopesticide mondial en 2011. L'Europe devrait être le marché à forte puissance dans un avenir proche en raison de la réglementation stricte pour les pesticides et la demande croissante des produits biologiques. Le marché de biopesticides est très en dessous de celui des produits phytosanitaires chimiques. Cependant il est en constante croissance. En 2008 aux USA et en Europe de l'ouest il a été estimé à 594,5 millions de dollars. Avec un taux de progression annuel de 8% il est prévu que ce marché atteindra 1082,0 millions de dollars d'ici 2015. En Europe de l'ouest le prix des biopesticides est en général 25 fois plus important que celui des produits sanitaires chimiques. Selon les économistes cette différence devrait s'accroître car une baisse des prix des produits conventionnels est prévue alors que les prix de vente des biopesticides microbiennes stagneraient (Deravel *et al.*, 2013) (Figure 06).

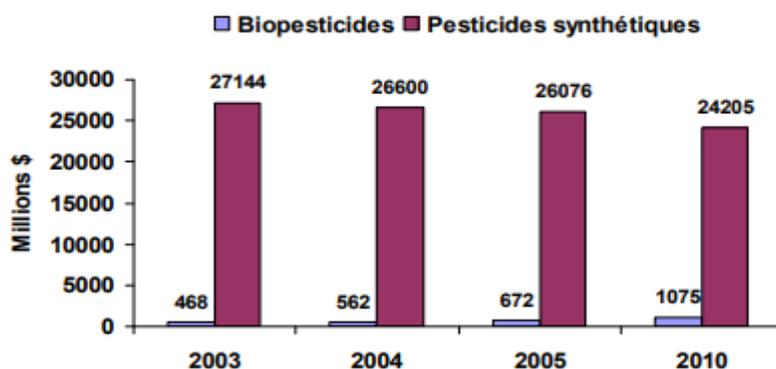


Figure 06 : Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010(Thakore, 2006).

Parmi les biopesticides microbiens, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial. Plus de vingt-cinq produits microbiens (13 bactéries et 12 champignons) sont actuellement inscrits à l'EPA et parmi eux, 36% ont été enregistrés dans les cinq dernières années (**Deravel *et al.*, 2013**) (**Tableau 01**).

En Europe et dans la majorité des pays, les produits phytosanitaires doivent être homologués avant leur mise sur le marché et leur utilisation. Les critères d'approbation d'un produit peuvent varier d'un pays à l'autre en fonction de la législation, de l'époque, des avancées scientifiques et des effets du retrait de la vente de certains d'entre eux (**Deravel *et al.*, 2013**).

Tableau 01 : Les microorganismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (US EPA. Office of Pesticide Programs, 2009).

Agent de biocontrôle	Organismes ou maladies ciblées	Cultures concernées	Méthode d'application
<i>Bacillus licheniformis</i> SB3086	Maladies des taches foliaires et de la brûlure	Gazon ornementale Pelouses Pépinières et serres	Une dilution de produit novozyme biofongicide green releaf TM 710-140 est vaporisé sur les feuilles ou appliqué sur le sol
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> strain 63-28	<i>Puthium spp</i> <i>Fusarium oxysporum</i> Pourritures des tiges et des racines	Légumes cultivés dans des serres	Le produit est impliqué en trempant le sol de plantes contenues
<i>Bacillus pumilis</i> GB 34	<i>Rhizoctonia</i> <i>Fusarium</i>	Graine de Soja	Le fongicide biologique est appliqué sous forme de bouillie aqueuse aux graines de soja par les entreprises utilisent un équipement mécanique spécifié pour le traitement des semences
<i>Bacillus subtilis</i> GBO3	<i>Rhizoctonia Fusarium</i> <i>Altenaria</i>	Coton, arachides, blé, orge, pois, haricots	Le produit utilisé comme semences en mélangeant le produit fongicide en poudre <i>B. subtilis</i> avec les graines au moment de la plantation
<i>Bacillus subtilis</i> MBI600	Pourriture du collet Pourriture des racines	Haricot, maïs, les pois, le soja, coton	Traitement dans un mélange de lisier composé du produit de semences, des insecticides ou d'autre fongicide et de l'eau. Le mélange est utilisé dans 72h
<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	Le mildiou Les taches précoces des feuilles	Les cerises, le raisin, les légumes à feuilles, le poivron, la pomme de terre, tomate et noix	La souche est vendue sous forme de poudre mélangée à arroser et pulvériser sur le feuillage à l'aide d'équipements terrestres
<i>Pseudomonas syringae</i> ESC-10	Les pourritures qui attaquent les fruits indiqués pendant stockage	Les pommes, les poires, les citron, les oranges, le pamplemousse	Une fois le fruit récolté et nettoyé sa surface et exposé à une solution contenant la souche par pulvérisation
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A506	Pourriture des grappes dans les raisins	Certain culture fruitières des cultures de pomme de terre et tomate	Deux à quatre application de pulvérisation au début de la saison de la croissance

CHAPITRE II

Approche méthodologique

Dans le but de déterminer l'effet des PGPR sur le champignon phytopathogène (*Fusarium oxysporum*), le protocole suivant doit être réalisé :

1. Etude de la souche antagoniste

1.1. Echantillonnage

La couche superficielle du sol (5cm) doit être éliminé puis un échantillon de 100g doit être prélevé à proximité du système racinaire, et met dans des sacs en plastique. Il est directement analysé ou conservé à 4°C pendant 6 h au maximum (**Bounoua, 2008**).

1.2. Isolement et purification des bactéries

Une solution mère doit être préparée par la dissolution de 10g du sol rhizosphérique dans un erlenmeyer contenant 90 ml d'eau distillée stérile puis secoué pendant 30 min sur un agitateur rotatif. Une dilution décimale dans l'eau distillée stérile doit être réalisée. Après 0,1 ml de chaque dilution doit être étalé sur une boîte de Pétri contenant du milieu GN (**Annexe 01**) et incubée pendant 24h à une température optimale. Après l'incubation des repiquages successifs des colonies obtenues doit être effectués sur milieu de culture jusqu'à l'obtention de culture pure (**Bounoua, 2008**).

1.3. Identification bactérienne

Pour une orientation préliminaire de l'identification, les caractères morphologique (la forme, la taille, la couleur, l'opacité, la surface) et microscopique ; l'observation microscopique (**Annexe 02**) et la coloration de Gram (**Annexe 03**) (permet de distinguer deux grands groupes bactériens : des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, avec la détermination de la forme et l'arrangement) et des tests biochimique tels que teste de catalase et teste d'oxydase, doit être réalisé par méthode classique (Manuellement sur des tubes à vise) ou par l'utilisation des galerie API (**Bouras, 2018**).

Une identification moléculaire dépend de l'extraction et l'amplification par PCR de l'ADNr 16s, les produits de PCR obtenues ont visualisés sur électrophorèse puis purifié à partir de gel d'agarose et séquencés par l'utilisation de séquenceur automatique (**Laradj Zazou, 2017**).

2. Antagonisme in vitro

La détermination de l'antagonisme des bactéries doit être effectué in vitro sur milieu potato dextrose agar (PDA) (**Annexe 01**), un disque de gélose de 6 cm de diamètre de la culture de chaque champignon est déposer sur la gélose PDA en boîte de pétrie, 2 ul de chaque culture bactérienne de 10^8 UFC / ml est ensemercer en spot à 3 cm de la souche fongique. Un témoin négatif de la souche fongique est tester en absence de bactéries. Les boîtes doivent être incubées à 25 °C pendant 4 jours. L'activité antifongiques doit être évaluée par la mesure du pourcentage d'inhibition calculer par la formule suivante : $1 - (a/b) * 100 \%$ avec

- a : La distance entre le champignon et la souche bactérienne.
- b : La distance entre le champignon et le bord de la boîte témoin. (**Sharma et al., 2012**) (**Figure 07**).

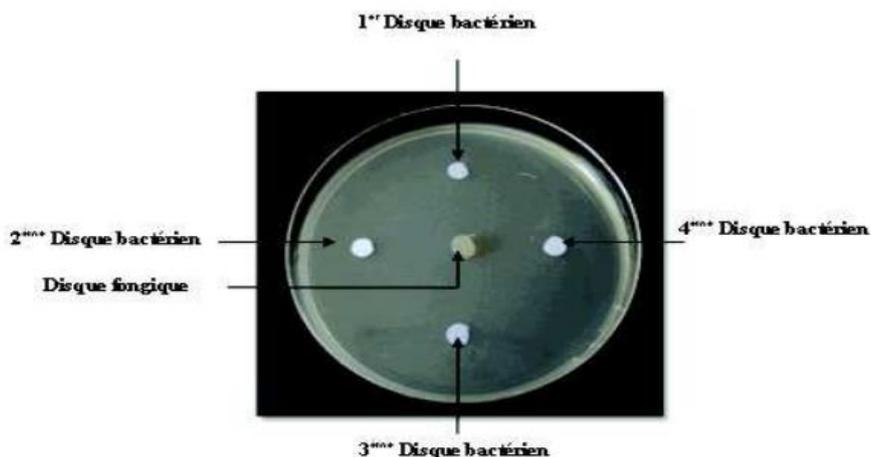


Figure 07 : Essai d'antagonisme entre souche PGPR et *Fusarium oxysporum* (**Boukerma, 2012**).

3. Antagonisme in vivo

3.1. Préparation et traitement des graines de tomates

Les grains de tomate (*Lycopersicon esculentum*) doit être désinfectées dans le premier temps par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 2,4% pendant 5 minutes, rincées avec de l'eau distillée stérile et séchées avec l'air filtré pendant 2h. Les souches bactériennes sélectionnées doit être ensemencées en BN (**Annexe 01**), incubées à 30°C pendant 24h et ajustées à une densité optique initiale de 1, mesurée à une longueur d'onde 570 nm. Les graines de tomate doit être inoculés par immersion avec les suspensions

bactériennes pendant une heure. De plus, les graines des lots « témoins » doit être immergées dans l'eau physiologique stérile (**Annexe 01**) pendant 1h (**Laradj Zazou, 2017**).

3.2. Préparation des suspensions fongiques et infection des grains de tomate par l'agent phytopathogène

Une suspension fongique doit être préparée à partir de culture sur milieu PDA de *Fusarium oxysporum* grattant la surface du champignon à l'aide d'un râteau de pipette pasteur stérile, les spores doivent être collectées par remplissage des boîtes de pétri avec de l'eau distillée stérile puis récupérées dans des béchers stériles après un intervalle de temps d'une heure. Des graines de tomates inoculées avec des suspensions bactériennes doit être récupérées et placées dans des béchers contenant une suspension fongicide (**Laradj Zazou, 2017**).

3.3. Semis des gaines traitées

Le semi des graines inoculée avec les souches sélectionnées promotrice de la croissance, infectées par *Fusarium oxysporum* doit être effectué dans les godets en plastique de 3 trous pour 3 graines contenant du terreau humide et stérile. Ensuite, les pots doivent être placés dans une chambre de croissance à 27°C avec une photopériode longue soit 16 heures de lumière par jour. La lecture doit être effectuée 24 jours après la plantation des plantes pour explorer l'efficacité de traitement bactérien et fongique (**Laradj Zazou, 2017**).

Chapitre III
Etude Comparative des Résultats
Antérieurs

1. Origine des résultats : Une étude comparative des travaux antérieurs a été réalisée sur l'effet antagoniste des PGPR vis-à-vis l'agent phytopathogène *F.oxysporum* (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Etude comparative des travaux sur l'effet antagoniste des PGPR vis-à-vis le champignon phytopathogènes *Fusarium oxysporum*.

Auteurs	(Syed Nabi <i>et al.</i> , 2021)	(Bouznad et Bellahcene, 2015)	(Rakotoarimanga <i>et al.</i> , 2014)
PGPR	<i>Bacillus aryabhatai</i> SRB02	<i>Pseudomonas spp</i> <i>Bacillus spp</i>	Actinomycètes
Plante (<i>in vivo</i>)	Deux variétés de tomate (sensibles et résistantes)	Tomate	Tomate Concombre Haricot

2. Isolement des bactéries

Rakotoarimanga *et al.*, (2014), ont isoler 87 souches d'actinomycètes à Madagascar dont 35 proviennent du sol rhizosphérique de tomate, 38 de celui de l'haricote et 14 de celui de concombre.

Bouznad et Bellahcene (2015), ont isoler 109 souches de trois niveaux de la rhizosphere des zones semi-arides à l'ouest de l'Algérie ; les souches rhizosphériques étaient 23%, tandis que les souches épiphytes et endophytes étaient représentées par 22% et 40% respectivement, selon les tests morphologiques et biochimiques, 43% de nombre total a été identifié comme *Pseudomonas sp* et 56% appartenant à l'espèce *Bacillus*.

Concernant Syed Nabi *et al.*, (2021), *B. aryabhatai* SRB02 a été isolé précédemment de la rhizosphère d'un champ de soja dans la région de Chung Cheongbuk-do en Corée du Sud.

3. Antagonisme in vitro

L'étude de l'activité antifongique des souches sélectionnées promotrices de la croissance des plantes est mise en évidence in vitro par la mesure de la zone d'inhibition formée autour de champignon inoculé sur le milieu de culture PDA.

D'après Rakotoarimanga *et al.*, (2014) parmi les 87 isolats, 24 s'avèrent antagonistes de l'isolat de *Fusarium oxysporum*. Les taux d'inhibition de la croissance radiale de *F.oxysporum* par ces actinomycètes antagonistes varient entre 14% et 60%. L'actinomycète Ac66 isolé du sol rhizosphérique d'une plante de haricot présente le taux d'inhibition le plus élevé avec 60,52%. Ces résultats obtenus n'ont pas élucidé les mécanismes par lesquels ces isolats d'actinomycètes ont pu inhiber le développement de *Fusarium* phytopathogène. Certains auteurs ont déjà illustré que l'inhibition de l'action de *Fusarium* est due à la production des antibiotiques par l'antagonisme.

Les résultats de Bouznad et Bellahcene (2015) ont montré que le taux d'inhibition de la croissance du *Fusarium* par les souches isolées de la partie rhizosphérique varie de 0,23% à 77,78%, dont les souches les plus performantes sont les suivantes : *B. stearothermophilus*, *B. megaterium*, *P. fluorescents* et *B. sphaerecus*.

Les résultats de Syed Nabi *et al.*, (2021) ont révélé que le PGPR *Bacillus aryabhatai* a pu inhibé de manière significative la croissance *Fusarium oxysporum*.

Ces résultats est affirmé par Tabbene *et al.*, (2009) qui ont rapporté que les espèces de *Bacillus* pouvaient produire des antibiotiques peptidiques en abondance, tandis que Zhang *et al.*, (2013) ont découvert que les espèces de *Bacillus* pouvaient synthétiser plusieurs lipopeptides ayant des activités spécifiques contre les champignons phytopathogènes. Parmi ces lipopeptides, la surfactine, la fengycine, la polymyxine et la bacitracine (**Ansari et Mahmood, 2019**). Ces métabolites peuvent agir sur le champignon par l'inhibition de germination ou en lysant le mycélium (**Bounoua, 2008**).

Selon les résultats obtenus par l'étude de Bouznad et Bellahcene (2015), la majorité des souches isolées de la rhizoplane ont montré un effet inhibiteur allant de 40% à 56,56%, les plus actives d'entre elles étaient *Bacillus circulans* et *Bacillus polymixa* avec un taux de 56,56%. Les souches endophytes ont montré des activités plus élevées que celles présentées par les souches rhizosphériques ou épiphytiques, les plus importantes d'entre elles ont été les suivantes : *Bacillus laterosporus* et *Bacillus brevis* avec un pourcentage d'inhibition de 78% et 73,11% respectivement. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Yang *et al.*, (2011) qui a trouvé que sur 72 souches isolées de la rhizosphère de la tomate, 48 isolats ont un taux d'inhibition compris entre 50 % et 78 %, ce qui est affirmé par Axelood et Radley (1991) qui ont montré que 96 souches de PGPR inhibent la croissance du *F.oxysporum* in vitro (**Achbani et al., 2003**).

Dandurishvili *et al.*, (2011) ont identifié de nouveaux antibiotiques, à savoir l'acide D-gluconique, le 2-hexyl-5-propyl résorcinol et les substances volatiles 2,3-butanediol, 6-pentyl- α -pyrone qui sont produits par les microbes endophytes facilitant une antibiose plus rapide (Ansari et Mahmood, 2019).

Le genre *Bacillus* est le plus abondant dans la rhizosphère et l'activité PGPR de certaines de ces souches est connue depuis de nombreuses années (Saharan et Nehra, 2011).

A partir de ces résultats, on déduit que les PGPR ont une efficacité potentiel vis-à-vis l'agent phytopathogène *F.oxysporum* et les *Bacillus* sont classés comme étant les meilleurs candidats.

La différence entre le pourcentage d'inhibition des souches suggère que le mode d'action de métabolite produit par les isolats peut varier, mais aussi que les bactéries sont taxonomiquement différentes, de plus comme le milieu PDA riche en nutriments utilisé dans l'expérience de l'antagoniste in vitro, la compétition peut être exclu comme le mode d'action de ces isolats (Bounoua, 2008).

4. Antagonisme in vivo

Selon l'étude de Rakotoarimanga *et al.*, (2014) pour les trois types de plantes (tomates, concombres et haricots), les jeunes plantes dont les graines n'ont pas été enrobés avec l'actinomycète Ac66 mais contaminés par *Fusarium oxysporum* ont montré un taux de mortalité significativement élevé. En effet, 80% des jeunes plants de tomates, 68% des jeunes plants de concombre et 72% des jeunes plants d'haricot sont morts. Par contre les plantules traitées avec la souche d'actinomycète Ac66 présentent un taux de mortalité de 20, 20, 12% respectivement sachant que le taux d'amélioration de la biomasse aérienne est de 0,85 ; 0,93 et 1,03% respectivement chez les trois plantes.

On déduit que les actinomycètes peuvent réduire les maladies sur diverses plantes cultivées alors que la souche actinomycète Ac66 isolée de la plante d'haricot est plus performante que les autres souches isolées de la plante de tomate et concombre.

Selon l'étude de Bouznad et Bellahcene (2015), sept isolats de PGPR ont montré une augmentation de la croissance de la plante en termes de longueur des racines, longueur des pousses et poids sec. Le pourcentage le plus élevé d'augmentation du poids des racines par rapport au témoin a été observée avec *Pseudomonas sp* (141%), suivi par *Bacillus circulans*

(96%), cette dernière a un effet positif sur la longueur des pousses. Les deux souches (*Pseudomonas sp* et *B. circulans*) sont épiphytes et sont de grands producteurs d'AIA, ce qui ressemble aux résultats obtenus par Lemanceau (1992) où *P. fluorescens* a produit des substances de croissance.

D'après Bouznad et Bellahcene (2015), l'étude de pourcentage d'augmentation du poids sec des pousses est moins affecté, il varie entre 21% et 58% ; le pourcentage d'augmentation le plus élevé a été enregistré avec *Pseudomonas sp* (57,98%) suivi de *B. circulans* (46,70%). La longueur des pousses est le paramètre le moins affecté par l'inoculation des isolats, elle varie de 19cm à 28,81cm.

On déduit que le PGPR *Pseudomonas sp* a un intérêt potentiel en tant qu'agent de lutte biologique.

Philippe *et al.*, (1993) ont montré que *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* ont une action potentiel vis-à-vis la fusariose car ils occupent des sites d'infection par colonisation de rhizosphère, leur action n'est pas active seulement sur la plante de tomate ce qui est affirmé par Scher et Baker (1982) et Dupler et Baker (1984) qui ont montré que *Pseudomonas putida* ajoutée à un sol infesté, arrête les attaques des fusarioses du lin, du radis et du concombre. Concernant leurs mécanismes d'action ; les recherches menés en France dans le sol de Châteaurenard résistants permettent de montrer que les mécanismes sont basés sur le phénomène de compétition, de même Scher et Baker(1982) ; Lemanceau *et al.*, (1993) ont montré que la réduction de la croissance des tubes germinatifs des pathogènes est due à la compétition pour le fer ferrique ; Les pyoverdines des *P. fluorescens* forment avec le fer des complexes beaucoup plus stables que les sidérophores produits par les *Fusarium* (fusarinines), ces molécules bioactives ont une forte affinité pour les ions ferriques (Fe^{3+}), le fer chélaté par les pyoverdines est transporté à l'intérieure de la cellule bactérienne et réduit en Fe^{2+} , est alors ils est indispensable pour le pathogène (Achbani *et al.*, 2003).

D'après les résultats de Syed Nabi (2021), *Bacillus aryabhatai* SRB02 a considérablement favorisé la croissance des plantes et a réduit de manière intéressante la maladie chez les cultivars de tomate tolérants et sensibles.

Les caractéristiques liées à la croissance des plantes tolérantes aux maladies ont été significativement améliorées lorsqu'elles ont été appliquées avec *B. aryabhatai* seule. La hauteur de la plante (HP) a été améliorée de 37,4 %, tandis que la longueur des racines (LR) a

été améliorée de 26,8 % par rapport aux plantes témoins traitées de l'eau. D'autres caractères, notamment le poids frais (FW) de semis, le poids sec (DW) de semis ont également été améliorés de 15,3 %, 23,3 % respectivement.

Une tendance similaire a également été observée lorsque les plantes tolérantes ont été traitées avec le pathogène et la souche SRB02 ensemble, par rapport aux plantes traitées par le pathogène ; Le HP, le LR, FW et DW de tomate ont été améliorés de 124 %, 6,4 %, 15,8 % et 42,3 % respectivement.

La souche SRB02 a également amélioré la croissance des plantes sensibles aux maladies avec ou sans co-traitement par l'agent pathogène. La HP des plantes sensibles aux maladies a été améliorée de 14,1 % avec l'application de la souche SRB02 par rapport aux plantes témoins traitées à l'eau ; cependant, l'augmentation du HP était significativement plus importante (105,7 %) dans les plantes traitées avec la souche SRB02 par rapport aux plantes traitées par des agents pathogènes.

On déduit que l'application de *Bacillus aryabhatai* souche SRB02 a amélioré le niveau de tolérance aux maladies des plantes infectées.

Des études antérieures ont rapporté que les bactéries du genre *Bacillus* peuvent produire des substances favorisant la croissance des plantes. Par exemple *B. aryabhatai* SRB02 a produit 1,5 ng/100 ml de cytokinine, 2 ng/100 ml d'acide abscissique, 2,25 ng/100 ml de gibbérellines et 5,7 µg/ml d'AIA (**Intham et al., 2021**).

Les résultats obtenus montrent l'importance des souches sélectionnés dans la croissance des plantules de tomate, ils montrent également leur effet protecteur contre les bio-agresseurs et leur capacité inhibitrice de la croissance des souches phytopathogènes qui affectent la plante de tomate.

Les souches d'actinomycètes, *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp* ont la capacité de produire des métabolites secondaires, ce qui est traduit par l'activité antifongique vis-à-vis le champignon phytopathogène, cette activité se manifeste par des zones d'inhibition.

L'effet bénéfique de la culture des graines traitées avec les souches de *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp* et les actinomycètes, nous a permis de montrer l'action stimulatrice de ses dernières sur la croissance des plantes. Ce qui se traduit dans le développement des parties racinaires et aériennes. L'effet est aussi remarquable sur le poids frais et le poids sec.

Conclusion

La rhizosphère est la région du sol directement formée et influencée par les racines et les micro-organismes associés, cet environnement particulier comprend une microflore microbienne qui inclut autant des micro-organismes bénéfiques que pathogènes. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, connues sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) ont la capacité de favoriser le développement des cultures agricoles en stimulant leur croissance à travers la production de métabolites impliqués directement dans leur fonctionnement ou en réduisant les dommages causés par les agents pathogènes.

Pour que rhizobactérie soit un agent de biocontrôle efficace contre les champignons phytopathogènes, elle doit utiliser l'un des mécanismes suivants : la production des antibiotiques, compétition pour les nutriments et la niche, l'induction de la résistance systémique induite ou la production des enzymes lytiques.

La production des antibiotiques est l'un des stratégies de biocontrôle les plus affichées par les PGPR contre les différentes maladies fongiques. Ces substances biochimiques sont produites par des souches de *Bacillus*, de *Pseudomonas* et des *Streptomyces* qui suppriment le développement des microorganismes pathogènes. De même, la synthèse d'enzymes extracellulaires par les rhizobactéries a été suggère comme étant une forme vitale de lutte biologique, ces enzymes hydrolytiques sont également efficaces dans la lyse de la paroi cellulaire des champignons.

Certains PGPR ont la capacité de rivaliser pour l'espace et les nutriments ceci est nécessaire pour limiter l'incidence et la gravité des maladies des plantes, ainsi la production des sidérophores est une stratégie importante développée pour augmenté la biodisponibilité de fer, en plus de crée une espace compétitif favorable pour les bactéries contre certains microorganisme en éliminant le fer de l'environnement.

D'après notre étude comparative des résultats antérieurs sur l'effet antagoniste des souches PGPR in vitro et in vivo, nous avons constaté que les PGPR *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp* et les actinomycètes ont une efficacité potentiel vis-à-vis l'agent phytopathogène (*F.oxysporum*).

Référence
Bibliographique

- **Achbani, E.H., Azba, K., Samson, R. (2003).** L'utilisation des bactéries " PGPR " dans la lutte biologique contre les agents les agents pathogènes des plantes cultivées. AL AWAMIA, 108, 27- 46.
- **Achetbi, H., Amiri, S., &Lahlali, R. (2021).** Les Alternarioses (*Alternaria spp*) des agrumes: Diagnostic et méthodes de lutte. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 9(2), 158-169.
- **Agrios, G. N. (2005).** Plant pathology. (5th eds). Elsevier academic Press, ISBN: 13: 978- 0120445653, San Diego, CA.
- **Ahmad, I., Pichtel, J., & Hayat, S. (Eds.). (2008).** Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth. John Wiley & Sons.
- **Akram, A. D. A. M. (2008).** Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Thèse de doctorat, Université de Liège, 161p.
- **Alain, A. (2013).** " Plantes, maladies des" Dans l'Encyclopédie Canadienne. Repéré à **Amarger, N. (2002).** Genetically modified bacteria in agriculture. Biochimie, 84(11), 1061-1072.
- **Ansari, R. A., & Mahmood, I. (Eds.). (2019).** Plant health under biotic stress: volume 2: microbial interactions. Springer.
- **Antoun, H., & Prévost, D. (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In PGPR: Biocontrol and biofertilization (pp. 1-38). Springer, Dordrecht.
- **Aouar, L. (2012).** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine.
- **Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Hoque, A., Islam, M. Z., Shahidullah, S. M., &Meon, S. (2009).** Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. Afri. J. Biotechnol, 8(7), 1247- 1252.
- **Bakker, P. A., Pieterse, C. M., & Van Loon, L. C. (2007).** Induced systemic resistance by *fluorescent Pseudomonas spp*. Phytopathology, 97(2), 239-243.
- **Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcon, R., & Azcon-Aguilar, C. (2005).** Microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of experimental botany, 56(417), 1761-1778.

- **Barka, E. A., Compant, S., Jacquard, C., Sanchez, L., & Bordiec, S. (2013).** Une bactérie contre Botrytis chez la vigne: Biocontrôle. *Phytoma-La Défense des végétaux*, (662), 18-22.
- **Beauchamp, C. J. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74(1), 19-27.
- **Benichou, S. L. (2011).** Etude de la variabilité génétique et phénotypique des champignons du genre *Alternaria* pathogènes des Apiacées en vue d'améliorer les méthodes de lutte. Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
- **Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C. P., & Enebak, S. (2001).** Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(9), 793-800.
- **Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012).** The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*, 17(8), 478-486.
- **Berggren, I., Van Vuurde, J. W. L., & Mårtensson, A. M. (2001).** Factors influencing the effect of deleterious *Pseudomonas putida* rhizobacteria on initial infection of pea roots by *Rhizobium leguminosarum* by. *viciae*, *Appl. Soil Ecol*, 17: 97-105.
- **Bertrand, H., Plassard, C., Pinochet, X., Touraine, B., Normand, P., & Cleyet-Marel, J. C. (2000).** Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growth-promoting rhizobacterium (*Achromobacter* sp). *Canadian Journal of Microbiology*, 46(3), 229-236.
- **Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. (2001).** Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current opinion in plant biology*, 4(4), 343-350.
- **Boukerma, L. (2012).** 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. Thèse de doctorat, Ecole National supérieure Agronomique Al-Harrach, Alger.
- **Bounoua, M. D. (2008).** Essais d'utilisation des *Pseudomonas spp* et *Bacillus spp* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* sur tomate et *Verticillium dahliae* sur l'olivier. Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.

- **Bouras, F. Z. (2018).** Isolement et caractérisation des microorganismes stimulateurs de la croissance de lentille (*lensculinaris*). Thèse de doctorat, Université Djillali Liabès de sidi Bel Abbès).
- **Bouznad, A and Bellahcene, M. (2015).** Screening of free-living and endophytic rhizobacteria with potential antagonistic activity against *F. oxysporum* *F. Sp lycopersici* for their potential as plant growth promoters. Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.17 (1): 17-26.
- **Carrier, J. (2018).** Implication d'Hfq dans la formation de biofilm et dans la colonisation des racines de plantes chez *Bacillus subtilis*. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke.
- **Cherif, H. (2018).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *bacillus sp.* et *pantoea agglomerans* isolées de sols. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Combiér, M. (2019).** Étude des effecteurs de type RXLR de *Plasmopara viticola* pour la recherche de résistances durables au mildiou de la vigne. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.
- **Curtet, C. (2016).** Influence de la variation du voisinage sur l'indice d'attaque des bioagresseurs du cacaoyer en systèmes agro-forestiers: Cas de la moniliose et de la pourriture brune dans la zone de production d'Upala, au Costa Rica. thèse de doctorat, ISTOM.
- **Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2013).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 18(2), 220-232.
- **De Vos, M., Van Oosten, V. R., Van Poecke, R. M., Van Pelt, J. A., Pozo, M. J., Mueller, M. J., ... & Pieterse, C. M. (2005).** Signal signature and transcriptome changes of Arabidopsis during pathogen and insect attack. Molecular plant-microbe interactions, 18(9), 923-937.
- **Dommergues, Y. (1975).** Pourquoi et comment développer les recherches sur la rhizosphère?. Bulletin de la Société Botanique de France, 122(sup2), 7-19.
- **Dubuis, P. H., Viret, O., Bloesch, B., Fabre, A. L., Naef, A., Bleyer, G., ... & Krause, R. (2012).** Lutte contre le mildiou de la vigne avec le modèle *VitiMeteo-Plasmopara*. Revue Suisse de Viticulture Arboriculture Et Horticulture, 44(3), 192-198.

- **Frank, A., Kägi, A., & Heller, W. (2012).** Les principales maladies des carottes.
- **Fravel, D. R. (2005).** Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 337-359.
- **García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. (2001).** Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of microbiology*, 47(5), 404-411.
- **Gholami, A., Biyari, A., Gholipoor, M., & Asadi Rahmani, H. (2012).** Growth promotion of maize (*Zea mays L*) by plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Communications in soil science and plant analysis*, 43(9), 1263-1272.
- **Glazebrook, J., Chen, W., Estes, B., Chang, H. S., Nawrath, C., Métraux, J. P., & Katagiri, F. (2003).** Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *The Plant Journal*, 34(2), 217-228.
- **Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signalling processes. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 395- 412.
- **Gros, R. (2002).** Fonctionnement et qualité des sols soumis à des perturbations physiques et chimiques d'origines anthropiques: réponses du sol, de la flore et de la microflore bactérienne tellurique. Thèse de doctorat, Université de Savoie.
- **Gupta, A., & Gopal, M. (2008).** Siderophore production by plant growth promoting rhizobacteria. *Indian Journal of Agricultural Research*, 42(2), 153-156.
- **Gupta Sood, S. (2003).** Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 45(3), 219-227.
- **Haas, D., & Défago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by *fluorescent pseudomona*. *Natra. Rev. Microb.* 1129.
- **Hakkou, A., Chakroune, K., Souana, F., & Bouakka, M. (2012).** La fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud): Méthodes de lutte.
- **Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008).** Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*, 312(1), 7-14.
- **Hugenholtz, P. (2002).** Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genomebiology*, 3(2), reviews 0003, 1-7.

- **Inthama, P., Pumas, P., Pekkoh, J., Pathom-Aree, W., & Pumas, C. (2021).** Plant Growth and Drought Tolerance-Promoting Bacterium for Bioremediation of Paraquat Pesticide Residues in Agriculture Soils. *Frontiers in microbiology*, 12, 604662.
- **Issa, A., Esmael, Q., Sanchez, L., Courteaux, B., Guise, J. F., Gibon, Y., ... & Aït Barka, E. (2018).** Impacts of *Paraburkholderia phytofirmans* strain PsJN on tomato (*Lycopersicon esculentum L.*) under high temperature. *Frontiers in plant science*, 9, 1397.
- **Jacques, P., Delfosse, P., Ongena, M., Lepoivre, P., Cornélis, P., Koedam, N., ... & Thonart, P. (1993).** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas fluorescents* dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahiers Agricultures*, 2(5), 301-307.
- **Jean-Denis, J. B. (2005).** Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqués dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.). Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel.
- **Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., & Brea, J. M. (2003).** The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* 37 (1), 1–16.
- **Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., & Wilson, M. (2006).** Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth promoting rhizobacteria. *Biological control*, 36(3), 358-367.
- **Jijakli, H. (2003).** La lutte biologique en phytopathologie, In : *Phytopathologie. Le poivre P.* (Eds). De Boeck, Bruxelles.
- **Jofré, E., Lagares, A., & Mori, G. (2004).** Disruption of dTDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*. *FEMS microbiology letters*, 231(2), 267-275.
- **Khakipour, N., Khavazi, K., Mojallali, H., Pazira, E., & Asadirahmani, H. (2008).** Production of auxin hormone by *fluorescent pseudomonas*. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 4(6), 687-692.
- **Khan, N., Bano, A., Ali, S., & Babar, M. A. (2020).** Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 90(2), 189-203.

- **Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U., & Unah, U. V. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a novel agent for sustainable food production. *Am J Agric Biol Sci*, 14, 35-54.
- **Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., & Stalpers, J. A. (2001).** Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi (No. Ed. 9). CABI publishing.
- **Kloepper, J. W. (1992).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management*, 255-274.
- **Lambert, N. (2010).** Lutte biologique aux ravageurs: applicabilité au Québec. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke.
- **Laradj Zazou, K. (2017).** Isolement et caractérisation des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes capables de lutter contre le *Fusarium*. Thèse de doctorat, Université Djillali Liabès De Sidi Bel Abbas.
- **Lecomte, M. (2013).** Analyse des mécanismes de défense de la carotte (*Daucus carota*) face au champignon pathogène *Alternaria dauci*, responsable de l'alternariose ou brûlure foliaire. Thèse de doctorat, Université d'Angers.
- **Lee, J. P., Lee, S. W., Kim, C. S., Son, J. H., Song, J. H., Lee, K. Y., ... & Moon, B. J. (2006).** Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biological control*, 37(3), 329-337.
- **Louvet, J. (1975).** L'activité des champignons phytopathogènes dans la rhizosphère. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 122(sup2), 183-192.
- **Louvet, J., Bulit, J., Toutain, G., & Rieuf, P. (1970).** Le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier symptômes et nature de la, maladie moyens de lutte: È. *Al Awamia*, 35, 161-162.
- **Lynch, J. M., Brimecombe, M. J., & De Leij, F. A. (2001).** Rhizosphere. e LS.
- **Lynch, J. M., & Whipps, J. M. (1990).** Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and soil*, 129(1), 1-10.
- **Migula, W. (1894).** Übereinnes System der Bakterien. *Arbatenaus dem backtriologischen institute der technischen (hochschule zu Karlsruhe*. 1, 235-238.
- **Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2006).** Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protection*, 25(5), 468-475.

- **Mouria, B., Touhami, A. O., Badoc, A., & Douira, A. (2005).** Effet de diverses farines sur la compétitivité des inoculums de trois souches de *Trichoderma* vis-à-vis des champignons phytopathogènes du sol. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 144, 211-224.
- **Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002).** Role of *Pseudomonas putida* indo-leacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3795-3801.
- **Perron, P. (1999).** Protection intégrée des cultures: évolution du concept et de son application. *Cahiers Agricultures*, 8(5), 389-396.
- **Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., & Robaglia, C. (2003).** Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Plant, Cell & Environment*, 26(2), 189-199.
- **Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q., & Gullino, M. L. (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biology and Technology*, 11(3), 131-140.
- **Platt, R. (2008).** Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. *Cahiers agricultures*, 17(4), 361-367.
- **Rakotoarimanga, N., Zananirina, J., Ramamonjisoa, D., & Ramanankierana, H. (2014).** Lutte biologique antifongique: actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum L.*, 1753) pourri. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences ET Technologie*, 10(3), 243-255.
- **Ryu, R. J., & Patten, C. L. (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am. Soc. Microbial*, 19, 1-35.
- **Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30.
- **Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N., & Samiyappan, R. (2007).** PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop protection*, 26(4), 556-565.
- **Sharma, T., Kumar, N., & Rai, N. (2012).** Isolation, screening and characterization of PGPR isolates from rhizosphere of rice plants in Kashipur region (Tarai region). *Biotechnology International*, 5(3), 69-84.

- **Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2009).** Plant growth promoting actions of rhizobacteria. *Advances in botanical research*, 51, 283-320.
- **Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425-448.
- **Suty, L. (2010).** La lutte biologique : Vers de nouveaux équilibres écologiques sciences en partage. Edition Quae, 328p.
- **Syed Nabi, R. B., Shahzad, R., Tayade, R., Shahid, M., Hussain, A., Ali, M. W., & Yun, B. W. (2021).** Evaluation potential of PGPR to protect tomato against Fusarium wilt and promote plant growth. *PeerJ*, 9, e11194.
- **Thakore, Y. (2006).** The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*, 2(3), 194-208.
- **Thévenin, J. M., & Trocmé, O. (1996).** La moniliose du cacaoyer.
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Bacillus licheniformis* SB3086.
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Bacillus pumilis* GB 34
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Bacillus subtilis* GBO3
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Bacillus subtilis* MBI600
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Bacillus subtilis* QST 713
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Pseudomonas chlororaphis* strain 63-28.
- **US EPA. Office of Pesticide Programs. (2009).** Biopesticides Fact Sheet for *Pseudomonas syringae* ESC-10
- **Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., & Thomashow, L. S. (2002).** Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348.
- **Zabbourdj, N. (2014).** Etude du profil enzymatique du *fusarium oxysporum f.sp albedinis* et essai de lutter par des bactéries lactiques. Mémoire de magister, Université d'Oran.

- **Zerrouk, A. Z. (2017).** Application des PGPR dans la phytostimulation et l'atténuation des stress abiotiques (Salin/Alumine) chez une culture de maïs. Thèse de doctorat, ENSA.

Annexes

Annexe 01 :**Composition des milieux****Gélose nutritif :**

Peptone.....	15g
Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	02g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

pH = 7

Bouillon nutritif :

Extrait de levure.....	05g
Peptone.....	10g
Na Cl.....	05g
Agar.....	05g
Eau distillée.....	1000 ml

PH = 7.2

PDA :

Glucose.....	20g
Pomme de terre.....	200g
Agar.....	15g
Eau distillé.....	1000ml

PH = 6.5

Eau physiologie :

Na Cl.....	09g
Eau distillée.....	1000ml

Annexe 02 :

Les étapes de l'observation à l'état frais

- 1- Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame.
- 2- Prélever une fraction de colonies sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci (ou prélever une petite goutte de bouillon). Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum et en remuant très délicatement (afin de ne pas casser les flagelles).
- 3- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air. Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).
- 4- Observer rapidement à l'objectif 40 en mettant la lumière au maximum mais en fermant le diaphragme ou utiliser un système « fond noir » ou à « contraste de phase ».
- 5- Après observation, jeter l'état frais dans un bac contenant un désinfectant à large spectre car les bactéries sont vivantes.

Annexe 03:

Les étapes de coloration de gram

1. Nettoyer la lame à l'alcool et déposer une goutte d'eau physiologie.
2. Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage de lame rapide 3 fois sur la flamme du bec benzène.
3. Versez une goutte du cristal violet sur la lame, laissez pendant 1 minute
4. Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
5. Etaler le lugol et laisser agir 30 secondes puis rincer à l'eau distillée pendant 5 secondes. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
6. Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool - acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette (Décoloration pendant 5 à 10 secondes).
7. Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
8. Contre coloration avec de la Fuchsine : laisser agir pendant 1 minute et laver à l'eau distillée pendant 10 secondes.
9. Sécher la lame puis déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement (objectif à immersion x100).