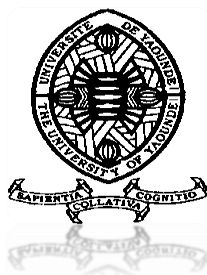


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE, SANTE
ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE DOCTORALE DES
SCIENCES DE LA VIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

DOCTORATE TRAINING UNIT OF LIFE
SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHYTOBIOCHIMIE ET D'ETUDE DES PLANTES MEDICINALES
LABORATORY FOR PHYTOBIOCHEMISTRY AND MEDICINAL PLANTS STUDIES

UNITE DES AGENTS ANTIMICROBIENS ET DE BIOCONTROLE
ANTIMICROBIAL AND BIOCONTROL AGENTS UNIT

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

Mémoire présenté comme requis partiel en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biochimie

Spécialité : Biotechnologie et Développement

Par

CHUIDJANG NOULA LETICIA

Matricule : 19K2548

Licencié-ès Sciences



Sous la Supervision de :

FEKAM BOYOM Fabrice

Professeur

Université de Yaoundé I

Et

EKE Pierre

Chargé de cours

Université de Bamenda

Année académique : 2024-2025

TABLE DE MATIERES

TABLE DE MATIERES	i
DEDICACE.....	v
REMERCIEMENTS	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES ACRONYMES ET ABRÉVIATIONS	x
LISTE DE PHOTOGRAPHIE	xi
LISTE DES ANNEXES	xii
RESUME.....	xiii
ABSTRAT	xiv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE1 : REVUE DE LITTERATURE	4
I.1. Les champignons phytopathogènes.....	4
I.1.1. Généralité sur les champignons phytopathogènes.....	4
I.1.2. Impact économique dû aux champignons phytopathogènes	5
I.1.3. Cycle d'infection des champignons phytopathogènes.....	5
I.1.4. Quelques champignons phytopathogènes affectant les cultures.....	6
I.1.4.1. <i>Fusarium</i>	6
I.1.4.1.1. Description	6
I.1.4.2. <i>Aspergillus</i>	7
I.1.4.2.1. Description	7
I.1.4.3. <i>Macrophomina</i>	7
I.1.4.3.1. Description	7
I.2. Moyens de lutte	8

I.2.1. Méthode culturale	8
I.2.2. Approche transgénique	8
I.2.3. La lutte chimique	8
I.2.4. Lutte biologique.....	9
I.3. Les rhizobactéries comme agent de lutte biologique	10
I.3.1. Définition.....	10
I.3.2. Diversité des rhizobactéries	10
I.3.3. Interactions entre les microorganismes de la rhizosphère	10
I.3.4. Mécanismes d'actions utilisés par les PGPR pour lutter contre les maladies	11
I.4. Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)	13
I.5. Etat des lieux de la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes	14
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	16
II.1. Matériel.....	16
II.1.1. Matériel microbiologique	16
II.1.2. Matériel végétal.....	16
II.2. Méthodes.....	17
II.2.1. Isolement des rhizobactéries	17
II.2.1.1. Présentation du site d'isolement	17
II.2.1.2. Sites choisis pour les prélèvements	17
II.2.1.3. Collecte des échantillons et isolement des rhizobactéries	18
II.2.2. Identification des isolats bactériens.....	19
II.2.2.1. Examen macroscopique	19
II.2.3. Criblage préliminaire des isolats a potentiels antagonistes	20
II.2.4. Examen microscopique	21
II.2.5. Evaluation approfondie du potentiel antagoniste	21
II.2.5.1. Test d'antagonisme par confrontation directe.....	22

II.2.5.2. Test d'antagonisme par confrontation indirecte.....	22
II.2.6. Potentiel antagoniste <i>in planta</i> des rhizobactéries contre <i>F. verticillioides</i>	23
II.2.6.1. Préparation de l'inoculum bactérien.....	23
II.2.6.2. Préparation de l'inoculum fongique	23
II.2.6.3. Désinfection des semences de maïs et inoculation	23
II.2.6.4. Infection avec <i>F. verticillioides</i> et dispositif expérimental.....	24
II.2.7. Paramètres évalués	24
II.2.7.1. Paramètres de croissance	24
II.2.7.1.2. Paramètres liés à la maladie	25
II.2.7.2. Paramètres physiologiques	26
II.2.7.2.1. Estimation de la chlorophylle.....	26
II.2.7.3. Paramètres biochimiques	27
II.2.7.3.1. Evaluation de l'activité spécifique de la phénylalanine ammonia lyase (EC 4.3.1.24).....	27
II.2.4.7.2. Evaluation de l'activité spécifique de la polyphénol oxydase	28
II.2.7.3. Estimation de la teneur en proline totale	28
II.2.7.4. Quantification du peroxyde d'hydrogène	29
II.2.8. Analyse statistique.....	30
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	31
III.1. Résultats.....	31
III.1.1. Isolement et examen macroscopique	31
III.1.2. Criblage préliminaire des isolats a potentiels antagonistes.....	35
III.1.3. Examen microscopique	36
III.1.4. Evaluation du potentiel antagoniste : Inhibition par confrontation directe.....	39
III.1.5. Inhibition par confrontation indirecte	43
III.2. Effet antagoniste de la pré-stimulation des semences de maïs par les ALBs vis-à-vis de <i>F. verticillioides</i> sur les paramètres évalués	47

III.2.1. Effet sur les paramètres de croissance.....	47
III.2.2. Effet de la pré-inoculation des rhizobactéries vis-à-vis de <i>Fusarium verticillioides</i> sur les paramètres d'incidence de la maladie : pourcentage de germination, l'indice de vigueur et sur le pourcentage de protection.	49
III.2.3. Effet de l'infection par <i>Fusarium verticillioides</i> et traitement préalable par les isolats bactériens sur les pigments chlorophylliens.....	54
III.2.4. Effet des agents de lutte biologique et de <i>F. verticillioides</i> sur les paramètres biochimiques chez les plantules de maïs.....	55
III.2.4.1. Activité spécifique de la phénylalanine ammonia lyase	55
III.2.4.2. Activité spécifique de la polyphénol oxydase	56
III.2.4.3. Quantification de la teneur en proline	57
III.2.4.4. Quantification de la teneur peroxyde d'hydrogène	57
III.3. Discussion.....	59
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	66
1. CONCLUSION	66
2. PERSPECTIVES.....	66
REFERENCES.....	68
ANNEXES	a

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à :

Ma famille

Et

A mon fiancé

EPOLE ETAME GUY NESTOR

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, j'ai l'honneur et le plaisir de remercier :

L'Eternel Dieu Tout Puissant qui m'a donné la force, le courage, l'intelligence, la santé et la persévérance nécessaire pour mener à terme ce travail.

Le Pr. FEKAM BOYOM Fabrice qui m'a accueilli avec la plus grande bienveillance. Votre encouragement, votre confiance et votre rigueur scientifique m'ont guidé tout au long de ce travail. En témoignage de ma profonde gratitude, veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

Dr. EKE Pierre pour m'avoir initié et tenue la main tout au long de ce travail et dont les précieux conseils autant scientifiques que sociaux, l'attention à mon égard et la générosité m'ont été d'un apport particulier.

Le Chef de Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I, Pr. MOUNDIPA FEWOU Paul et tous les enseignants dudit département pour la qualité des enseignements, du suivi et des conseils.

Pr. LUNGA Paul Keilah, pour m'avoir donné l'opportunité de présenter une demande au sein de ce laboratoire, pour ses conseils et sa disponibilité.

Dr NYA DINANGO Vanessa, Dr GHOMSI Pierre, Mr WANDJI Yves Rindy ; Mlle DOGMO Arlette et Mr NKODO Junior pour m'avoir tenu sur la paillasse ainsi que pour leurs conseils, leur disponibilité et l'apport scientifique dans la réalisation de ce travail. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Dr Tsouh valère, Dr Toghueo et Mr MELOGMO Yannick pour leurs conseils et soutiens.

Tous mes aînés de l'Unité des Agents Antimicrobiens et de Biocontrôle du Laboratoire de Phytobiochimie et d'Etude des Plantes Médicinales, pour leurs encouragements, leurs contributions et leurs conseils qui ont servi à la réalisation de ce travail.

Mes camarades de paillasse GUEGUIM NGUKA Stella, MADJOUNE FOUDJO Ornella, MEFOWOUE Alexia, TAGNE Christian, NKANA Aaron, WANKO TOKOUE Marie, KOUMESSI Olive Flore, KEMAYOU NGOUNOU Gisela, TEGEN TAH Arnold, N MBAIHORNOM Arthur pour leur assistance diverse.

Toute ma famille pour leur accompagnement, soutien et amour qui ont guidé ce travail

Mes amis et camarades pour le soutien, les encouragements, et toutes les prières qu'ils ont effectué en faveur de la bonne marche ce travail.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle d'infection des champignons phytopathogènes	6
Figure 2: Carte du Cameroun montrant la zone d'étude (Yagoua).	17
Figure 3: Préparation de la solution mère et dilution en série des échantillons de rhizosphère (sols rhizosphériques et extrait tissulaire de racine broyé).	19
Figure 4: Représentation schématique du test de strie positive modifiée (MPS) pour tester l'antagonisme des souches bactériennes vis-à-vis des champignons phytopathogènes.....	20
Figure 5: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre <i>F. verticillioides</i>	40
Figure 6: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre <i>M. phasoelina</i>	41
Figure 7: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre <i>A. flavus</i>	42
Figure 8: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre <i>F. verticillioides</i>	44
Figure 9: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre <i>M. phasoelina</i>	45
Figure 10: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre <i>A. flavus</i>	46
Figure 11: Variation du nombre de graines germées en fonction du temps et des traitements.	50
Figure 12: Variation du nombre de graines infectées en fonction du temps et des traitements.	51
Figure 13: Effet de la pré-inoculation des rhizobactéries vis-à-vis de <i>Fusarium verticillioides</i> sur les paramètres d'incidence de la maladie ; a : Pourcentage de germination ; b : Indice de vigueur ; c : Pourcentage de protection.	53
Figure 14: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la teneur en pigments chlorophylliens dans les feuillages frais des plantules de maïs.	54
Figure 15: Influence du pré-traitement des semences de maïs par les ALBs et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la teneur en PAL.....	55

Figure 16: Effet du traitement préalable des semences de maïs par les ALBs et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la teneur en PPO.	56
Figure 17: Effet de la pré-inoculation des semences de maïs par les rhizobactéries et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la teneur en proline.	57
Figure 18: Effet de la bactérisation des semences de maïs par les ALBs et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la teneur en H ₂ O ₂	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Sites et date de prélèvements des échantillons rhizosphériques	18
Tableau II: Résultats de l'examen macroscopique des isolats bactériens sur le milieu NA 28°C pendant 24h.	32
Tableau III: Résultat du criblage de l'activité antagoniste des isolats bactériens.....	35
Tableau IV: Résultat de l'examen microscopique des isolats bactériens.	37
Tableau V: Effet de l'inoculation des ALBs vis-à-vis de <i>F. verticillioides</i> sur les paramètres de croissance des plantules de maïs.	48

LISTE DES ACRONYMES ET ABRÉVIATIONS

Af	: <i>Aspergillus flavus</i>
ALB	: Agent de Lutte Biologique
FAO	: Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
Fv	: <i>Fusarium verticillioides</i>
HCN	: Cyanure d'Hydrogène
ISR	: Resistance Systémique Induite
Mp	: <i>Macrophomina phaseolina</i>
MPS	: Modified Plus Streak
NA	: Nutrient Agar
PAL	Phénylalanine Ammonia Lyase
PDA	: Potato Dextrose Agar
PGPR	: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PPO	: Polyphénol Oxydase
RSA	: Resistance Systémique Acquise
RSI	: Resistance Systémique Induite

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1: Les souches de champignons phytopathogènes utilisées dans cette étude....	16
Photographie 2: Semences de maïs variété 8704	16
Photographie 3: Morphotypes des isolats bactériens obtenus.	34
Photographie 4: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre <i>F. verticillioides</i> en boîte de Petri.....	41
Photographie 5: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre <i>M. phasoelina</i> en boîte de Petri.....	42
Photographie 6: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre <i>A. flavus</i> en boîte de Petri	42
Photographie 7: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre <i>F.</i> <i>verticillioides</i> en boîte de Petri.....	44
Photographie 8: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre <i>M. phasoelina</i> en boîte de Petri.....	45
Photographie 9: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre <i>A. flavus</i> en boîte de Petri.....	46
Photographie 10: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur la longueur aérienne des plantules.....	49
Photographie 11: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par <i>Fusarium verticillioides</i> sur les paramètres d'incidence de maladie.	53

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Préparation des milieux de culture	a
Annexe 2: Pourcentages d'inhibitions des champignons <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Macrophomina phasoelina</i> et <i>Aspergillus flavus</i> en confrontation avec les isolats bactériens obtenus : résultats du test de criblage	b
Annexe 3: Pourcentage d'inhibition des champignons phytopathogènes <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Macrophomina phasoelina</i> et <i>Aspergillus flavus</i> en confrontation directe avec les 14 isolats sélectionnés lors du criblage	c
Annexe 4: Photographie des confrontations directe des 14 isolats bactériens sélectionnés contre <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Macrophomina phasoelina</i> et <i>Aspergillus flavus</i> en boîte de pétri.....	d
Annexe 5: Pourcentage d'inhibition des champignons phytopathogènes <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Macrophomina phasoelina</i> et <i>Aspergillus flavus</i> en confrontation indirecte avec les 14 isolats sélectionnés lors du criblage	b
Annexe 6: Photographie des confrontations directe des 14 isolats bactériens sélectionnés contre <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Macrophomina phasoelina</i> et <i>Aspergillus flavus</i> en boîte de pétri. ...	b
Annexe 7: Cinétique d'évolution du nombre de graines germées et du nombre de graines infectées	f
Annexe 8: Résultats des paramètres d'incidence de la maladie, physiologiques et biochimiques	f
Annexe 9: Courbe standard de la proline.....	g

RESUME

Les maladies fongiques constituent une menace majeure pour la production agricole mondiale, pouvant causer des pertes estimées entre 10 et 23%. Par ailleurs et en dépit de l'utilisation des fongicides chimiques, la lutte biologique utilisant les agents de lutte biologique (ALBs) perd leur efficacité due à des épisodes de sécheresse prolongées. Le présent travail a pour objectif d'isoler et d'évaluer le potentiel antagoniste des bactéries de la rhizosphère d'*Azadirachta indica* (neem) présent dans la zone semi-aride de l'extrême nord Cameroun en vue de détecter des ALBs plus résilients. Pour y parvenir, l'isolement des bactéries rhizosphériques a été réalisé sur gélose nutritive puis, criblés pour leur potentiel antagoniste contre *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* et *Aspergillus flavus*. Les isolats retenus ont été soumis aux tests de confrontation directe et indirecte afin de quantifier leur pouvoir antagoniste. Ensuite, l'efficacité des meilleurs ALBs a été évaluée *in planta* vis-à-vis de *F. verticillioides*. Les paramètres de croissance, physiologiques, biochimiques ainsi que ceux liés à l'infection ont été évalués par mesure directe et par spectrophotométrie. Les résultats révèlent un total de 53 isolats de rhizobactéries parmi lesquels, 14 ont été sélectionnés pour leur activité inhibitrice contre les 03 phytopathogènes en étude. En confrontation directe, les ALBs SZ1 et SZ12 ont montré un fort potentiel antagoniste, culminant à 95% tandis qu'en confrontation indirecte, les isolats SZ12 et SZ15 se sont avérés plus performant avec des taux d'inhibitions respectifs de 97,95% et 97,53% vis-à-vis des phytopathogènes testés. Le pré-traitement des graines par les ALBs a entraîné une augmentation de 66,7% à 90,66% des différents paramètres de croissance tels que les longueurs et biomasses fraîches et sèches des parties aériennes et racinaires des plantules par rapport aux graines infectées et non traitées (*F. verticillioides* seul). L'ALB SZ1 s'est démarqué avec des taux de protection des graines de 66,5%, ainsi que des augmentations des teneurs en chlorophylle et caroténoïdes respectives de 111,1% et 646,83%. Parallèlement, l'isolat SZ1 a entraîné une réduction des teneurs en PAL (32,39%), PPO (19,48%) et proline (1,8%) par rapport aux plants infectés non traités. Les résultats ainsi obtenus suggèrent que les ALBs issus d'*Azadirachta indica* en occurrence l'isolat SZ1 pourrait constituer une base prometteuse pour le développement d'un biopesticide efficace et adaptable aux stress environnementaux liés au changement climatique.

Mots clés : Maladies fongiques, rhizobactéries, sol semi-aride, lutte biologique.

ABSTRAT

Fungal diseases represent major threat to global agricultural production, causing estimated yield losses of 10 to 23%. Despite the widespread use of chemical fungicides, biological control agents (BCAs) often lose effectiveness under prolonged drought episodes. This study aimed to isolate and evaluate the antagonistic potential of rhizobacteria associated with *Azadirachta indica* (neem) in the semi-arid region of Far North Cameroon. The rhizobacteria were isolated on nutrient agar and screened for antagonistic activity against *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina*, and *Aspergillus flavus*. The antagonistic isolates were subjected to direct and indirect confrontation assays to quantify their antagonistic potential. The most promising isolates were further assessed *in planta* against *F. verticillioides*. Agro-morphological, physiological, and biochemical parameters, as well as disease-related traits, were evaluated through direct measurements and spectrophotometry. 53 rhizobacterial isolates were obtained, of which 14 exhibited inhibitory action against the three phytopathogens studied. Isolates SZ1 and SZ12 displayed strong direct antagonistic effects, culminating at 95%, while in indirect confrontation, isolates SZ12 and SZ15 were most effective, with inhibition rates of 97.95% and 97.53%, respectively. Seed pretreatment with BCAs enhanced growth parameters by 66.7–90.66%, including shoot and root length as well as fresh and dry biomasses, compared to infected untreated controls (*F. verticillioides* alone). Isolate SZ1 was particularly effective, conferring 66.5% seed protection and significantly increasing chlorophyll (111.1%) and carotenoid (646.83%) contents. Moreover, SZ1 reduced PAL (32.39%), PPO (19.48%), and proline (1.8%) levels relative to infected untreated plants. Overall, these findings suggest that isolate SZ1, recovered from *Azadirachta indica*, represents a promising candidate for the development of effective biopesticides with enhanced resilience to environmental stresses associated with climate change.

Keywords: Fungal diseases, rhizobacteria, semi-arid soil, biological control

.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'insécurité alimentaire est une préoccupation mondiale et une réalité visible pour la plupart des habitants des pays à revenu faible et intermédiaire (FAO, 2022). Cette dernière est devenue un problème mondial urgent qui affecte l'alimentation, la santé et le bien-être humain (Lee, 2013 ; Gundersen *et al.*, 2015). Environ 2,3 milliards de personnes, soit 29,3% de la population mondiale sont en situation d'insécurité alimentaire grave ou modéré (FAO, 2023). En Afrique, près de 56% de la population est également confrontée à une insécurité alimentaire grave ou modérée (FAO, 2023) due à une indisponibilité d'aliments de qualité nutritive (Gundersen *et al.*, 2015).

Toutefois, l'accès limité et incertain d'aliments de qualité démontre que, la production agricole fait face à deux contraintes majeures à savoir le stress abiotique qui conduit à de diverses restrictions environnementales telles que la sécheresse, l'alcalinisation sodique, la salinité, les fluctuations de température et l'exposition aux métaux lourds (Tiwari *et al.*, 2021 ; Chen *et al.*, 2023) et le stress biotique regroupant les virus, les bactéries, les insectes, les nématodes et les champignons phytopathogènes qui représentent l'une des principales causes des maladies des plantes (Abdhelmid, 2022). A l'échelle mondiale, ces derniers occasionnent des pertes de rendements agricoles allant de 10 à 23% (Eva *et al.*, 2023).C'est le cas d'*Aspergillus flavus* qui a entraîné des baisses de rendement allant de 30 à 39% tant en pré-récolte qu'en post-récolte des cultures d'arachides (Acur *et al.*, 2020), de *Macrophomina phaseolina* qui a provoqué des pertes allant à 100% des cultures d'arachides (Marquez *et al.*, 2021), et de *Fusarium verticillioides* qui a entraîné des baisses de rendement allant de 13 à 70% chez les cultures de maïs (Benjamin *et al.*, 2024).

Pour faire face à ces champignons phytopathogènes, les agriculteurs font recours à plusieurs méthodes parmi lesquelles l'usage des fongicides chimiques, efficaces, mais possède des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement ; de plus l'utilisation répétée de ces substances conduit à l'apparition d'une résistance chez les phytopathogènes (Liu *et al.*, 2023). Par ailleurs certains agriculteurs se réfèrent plutôt à l'utilisation des agents de lutte biologique à l'instar des biofongicides fait à base d'huile essentielle de cannelle, de clou de girofle (Raveau *et al.*, 2020) ou de microorganismes tels que les champignons et les bactéries (Whipps *et al.*, 2008) c'est le cas de *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma asperellum*, *Bacillus mojavensis* et *Bacillus subtilis* utilisés respectivement dans le contrôle biologique de *Sclerotinia sclerotiorum* et de *Fusarium oxysporum* (Whipps *et al.*, 2008 ; Camele *et al.*, 2019 ; Bajsa *et*

Fabiano, 2023). Bien que du point de vue de l'environnement et de la santé, les agents de lutte biologique ont été proposés comme l'une des alternatives les plus prometteuses aux produits chimiques de synthèse, leur efficacité reste fortement limitée par les phénomènes de changements climatiques. (**Anokhe et al., 2024**) En effet, ces changements climatiques entraînent une modification d'interaction entre la plante et l'agent de lutte biologique induisant ainsi une production accrue de composés chimiques de défense chez la plante en réponse au stress subit. Tous ceci, conduit à une réduction des nutriments nécessaire à la survie de l'ALB impactant son métabolisme et par conséquent, sa capacité à lutter efficacement contre les phytopathogènes (**Sun et al., 2020**). Face à ces défis posés par les conditions de changement climatique à l'instar des périodes de sécheresse plus longue, il est essentiel d'identifier des agents de lutte biologique capable de résister aux conditions de changement climatique et dont l'efficacité persiste en ces conditions (**Takishita et al., 2021**). L'une des pistes serait l'usage des bactéries provenant de la rhizosphère des sols semi arides. En effet, ces bactéries sont recrutées via des mécanismes de signalisations spécifiques impliquant les exsudats racinaires produits par la plante en réponse stress subit (**Fourneau et al., 2024**). Ce processus d'attraction permet aux rhizobactéries de se fixer autour des racines de la plante et de stimuler la croissance de celle-ci par divers mécanismes tant directs qu'indirects (**Bibi et al., 2023**). De manière directe, ces bactéries améliorent la production et le rendement des cultures en augmentant la biodisponibilité des micros et macro nutriments chez les plantes à travers la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, du potassium, ainsi que la séquestration du fer (**Bashan et al., 2005 ; Bhattacharyya et Jha, 2012**). De plus elles stimulent, la croissance et de développement des racines conduisant à une amélioration de la rétention d'eau à travers la production de phytohormones tels que l'acide indole acétique, la cytokinine et la gibbérelline. D'autres part elles agissent indirectement comme agents de lutte biologique en protégeant la plante contre divers phytopathogènes en induisant une résistance systémique à travers la stimulation de plusieurs enzymes de défense notamment la Phenylalanine ammonia lyase et la Poyphénol oxydase (**Murali et al., 2021**) par laquelle le système immunitaire de la plante est préparé à répondre plus efficacement aux attaques ultérieures (**Oleńska et al., 2020 et Shah et al., 2021**). Elles produisent également des antibiotiques et synthétisent des enzymes hydrolytiques contre les pathogènes des racines des plantes (**Shah et al., 2021**). A ce sujet, différents auteurs ont pu démontrer le pouvoir antagoniste de quelques rhizobactéries isolées des sols semi-arides c'est le cas **Asnake et al. (2024)** qui ont démontré que les rhizobactéries *Bacillus pumillus* et *Bacillus megaterium* isolées de la rhizosphère des sols semi -arides de

l'arachide en Ethiopie présentaient une activité inhibitrice de 38% et 46% contre *Fusarium oxysporum* et possédaient une capacité à prospérer dans un milieu à disponibilité hydrique limitée. De même, **Silva et al. (2020)** ont prouvé que *Streptomyces griseus* isolée des sols semi-arides du Brésil possédaient une activité antagoniste contre *Fusarium verticillioides*. Néanmoins, à notre connaissance, les bactéries isolées de la rhizosphère d'*Azadirachta indica*, une plante endémique des zones arides n'ont pas encore été investiguées pour leur capacité à inhiber la croissance des champignons phytopathogènes. D'où l'hypothèse selon laquelle, les bactéries isolées de la rhizosphère d'*Azadirachta indica* présent dans la zone semi-aride de l'extrême nord Cameroun ont un effet antagoniste contre les champignons phytopathogènes. C'est dans cet ordre d'idée que s'inscrit le présent travail dont l'objectif général était d'isoler et d'évaluer le potentiel antagoniste des bactéries de la rhizosphère d'*Azadirachta indica* (neem) présent dans la zone semi-aride de l'extrême nord Cameroun contre les phytopathogènes *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus flavus* associés à la pourriture des cultures de maïs et d'arachide.

Spécifiquement il s'agissait :

- D'isoler les bactéries de la rhizosphère du neem (*Azadirachta indica*).
- D'évaluer le potentiel antagoniste *in vitro* des isolats bactériens obtenus contre trois champignons phytopathogènes d'intérêt agricole : *F. verticillioides*, *M. Phaseolina*, *A. flavus*
- De vérifier le potentiel antagoniste *in planta* des meilleures rhizobactéries vis-à-vis *F. verticillioides*.

CHAPITRE 1

Revue de littérature

CHAPITRE1 : REVUE DE LITTERATURE

I.1. Les champignons phytopathogènes

I.1.1. Généralité sur les champignons phytopathogènes

Les champignons représentent un groupe hétérogène de microorganismes pluricellulaire ubiquistes qui peuvent se développer à l'état saprophyte ou parasite sur de nombreux substrats (**Bennett et al., 2003**). Les champignons phytopathogènes ou dites telluriques constituent un groupe d'organismes microscopiques hétérotrophes, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées (**Kirk et al., 2001**). Ils sont à l'origine de la plupart des maladies cryptogamiques chez les plantes et sont capable d'infecter n'importe quel tissu de la plante, de la racine au fruit, et quel que soit le stade de croissance de la plante (**Abdelkader, 2012**). La plupart des champignons phytopathogènes peuvent produire des mycotoxines qui provoquent divers symptômes d'infection chez les plantes (**Boudih, 2011**). Leur reproduction est complexe, reflétant leur hétérogénéité. Elle peut être sexuée « téléomorphe » qui est un mode de reproduction dit « parfait », ou asexuée « anamorphe » qui se fait par bourgeonnement, fission binaire, fragmentation ou par formation de spores, ce mode de reproduction est dit soit « imparfait » ou « végétatif » (**Lepoivre, 2003**).

On distingue ainsi cinq grands groupes de champignons phytopathogènes (**Corbaz, 1990**) :

- Archimycètes : qui sont des champignons très primitifs, liés à la présence d'eau, grâce aux zoospores flagellées qui ne se trouvent que dans la terre (**Corbaz, 1990**).
- Phycomycètes ou siphomycètes : ce sont des champignons primitifs à thalle en forme de tubes non cloisonnés, à cellules reproductrices flagellées, aquatiques. Certaines moisissures sont des phycomycètes saprophytes ; elles attaquent les aliments, le linge, le cuir (**Doucet, 2008**).
- Ascomycètes : ils possèdent un mycélium cloisonné ; les spores sexuées sont formées dans un sac, l'asque, situé au centre d'un réceptacle foncé appelé périthèce ou apothécie selon la forme. Les spores asexuées se trouvent soit en surface, soit à l'intérieur de divers réceptacle dénommé pycnides ou acervules (**Corbaz, 1990**).
- Basidiomycètes : ils possèdent aussi un mycélium cloisonné. Les spores sexuées ou basidiospores sont formées au sommet des basides, homologue des asques. Les basides ne sont pas enfermées dans des réceptacles mais se trouvent en surface (**Corbaz, 1990**).

- Deutéromycète ou champignons imparfait : ils sont caractérisés par un mycélium septé et qui groupent tous les champignons dont on connaît que la phase végétative ou qui n'ont pas de phase sexuée (**Doucet, 2008**).

I.1.2. Impact économique dû aux champignons phytopathogènes

Depuis des siècles, le secteur agricole mondial est régulièrement menacé par les maladies fongiques qui représentent une menace majeure pour l'agriculture mondiale, provoquant des pertes économiques considérables chaque année. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 2019**), les maladies des plantes, y compris celles causées par des champignons, entraînent des pertes annuelles d'environ 550 milliards de dollars pour l'économie mondiale, entraînant une diminution de 20 à 40 % de la production agricole. En particulier, les champignons phytopathogènes contribuent à une diminution pouvant atteindre 20 % des rendements agricoles mondiaux, ce qui pourrait nourrir jusqu'à 600 millions de personnes par an (**Anonymous, 2017**). Celles-ci affectent au moins 125 millions de tonnes de cinq cultures essentielles comme le blé, le riz, les pommes de terre, le maïs et le soja les plus cultivées à travers le monde (**Academic press, 2016**)

I.1.3. Cycle d'infection des champignons phytopathogènes

Les spores des champignons sont omniprésentes dans l'air, elles sont transportées par le vent ou par les insectes (**figure 1**), par ces différents moyens elles se fixent sur les plantes.

Une fois fixée, elles pénètrent les tissus de manière naturelle ou en profitant des blessures causées par des insectes, des outils agricoles ou même d'autres pathogènes, ce qui crée des points d'entrée vulnérables pour les champignons. Lorsque que les conditions leurs sont favorable ils produisent des enzymes pour décomposer les parois cellulaires et faciliter leur pénétration c'est ainsi qu'ils se développent, se nourrissent des tissus de la plante et entraînent la destruction de celles-ci ; cela entraine des symptômes visibles comme les feuilles nécrosées, les rameaux tachés et les pourritures etc... (**Nasraoui, 2006**).

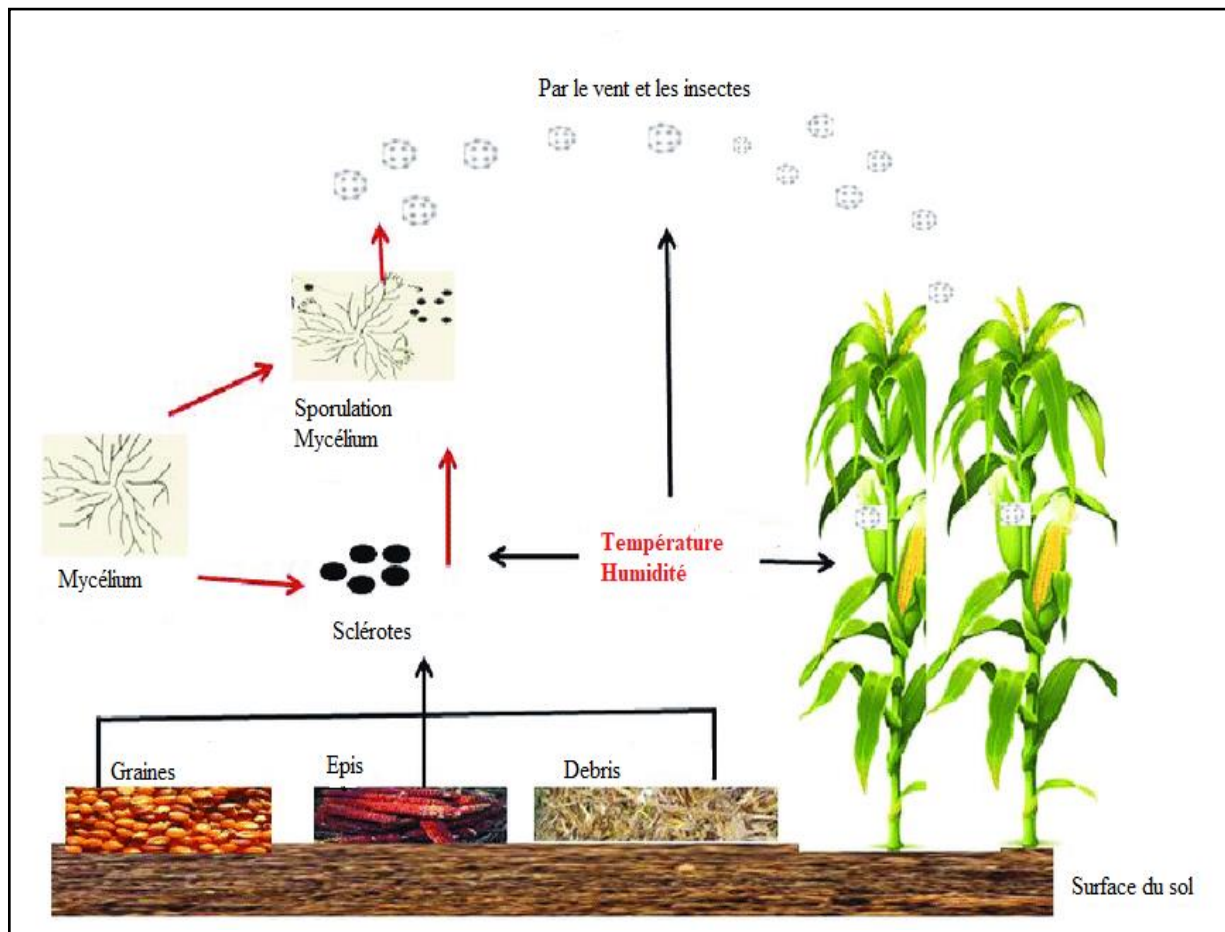


Figure 1: Cycle d'infection des champignons phytopathogènes (Nasraoui, 2006)

I.1.4. Quelques champignons phytopathogènes affectant les cultures

I.1.4.1. *Fusarium*

I.1.4.1.1. Description

Fusarium est un champignon filamenteux appartenant à l'embranchement des Ascomycètes (Ascomycota) (Leslie et Summerell, 2006). Il forme un mycélium cloisonné et ramifié, et possède des conidiophores produisant des conidies en forme de fuseau (Leslie et Summerell, 2006). Il forme également des périthèces contenant des ascospores (Xu et Nicholson, 2009). Ce pathogène hautement agressif infecte une large gamme d'hôte incluant les cultures agricoles (blé, maïs, riz, soja, coton, fruits et légumes), les plantes ornementales et forestières, les animaux et les aliments stockés. Sa dissémination se fait principalement par voie aérienne via des conidies et d'ascospores très résistantes (Leslie et Summerell, 2006 ; Xu et Nicholson, 2009), causant des flétrissements et des pourritures racinaires chez de nombreuses espèces végétales (Xu et Nicholson, 2009 ; Aylor, 2017). Son développement est favorisé par

des températures modérées (20-30°C) et une forte humidité. Ce phytopathogène infecte plus facilement les plantes affaiblies ou stressées au niveau racinaire (Heit, 2015). La résistance de ses spores aux traitements chimiques rend sa lutte difficile (Summerell, 2019).

I.1.4.2. *Aspergillus*

I.1.4.2.1. Description

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures cosmopolites, omniprésents, appartenant à l'embranchement des Ascomycètes (Samson *et al.*, 2014). Ce dernier peut se développer sur différents substrats tel que la matière organique décomposée, le sol, le compost, les fruits etc... (Morin *et al.*, 1994). Formé d'un mycélium filamenteux cloisonné et ramifié, il se reproduit asexuellement par des conidiophores portant des têtes de conidies caractéristiques en forme de "goupillon", et sexuellement par la formation de cléistothèces contenant des ascospores (Houbraken et Samson, 2011 ; Samson *et al.*, 2014). Ce champignon peut infecter une grande variété d'hôtes, incluant les cultures agricoles (blé, maïs, noix, arachides), les denrées stockées (céréales, fruits secs, produits laitiers) et, occasionnellement, les humains (infections opportunistes) (Latgé, 1999 ; Perrone et Gallo, 2017).

Dans des conditions environnementales favorables, *Aspergillus* peut contaminer les récoltes en champ et les produits stockés dans les silos ou les greniers, certains d'entre eux produisent également des métabolites toxiques appelés mycotoxines (Gauthier, 2016). Parmi les nombreuses espèces, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* sont particulièrement importants car ils causent des maladies des plantes entraînant des réductions de rendement pouvant atteindre 50 % (Pal *et al.*, 2014).

I.1.4.3. *Macrophomina*

I.1.4.3.1. Description

Macrophomina phasoelina est un champignon ascomycète de la famille de Botryosphaeriaceae. Il est caractérisé par des hyphes hyalins à parois minces de couleur brun clair ou brun foncé (brun noir) avec des cloisons. Il peut présenter une grande hétérogénéité dans la couleur du mycélium, la distribution des microsclérotés et la formation des pycnides. Ce champignon est un champignon généraliste du sol présent partout dans le monde. Il affecte au moins 500 espèces de plantes dans plus de 100 familles et provoque des maladies telles que la pourriture des tiges et des racines, la pourriture charbonneuse et la brûlure des semis. Sous des températures élevées et à une faible humidité du sol, ce champignon peut provoquer des

pertes de rendement substantielles des cultures telles que le soja, le sorgho, et d'arachide. La large gamme d'hôtes et la forte persistance de *M. phasoelina* dans le sol sous forme de micro sclérotés rendent la lutte contre la maladie difficile (Marquez *et al.*, 2021).

I.2. Moyens de lutte

I.2.1. Méthodes culturales

Les pratiques culturales influencent significativement le développement des maladies des plantes en modifiant les conditions environnementales (pH, température, humidité du sol). Des techniques comme la fertilisation, l'irrigation, l'aménagement des cultures, le travail du sol et l'amélioration générale des conditions de croissance peuvent contribuer à leur réduction (Maufras, 2001 ; Hosford, 2012). L'irrigation, par exemple, peut avoir des effets contrastés : des études ont démontré une plus forte incidence de *Phytophthora* avec l'irrigation par rigole, impactant négativement la rentabilité de la culture du poivron. La rotation des cultures est une méthode particulièrement efficace contre les maladies racinaires causées par des champignons telluriques comme *Fusarium* et *Verticillium* (Guyader, 2020 ; Lepoivre, 2003). Néanmoins, sa mise en œuvre peut s'avérer complexe et ne garantit pas systématiquement une productivité optimale (Tran *et al.*, 2021).

I.2.2. Approche transgénique

Les pratiques d'innovations ont été utilisées pour modifier génétiquement les plantes afin d'améliorer leur valeur nutritionnelle, la qualité des cultures et leur résistance contre divers ravageurs (Singh *et al.*, 2017). Divers gènes provenant de différentes sources ont été utilisés pour transformer les plantes en variétés résistantes aux fongiques. A cet effet, les enzymes obtenues en dégradant la chitine cellulaire dans les pathogènes sont utilisées comme mécanisme de défense. Les plantes transgéniques développées avec des gènes de chitinase ont montré une résistance aux infections fongiques. D'autres gènes, tels que la chitinase (chi1) de *Rhizopus oligosporus* et la chitinase (RCC2) de riz dans le chrysanthème résistant à la moisissure grise, ont également montré une résistance contre certains phytopathogènes (Singh *et al.*, 2017). Cependant, cette technique aurait un impact sur la diversité des cultures ainsi que sur la diversité des microorganismes bénéfiques à la croissance de la plante et pourrait contribuer au développement de la résistance chez les microorganismes nuisibles (Ubalua, 2009).

I.2.3. La lutte chimique

La lutte chimique est une méthode utilisée pour lutter contre les phytopathogènes (Leroux *et al.*, 2003). Elle est basée sur l'application de fongicides conçus pour détruire,

affaiblir ou repousser les organismes nuisibles (**Ajouz, 2009**). Ces produits ont généralement un effet fongistatique ou fongicide. Comme fongicides utilisés on citera les strobilurines, le metsulfuron-méthyl qui agissent en inhibant la synthèse de l'ATP chez les fongiques généralement utilisées dans le contrôle de *Zymoseptoria tritici*, agent responsable de la septoriose du blé (**Torriani et al., 2009**), les mancozèbes généralement utilisés dans le contrôle des champignons du genre *Alternaria*, *Fusarium* qui inhibe la synthèse des protéines et des acides nucléiques dans les cellules fongiques. Cependant, bien qu'étant la méthode la plus utilisée, et malgré son efficacité, ils ont un impact négatif sur l'environnement et la santé humaine et peuvent entraîner des espèces résistantes dans le temps (**Liu et al., 2023**).

I.2.4. Lutte biologique

La lutte biologique fait référence à une réduction ou à une suppression des activités et des populations d'un ou plusieurs agents pathogènes des plantes grâce à l'utilisation d'agents biologiques, pour la protection des plantes. À cette fin, plusieurs organismes vivants appelés agents de lutte biologique (ALB) sont utilisés pour contrôler plusieurs agents pathogènes des plantes ainsi que les maladies causées par ceux-ci (**Hajek et Eilenberg, 2018**). On pourra citer : les levures, les virus, les actinomycètes, les champignons et les bactéries qui sont généralement utilisés comme ALB et ont un large éventail d'actions sur les agents pathogènes des plantes (**Guetsky et al., 2002**). Les ALBs sont recommandés dans la gestion intégrée des maladies des plantes en raison de leur capacité à éviter les maladies avec des niveaux de gravité élevés, en réduisant les dommages quantitatifs et qualitatifs (**Hajek et Eilenberg, 2018**). En effet, selon **Berg. (2009)**, il existe un marché croissant pour les inoculas microbiens à travers le monde, avec un taux annuel d'environ 10 %. Par ailleurs, les inoculas microbiens, comparés aux pesticides et aux engrais chimiques, sont : plus sûrs, réduisent les dommages environnementaux, ont une activité plus ciblée, sont efficaces en plus petites quantités et sont moins susceptibles d'induire une résistance chez les agents pathogènes et les ravageurs (**Berg, 2009**). L'utilisation des ALB a été principalement documentée dans la littérature comme une alternative potentielle pour contrôler les phytopathogènes (**Wegulo et al., 2015 ; Tian et al., 2016**). Des études récentes ont identifié des agents bactériens, principalement *Bacillus* et *Pseudomonas*, comme les micro-organismes les plus couramment étudiés pour contrôler les phytopathogènes notamment *Fusarium* et *Aspergillus* (**Gowtham et al., 2016 ; Müller et al., 2016 ; Palazzini et al., 2016**). A cet effet, les bactéries associées aux racines des plantes connues sur le nom de bactéries rhizosphériques peuvent être d'excellents agents de lutte biologique (**Fourneau et al., 2024**) en raison de leur capacité à produire des effets plus intéressants dans

le contrôle des maladies des plantes. Bien que cette technique présente de nombreux avantages, leur efficacité reste limitée par les phénomènes de changement climatique ((Anokhe *et al.*, 2024) et reste restreinte lors d'une grande pression de ravageur (Lefort, 2010).

I.3. Les rhizobactéries comme agent de lutte biologique

I.3.1. Définition

Les rhizobactéries sont des bactéries associées aux racines très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante (Dorjey *et al.*, 2017). Leur nature hétérotrophique typique nécessite l'utilisation de composés organiques comme source d'énergie et leurs besoins sont entièrement satisfaits à l'intérieur de la plante et même dans la rhizosphère.

I.3.2. Diversité des rhizobactéries

La rhizosphère végétale contient diverses espèces de rhizobactéries qui ont le potentiel d'améliorer la croissance des plantes et l'activité de lutte biologique. Les différents genres PGPR comprennent *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcous*, *Pseudomonas*, *Serratia* et *Cellulomonas Flavigena*. (Gray et Smith, 2005 ; Duy *et al.*, 2016). Par ailleurs on distingue les rhizobactéries endophytes fixatrices d'azote tels que *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Rhizobium* de la famille des *Rhizobiaceae* qui colonisent légumineuses et augmentent la croissance des plantes directement ou indirectement. Les autres PGPR tels que *Pantoea*, *Methylobacterium*, *Exiguobacterium*, *Paenibacillus* et *Azoarcus* colonisent également les racines et présentent de nombreux effets bénéfiques sur les plantes. Un autre groupe de rhizobactéries les actinomycètes ceux-ci stimulent la croissance des plantes et suppriment les agents pathogènes des plantes par la colonisation des racines. Certaines souches du genre d'actinomycètes *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Thermobifida* et *Micromonospora* ont été signalées comme présentant une activité de contrôle biologique contre les agents pathogènes fongiques des racines (Franco-Correa *et al.*, 2010).

I.3.3. Interactions entre les microorganismes de la rhizosphère

Au niveau de la rhizosphère, de nombreuses interactions intenses entre les microorganismes se produisent ; ces interactions sont catalysées par les exsudats racinaires qui favorisent certains groupes de microorganismes au dépend d'autres (Curl et Truelove, 1986). Les interactions sont les suivantes :

➤ Le commensalisme :

C'est une relation biologique naturelle entre deux êtres vivants dans lequel l'hôte donne une partie de sa nourriture à un visiteur sans recevoir d'effets négatifs. Dans la rhizosphère, ce phénomène se manifeste par des changements environnementaux, comme l'humidité et le pH, réalisé par un microorganisme qui favorise la croissance d'un autre. De plus certains organismes peuvent dégrader ou neutraliser des substances toxiques facilitant ainsi le développement d'autres espèces. (**Curl et Truelove, 1986**).

➤ Le mutualisme :

De manière générale, la symbiose est une relation permanente entre deux organismes d'espèces différentes bénéfiques pour les deux parties. On distingue deux types de symbiose : le mutualisme, où chaque organisme dépend de l'autre pour sa survie, et le synergisme (ou proto-coopération), où la présence des deux organismes améliore leur développement, sans que leur survie soit interdépendante (**Nehem, 2008**).

➤ L'antagonisme :

En écologie, le terme d'antagonisme fait référence à une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte. En général, l'antagonisme se manifeste soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose (**Djellout et al., 2019**).

I.3.4. Mécanismes d'actions utilisés par les PGPR pour lutter contre les maladies

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la production d'antibiotiques, la production d'enzymes lytiques, résistance systémique induite, compétition des nutriments. (**Perez-Montano et al., 2013**).

➤ **Production d'antibiotiques**

Les souches rhizobactériennes sont les moyens d'actions les plus étudiés et les plus efficaces pour produire des antibiotiques contre les microbes pathogènes. La production d'antibiotique par les rhizobactéries est extrêmement efficace pour prévenir les infections pathogènes dans la rhizosphère des plantes (**Hakim et al., 2021**). Les antibiotiques produits par les PGPR ont récemment été employés afin de neutraliser les effets néfastes des agents pathogènes présents dans le milieu racinaire des plantes c'est le cas des phénazines, pyrrolnitrines, 2,4-Diacetylphoroglucinol etc... (**Ju et al., 2020**).

➤ **Production d'enzymes lytiques**

Les PGPR produisent des enzymes lytiques (lipases, les chitinases, les protéases et les glucanases) qui sont sécrétées à l'extérieur de la cellule et qui ont la capacité de dégrader les parois cellulaires des phytopathogènes. Ces enzymes ciblent divers composés polymériques tels que les protéines, la cellulose, la chitine et l'hémicellulose, représentant ainsi une forme cruciale de biocontrôle (**Mukhtar *et al.*, 2019**). La dégradation de ces composés par les enzymes lytiques entraîne une suppression directe de la croissance des phytopathogènes dans le sol par décomposition de la paroi cellulaire (**Kumari *et al.*, 2019**).

➤ **Résistance systémique induite (RSI)**

La résistance induite est définie comme une amélioration de la capacité de défense de la plante contre un large spectre de pathogènes et de ravageurs, acquise après une stimulation appropriée. La résistance accrue produite par un agent inducteur lors d'une infection par un pathogène est appelée résistance systémique induite (RSI) ou résistance systémique acquise (RSA). L'induction d'une résistance systémique par les rhizobactéries est appelée RSI, tandis que d'autres organismes la désignent RSA. Les PGPR activent l'RSI, une voie impliquant la signalisation du jasmonate et de l'éthylène, conférant une protection non spécifique contre les champignons pathogènes, les bactéries, les virus ainsi que contre plusieurs insectes et nématodes (**Zamioudis et Pieterse, 2012**). Un grand nombre d'enzymes de défense ont été associées à l'RSI, notamment la phénylalanine ammoniac lyase (PAL), la chitinase, la β -1,3-glucanase, la peroxydase (PO), la polyphénol oxydase (PPO), la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la lipoxygénase et les inhibiteurs de protéinase (**Murali *et al.*, 2021**). Ces enzymes provoquent également la libération de molécules qui déclenchent les premières étapes de l'induction de la résistance, des phytoalexines et des composés phénoliques.

➤ **Compétition pour les nutriments**

Dans la rhizosphère, les pathogènes interagissent de manière indirecte par le biais de la concurrence pour les ressources, notamment l'espace et les nutriments. Ce territoire est souvent caractérisé par une disponibilité limitée en nutriments, ce qui pousse les microbes à se fixer sur des sites où l'eau et les éléments nutritifs sont accessibles. Pour prospérer dans un tel environnement, les microbes déploient des stratégies, telles que la production des sidérophores hautement spécifiques pour le fer, afin de restreindre sa disponibilité aux pathogènes et de limiter ainsi leur croissance dans la rhizosphère (**Tabassum *et al.*, 2017**).

I.4. Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

Les rhizobactéries sont fortement stimulées par l'effet rhizosphérique. Elles activent la croissance des plantes, influencent de manière bénéfique la plante en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (**Ramjegathesh, 2013**). Les PGPR colonisent la rhizosphère en utilisant les exsudats racinaires comme substrats nutritifs, mais à la différence des autres bactéries rhizosphériques elles ont, en retour, un effet bénéfique sur la plante via la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation du phosphate, la production de phytohormones (**Jørgensen et al., 2000 ; Kang et al., 2013**).

➤ Solubilisation du phosphate

La fertilisation du sol est l'une des méthodes les plus communes pour accentuer la production agricole. Le phosphore est un macronutriment indispensable à la croissance et au développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. Malgré son abondance dans le sol, il n'est assimilable par les plantes qu'une fois solubilisé. Le phosphore insoluble peut être sous une forme organique ou inorganique (**Chaiharn et Lumyong, 2009**). Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate (PSB) sont exploitées pour leurs caractéristiques de solubilisation et de minéralisation du phosphore et sont introduites et employées constamment dans la rhizosphère (**Ahemad, 2015**). Parmi les microorganismes bactériens nous pouvons citer les genres : *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, et *Erwinia*. (**Khabbaz et al., 2019**). De plus, ces bactéries protègent les plantes des pathogènes par la production d'antibiotiques, d'HCN et de métabolites antifongiques. Elles favorisent également la croissance des plantes par la fixation d'azote (N₂), la production de sidérophores et la sécrétion de phytohormones (**Ahemad, 2015**).

➤ Fixation d'azote

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est un élément crucial des activités microbiennes dans l'environnement. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N₂) inaccessible aux animaux et aux plantes. L'azote atmosphérique est converti par de nombreux genres bactériens reconnus comme fixateurs d'azote, qui peuvent être libres (*Azobacter spp ; Klebsiella pneumoniae*) ou symbiotiques (*Rhizobium meliloti*) (**Roger et al., 1996**) en des formes assimilables à l'aide d'un système enzymatique complexe connu sous le nom de nitrogénase (**Glick, 1995**). Ces bactéries facilitent la croissance des plantes en fournissant les nutriments souvent présents uniquement en quantités limitées dans plusieurs sols

(Glick, 2012). Les plantes peuvent acquérir l'azote sous deux formes minérales, soit le nitrate (NO_3^-) ou l'ammonium (NH_4^+) (Mantelin et Touraine, 2004).

➤ Production des phytohormones (production d'hormones de croissance)

La production des phytohormones par les PGPR est un mécanisme essentiel, auquel plusieurs rhizobactéries approuvent la croissance des plantes (Spaepen *et al.*, 2008). Les hormones végétales (les auxines, les gibbérellines et les cytokinines) sont des messages chimiques qui aident la plante à se défendre dans son environnement. Ce sont de petites molécules de signal produites en très faible concentration influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (Baca *et al.*, 2007 ; Martinez-Viveros *et al.*, 2010). De manière générale, elles jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques (Gupta *et al.*, 2015), ainsi que dans l'amélioration de la croissance des plantes (Glick, 2012).

1.5. Etat des lieux de la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes

Au fil du temps, la lutte biologique a connu des avancées significatives, grâce aux efforts de nombreux chercheurs qui ont pu identifier et exploiter plusieurs agents de lutte biologique. Parmi ces chercheurs on pourra citer à titre d'exemple :

Kadyan *et al.* (2013) qui ont rapporté que, les souches de *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus*, *Terribacillus* et *Jeotgalibacillus* isolées de la rhizosphère de *Phyllanthus amarus* ont une activité inhibitrice contre le phytopathogène *Corynespora cassiicola*.

Jog *et al.* (2014) qui ont pu montrer le potentiel antagoniste de la souche *Actinobacteria* isolée de la rhizosphère *Triticum aestivum* contre les phytopathogènes *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Microsporum gypseum*.

Hunziker *et al.* (2015) ont rapporté que la souche *Pseudomonas fluorescens* possède une activité antagoniste contre *Phytophthora infestans* agent responsable du mildiou de pommes terre.

Boukerma *et al.* (2017) ont identifié que les souches *Pseudomonas putida* & *Pseudomonas fluorescens* possédaient une activité inhibitrice contre *Fusarium oxysporum* causant des infections chez les plantes de tomate.

Kumar et al. (2019) qui ont démontré que *Bacillus subtilis* isolée des sols semi-arides de l'Inde a une activité inhibitrice contre *Colletotrichum capsici* (agent causal de la pourriture des fruits chez les plantes).

Silva et al. (2020) qui ont pu prouver que *Streptomyces griseus* isolée des sols semi-arides du Brésil possède une activité contre *Fusarium verticillioides* (agent causal de la pourriture des racines chez les plantes).

Khan et al. (2024) ont démontré que les isolats issus de la rhizosphère *Vigna radiata*.L de MRP-7 et MRP-12 ont présenté une activité antifongique respectivement de 58% et 55% vis à vis de *Macrophomina phaseolina* de plus, ces isolats ont pu réduire significativement l'incidence de la pourriture charbonneuse et améliorer diverses croissance agronomique chez la plante hôte.

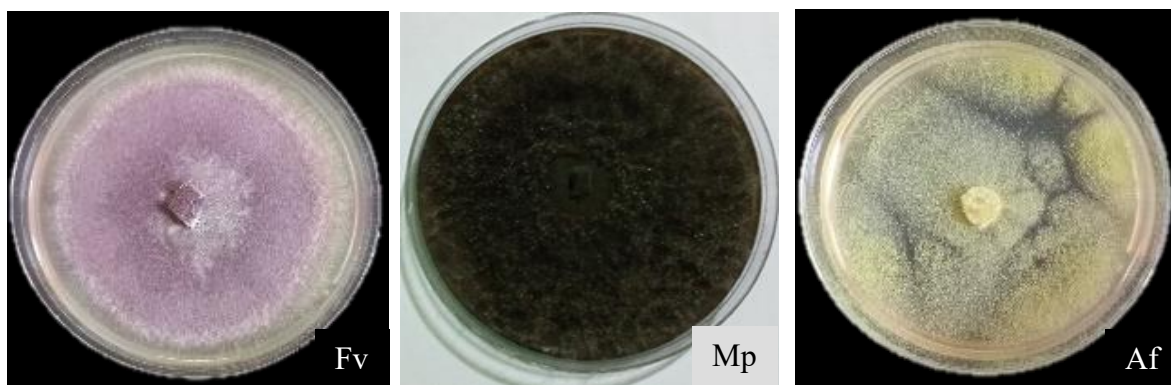
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel microbiologique

Le matériel microbiologique était constitué de trois souches de champignons phytopathogènes à savoir : *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* fournies par la banque des souches du Laboratoire de Phytobiochimie et d'Etudes des Plantes Médicinales de l'Université de Yaoundé I. Les souches de *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* utilisées dans cette étude ont été isolées respectivement des graines de maïs et d'arachides présentant des symptômes de pourriture.



Photographie 1: Les souches de champignons phytopathogènes utilisées dans cette étude.

Fv : *Fusarium verticillioides* ; **Mp :** *Macrophomina phasoelina* ; **Af :** *Aspergillus flavus* (**Photographie CHUIDJANG, 2024**).

II.1.2. Matériel végétal

Les semences de maïs de la variété CMS (Cameroon Maize Selection 8704) utilisées dans cette étude ont été fournies par l'Institut de recherche agronomique pour le développement (IRAD) (**Photographie 2**).



Photographie 2: Semences de maïs variété 8704 (**CHUIDJANG, 2025**)

II.2. Méthodes

II.2.1. Isolement des rhizobactéries

II.2.1.1. Présentation du site d'isolement

La commune de Yagoua (**figure 2**) est une commune du Cameroun située dans la région de l'extrême-nord à proximité de la frontière avec le Tchad (Bongor). Cette commune est le chef-lieu du département du Mayo-Danay avec une superficie estimée à 950 km² et dont les coordonnées géographiques sont 10° 20' 34" de latitude Nord et 15° 14' 26" de longitude Est (Ousma *et al.*, 1975).

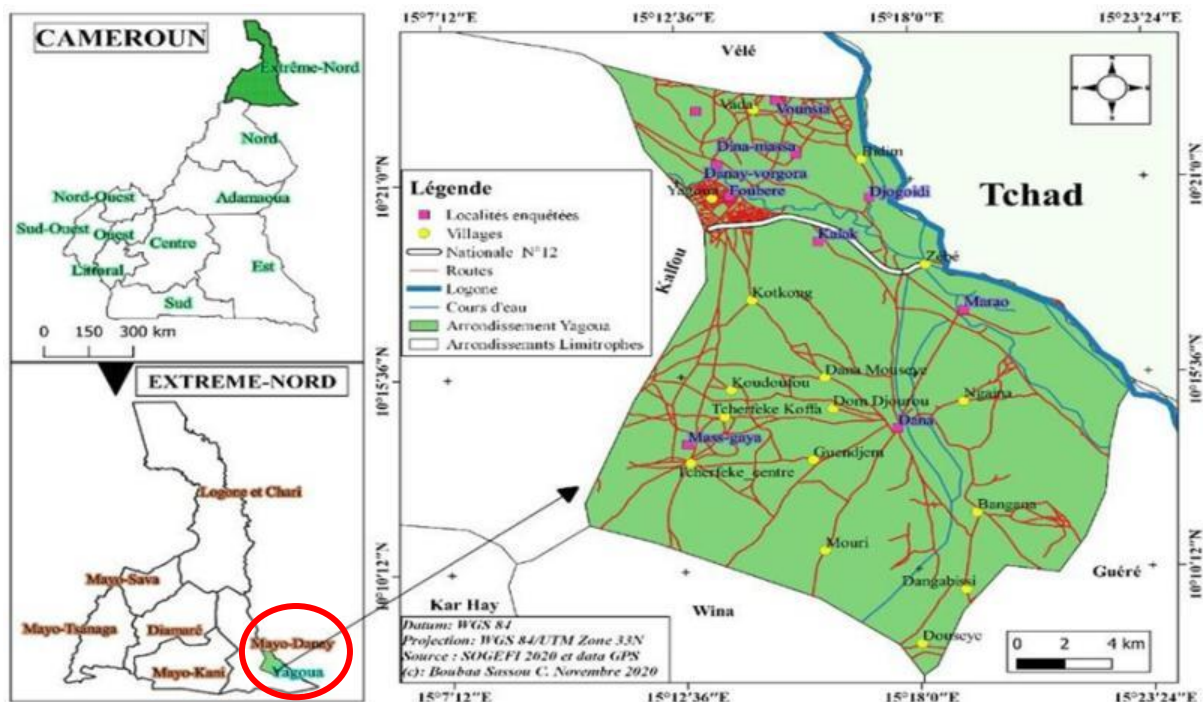


Figure 2: Carte du Cameroun montrant la zone d'étude (Yagoua).

II.2.1.2. Sites choisis pour les prélèvements

Les échantillons utilisés dans cette étude comprennent les sols rhizosphériques et des racines de neem (*Azadirachta indica*) prélevés à différents sites à savoir : Guidanmoutou, Zébé, Woudata situé dans le département du Mayo danay, arrondissement de Yagoua. Les différents échantillons ainsi que leurs sites et leurs dates de prélèvements sont mentionnés dans le **tableau I** ci-dessous :

Tableau II : Sites et date de prélèvements des échantillons rhizosphériques

Sites de prélèvements	Échantillons prélevés	Date de prélèvement
Guidanmoutou	Sol rhizosphérique et racines du neem (<i>Azadirachta indica</i>)	01/05/2024
Zébé	Sol rhizosphérique	01/05/2024
Woudata	Sol rhizosphérique	01/05/2024

II.2.1.3. Collecte des échantillons et isolement des rhizobactéries

La collecte des sols rhizosphériques a été effectuée en suivant le protocole décrit par **Waday *et al.* (2022)**. Après avoir creusé à une profondeur de 15 à 20 cm, les échantillons de sol rhizosphérique ont été collectés sur les sites de Guidanmoutou, Woudata et Zebe tandis que le système racinaire associé à la masse de sol rhizosphérique a été collecté sur le site de Guidanmoutou. A la fin de la collecte, tous ces échantillons ont été introduit dans des sacs en plastique stérile, étiquetés puis conservés dans une glacière jusqu'au laboratoire. Dans des conditions stériles de laboratoire, 10 g d'échantillons de sol rhizosphérique ont été pesés, puis dilués dans 100 ml de solution d'eau physiologique contenant 0,9% de NaCl. Le flacon contenant la solution a été agité sur un agitateur (200 tr/min) pendant 90 min à 4°C. Par la suite, 1ml de la suspension de cette terre a été utilisée pour préparer des dilutions en série (10^{-1} à 10^{-5}) et 100 µl des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} (**figure 3**) ont été utilisées pour l'étalement sur des boîtes de Petri contenant le milieu Nutrient Agar (NA) à l'aide d'une anse stérile et incubées pendant 5 à 7 jours à 28°C.

Pour ce qui est des racines, les échantillons de racines ont été lavés à l'eau du robinet pour éliminer l'excès de terre, puis coupés en morceaux de 2 à 3cm à l'aide d'une lame stérile. La surface de chaque échantillon de racine a été stérilisée à l'aide d'une solution d'éthanol de 75% pendant 5 min et d'une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant 1 min. Ensuite, les racines ont été rincées quatre fois à l'eau distillée stérile pendant 10 min puis écrasées à l'aide d'un pilon et d'un mortier stérile. Pour l'isolement, 10 g d'extrait tissulaire de racines broyé ont été ajoutés à 100ml d'eau physiologique contenant 0,9% de NaCl agités sur un agitateur (200 tr/min) pendant 90min à 4°C. Par la suite, 1ml de cette suspension a été utilisée pour préparer une dilution en série (10^{-1} à 10^{-5}) et 100 µl des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} (**figure 3**) ainsi que l'eau stérile utilisée lors du rinçage final a été étalée sur des boîtes de Petri contenant

le milieu NA (Nutrient Agar) à l'aide d'une anse stérile et incubées pendant 5 à 7 jours à 28°C (Bibi *et al.*, 2024).

Tous les isolats ont été soumis à des étapes de purification successives en les cultivant à nouveau sur milieu NA et conservés à 4°C pour des utilisations ultérieures (Bibi *et al.*, 2024).

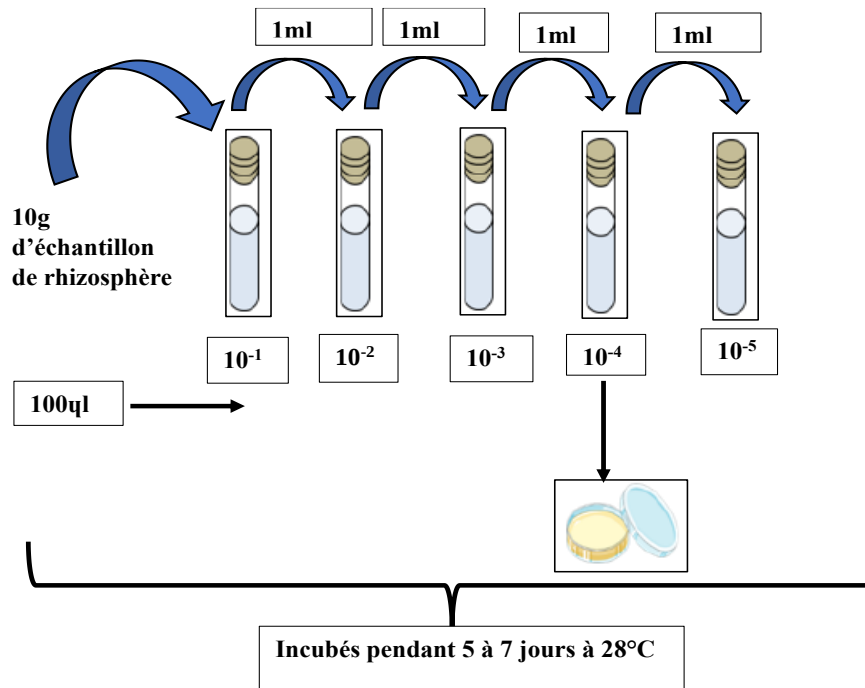


Figure 3: Préparation de la solution mère et dilution en série des échantillons de rhizosphère (sols rhizosphériques et extrait tissulaire de racine broyé).

II.2.2. Identification des isolats bactériens

L'identification des isolats bactériens obtenus a été faite sur la base des caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques).

II.2.2.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique consistait à faire une observation des colonies bactériennes à l'œil nu prenant en compte des éléments d'identifications suivants (Singleton, 2005) :

- La forme des colonies : circulaires, filamenteuses, irrégulières, rhizoïdes.
- L'élévation : convexe, bombée, plate, bossue, en forme de cratère.
- Le contour des colonies : réguliers, ondulés, filamenteux, bouclés, lobés.
- La surface de la colonie : lisse et rugueuse.
- L'opacité : translucides et transparentes.
- Couleur : rose, jaune, vert, jaunâtre.

- Consistance des colonies : sèches, crémeuses, muqueuses.

II.2.3. Criblage préliminaire des isolats a potentiels antagonistes

Le criblage préliminaire des isolats antagonistes a été effectué selon le protocole décrit par Nysanth *et al.* (2022) avec quelques modifications. En effet, les isolats bactériens ont été cultivés sur gélose nutritive pendant 24 h à 28°C et les phytopathogènes ont été cultivés sur milieu PDA pendant 5 jours à 28°C. Le milieu de gélose nutritive (NA) a été coulé dans les boîtes de Petri de 90 mm de diamètre et après solidification, un bloc d'agar (1cm de diamètre) a été coupé et retiré du centre de la boîte avec un perce-bouchon stérile (**figure 4**) afin de s'assurer que les stries bactériennes ne se touchent pas. Par la suite, un isolat bactérien a été ensemencé sous forme de stries discontinues droites de 8cm de longueur le long du diamètre de la boîte puis, une strie perpendiculaire de la même longueur a été réalisée avec un autre isolat de manière similaire le long du centre de la boîte de pétri de tel sorte que les stries apparaissent comme un signe plus (+) avec une zone vide au centre (**figure 4**) puis, un seul disque mycélien de 5mm de diamètre provenant de chacun des trois champignons différents a été placé dans le quart de la boîte à équidistance (1,5cm) des deux bras de la strie en forme plus (+) comme indiqué précédemment. Les phytopathogènes inoculés dans le même ordre sans aucune inoculation bactérienne ont servi de témoin et les boîtes de NA inoculées individuellement avec chacun des phytopathogènes ont servi de deuxième contrôle afin de connaître l'effet interactif des phytopathogènes entre eux lorsqu'ils sont inoculés ensemble dans une plaque. Enfin, toutes les boîtes ont été incubées à $25 \pm 2^\circ \text{C}$ et des observations ont été faites chaque 24h pendant 3 à 4 jours et la présence de zone d'inhibition observable à l'œil nu dans les boîtes d'essais a été enregistrée.

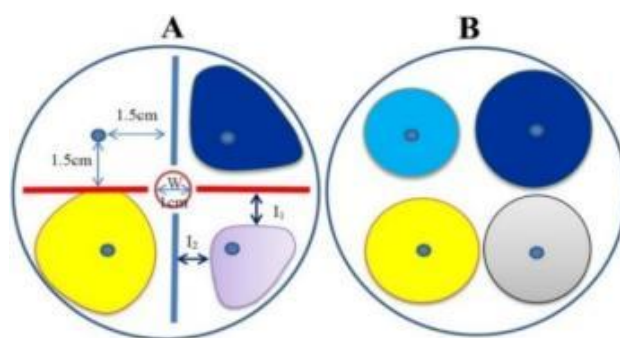


Figure 4: Représentation schématique du test de strie positives modifiée (MPS) pour tester l'antagonisme des souches bactériennes vis-à-vis des champignons phytopathogènes (Nysanth *et al.*, 2022).

Suite au test de criblage effectué, les isolats bactériens qui ont présenté une activité antagoniste vis-à-vis des phytopathogènes ont été sectionnés et soumis à un examen microscopique basé sur la coloration de Gram dans le but de distinguer le groupe bactérien (bactérie à Gram + ou bactérie à Gram -) auquel appartient chaque isolat.

II.2.4. Examen microscopique

L'examen microscopique renvoie à une observation à l'état frais permettant ainsi d'explorer la mobilité des cellules bactériennes, leurs modes de groupements et de faire une approche de leur morphologie (Singleton, 2005). En effet, cet examen microscopique basé sur la coloration de Gram repose sur une coloration différentielle de base, permettant de distinguer deux grands groupes bactériens en fonction de la composition de leurs parois et de leurs affinités aux différents colorants. Ainsi les bactéries qui apparaissaient de coloration violette au microscope étaient qualifiées de bactéries à Gram + tandis que, celle qui apparaissaient de coloration rose au microscope étaient qualifiées comme étant des bactéries à Gram-.

Cette coloration de Gram est basée sur l'action successive de plusieurs substances dont le protocole se déroule comme suit :

- ✓ Préparation du frottis bactérien : cette étape consistait à prélever une colonie bactérienne pure, à l'étaler sur une lame de microscope et à laisser sécher celle-ci.
- ✓ Recouvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 1 minute
- ✓ Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau
- ✓ Recouvrir la lame de Lugol et laisser agir 1 minute
- ✓ Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau
- ✓ Recouvrir la lame de l'alcool pendant 30 secondes
- ✓ Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau
- ✓ Recouvrir la lame à la fushine pendant 1 minutes
- ✓ Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau
- ✓ Laisser sécher puis observer au microscope optique (objectif x 100 à immersion) (Singleton, 2005).

II.2.5. Evaluation approfondie du potentiel antagoniste

Les isolats bactériens présentant une activité inhibitrice vis-à-vis des champignons phytopathogènes à l'issue du test de criblage, ont été sélectionnés pour des tests d'antagonismes approfondis à travers des méthodes de confrontation directe et de confrontation indirecte.

II.2.5.1. Test d'antagonisme par confrontation directe

La mise en évidence du potentiel antagoniste des isolats bactériens à l'égard des trois souches fongiques : *Aspergillus flavus*, *Macrophomina phaseolina* et *Fusarium verticillioides* par le test de confrontation par contact direct a été réalisée suivant le protocole décrit par **Shakeel et al. (2018)** suivi de quelques modifications.

En effet, dans une boîte de petri contenant 15 ml de milieu de culture Nutrient Agar (NA) fraîchement préparés, les isolats bactériens âgés de 24h ont été inoculés sous forme de ligne rectiligne à 1 cm de l'extrémité opposée de la boîte et un disque de 5 mm de diamètre de chacune des souches pathogènes âgées de 5 jours a été déposé à 1 cm de l'autre extrémité de la boîte de Petri. Les contrôles étaient constitués par culture des souches pathogènes individuellement dans des boîtes de petri. Les boîtes ont été scellées à l'aide du parafilm et incubées à $(25 \pm 2^\circ \text{C})$ pendant 7 jours. Des observations ont été faites ainsi que la mesure du diamètre de croissance mycélien de chacun des isolats par rapport au contrôle. La capacité de chaque isolat bactérien à inhiber la croissance mycélienne est déterminée en calculant le pourcentage d'inhibition de la croissance (PIC%) selon la formule suivante décrit par **Fiddaman. (1993)** :

$$\text{PIC \%} = \frac{\text{dT} - \text{dS}}{\text{dT}} \times 100$$

Où : **dT** : Distance en cm entre le centre du disque du champignon dans le témoin et la périphérie. **dS** : Distance en cm entre le centre du disque du champignon phytopathogène et la marge de la colonie contenue dans la boîte de Petri traitée.

II.2.5.2. Test d'antagonisme par confrontation indirecte

La confrontation indirecte met en évidence la production des substances antagonistes volatiles par les ALBs. Elle a consisté à confronter indirectement les isolats bactériens âgés de 24h et les champignons phytopathogènes âgés de 5 jours afin d'évaluer l'action antagoniste des substances volatiles sécrétées par ces agents de lutte biologique. Ce test a été réalisé suivant le protocole décrit par **Bezert et al. (1996)**. En effet, dans une boîte de Petri contenant le milieu PDA supplémenté à l'ampicilline (250 mg/l), les explants de 5 mm de diamètre de chaque souche pathogène ont été placés au centre de la boîte de Petri, les couvercles des boîtes ont été remplacés par une autre boîte de Petri contenant le NAensemencé chacune par un isolat bactérien différent par la méthode de stries. Celles-ci ont été scellées avec du parafilm et incubées $(25 \pm 2^\circ \text{C})$ pendant 7 jours. Des observations quotidiennes ont été faites ainsi que la

mesure du diamètre de croissance de chacun des isolats pathogènes. Les contrôles ont été faits par culture des souches pathogènes individuellement dans des boîtes de Petri. Le pourcentage d'inhibition de la croissance (PIC%) a été calculé en utilisant la formule ci-dessus mentionnée.

II.2.6. Potentiel antagoniste *in planta* des rhizobactéries contre *F. verticillioides*

A la suite des tests de confrontations réalisés, l'efficacité des isolats bactériens ayant présentés des taux d'inhibitions élevés a été évalué *in planta* vis-à-vis du phytopathogène qui s'est avéré être plus résistant.

II.2.6.1. Préparation de l'inoculum bactérien

Les colonies des isolats SZ1, SZ12 et SZ15 ont été utilisées pour la préparation des inoculas. Les colonies bactériennes ont été raclées à la surface des boîtes de Petri contenant le milieu de culture à l'aide d'une anse stérile et introduite dans un tube à vice contenant 15ml d'eau saline stérile. Les suspensions ont été homogénéisées par agitation et comparées à la solution standard 1McFarland (3×10^8 UFC/ml) par observation visuelle.

II.2.6.2. Préparation de l'inoculum fongique

Les spores de *F. verticillioides* ont été obtenus en inondant une culture de 7 jours sur milieu PDA (incubé à 28 °C) avec 10 ml d'eau distillée stérile, les conidies ont été délogées en grattant la surface du milieu avec le bout d'un scalpel stérile. Le liquide résultant a été filtré à travers du papier filtre stérile pour éliminer les débris de mycélium et de milieu. Le filtrat obtenu contenant des spores a été ajusté à la concentration 2×10^6 conidies/ml en y ajoutant de l'eau distillée stérile (Omar *et al.*, 2006).

II.2.6.3. Désinfection des semences de maïs et inoculation

La désinfection des semences et leur inoculation a été effectuée suivant le protocole décrit par Dinango *et al.* (2023) suivi de quelques modifications. En bref, les semences de maïs saines et de taille uniforme sélectionnées ont été désinfectées en surface avec de l'éthanol 70% pendant 3 minutes puis, immergées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant cinq minutes et rincer vigoureusement avec de l'eau distillée stérile. Par la suite, les semences ont été inoculées avec les différents inoculas bactériens calibrer au 1McFarland (3×10^8 UFC /ml) préalablement préparés et laisser sous agitation au shaker à 200 tours/min pendant 24h.

II.2.6.4. Infection avec *F. verticillioides* et dispositif expérimental

Après inoculation avec les isolats bactériens, les semences ont été infectées avec une suspension de *F. verticillioides* (2×10^6 conidies/ml) pendant 1h et placées dans les boîtes de Petri (10 graines par boîte et cinq boîtes par traitement) préalablement tapissées de papier absorbant imbibé d'eau distillée stérile et incubées pendant 10 jours. Les semences inoculées avec de l'eau distillée stérile ont été utilisées comme control positif et celles infectées uniquement avec *F. verticillioides* ont été utilisées comme control négatif (Dinango *et al.*, 2023). Les boîtes étaient arrosées après chaque deux jours avec de l'eau distillée stérile.

Le dispositif expérimental était compris de cinq traitements différents, chacun étant reproduit dans cinq boîtes :

T0 : CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile

T1 : Fv = Semences de maïs infectées avec une suspension de *F. verticillioides*

T2 : SZ1+ Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides*

T3 :SZ12 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides*

T4 :SZ15 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*.

II.2.7. Paramètres évalués

10 jours après semis, nous avons évalué l'effet des différents traitements sur plusieurs paramètres tels que : les paramètres de croissance, les paramètres liés à la maladie, les paramètres physiologiques et les paramètres biochimiques.

II.2.7.1. Paramètres de croissance

Avant de passer à la collecte des différents paramètres de croissance, les plantules ont été premièrement retirées soigneusement du milieu de croissance afin d'éviter d'endommager les racines puis, elles ont ensuite été étalées sur une surface plane pour visualiser l'ensemble du système racinaire. Ainsi, l'effet des différents traitements a été évalués par mesure des paramètres de croissance suivants :

- Longueur des parties aériennes et racinaires des plantules (chaque plantule a été mesurée à la base de la tige jusqu'à la pointe de la feuille) ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée en centimètres.
- Les biomasses fraîches, sèches des parties aériennes et racinaires des plantules ont été mesurées à l'aide d'une balance sensible.

II.2.7.1.2. Paramètres liés à la maladie

Les paramètres liés à la maladie tels que le pourcentage de germination, l'indice de vigueur et le pourcentage de protection ont été déterminés selon les formules décrites ci-après :

➤ Le Pourcentage de germination (%G)

Il se définit comme étant le rapport du nombre de graines germées (NG) sur le nombre total de graines (NGT). D'où la formule :

$$\%G = (NG/NGT) \times 100$$

➤ Indice de vigueur (IV)

Il a été obtenu en multipliant les pourcentages de germination (%G) par la hauteur totale des plantules (H). L'indice de vigueur a été calculé selon la formule décrit précédemment :

$$IV (\%) = G \times H$$

➤ Le pourcentage de protection (PP) : Il a été déterminé comme suit :

$$\text{Pourcentage de protection} = 100 - S_m$$

Où **S_m** correspond à la Sévérité de la maladie. Elle a été déterminée suivant le protocole de (Mitsuro *et al.*, 2013) à partir de l'échelle de sévérité de 0 à 5 où :

- (0) Semences saines ;
- (1) Pas de mycélium visible à la surface des semences, présence de lésions bronzées sur les racines ;
- (2) Surface des semences partiellement recouverte de mycélium, présence de lésions bronzées sur les racines ;
- (3) Surface des semences partiellement recouverte de mycélium, présence de lésions bronzées à brunes sur les racines ;

(4) Surface des semences entièrement recouverte de mycélium, présence de lésions bronzées à brunes sur les racines ;

(5) Surface des semences entièrement recouverte de mycélium, présence de lésions brun rougeâtre sur les racines. La formule suivante a été utilisée pour la détermination de la sévérité de la maladie :

$$Sm (\%) = \frac{(5A+4B+3C+2D+E)}{5N} \times 100$$

Où A= nombre de semences dans l'échelle 5 ; B= nombre de semences dans l'échelle 4 ; C= nombre de semences dans l'échelle 3 ; D= nombre de semences dans l'échelle 2 ; E= nombre de semences dans l'échelle 1 ; N= nombre totale de semences examinée.

II.2.7.2. Paramètres physiologiques

II.2.7.2.1. Estimation de la chlorophylle

Les teneurs en chlorophylle a (Chl a), chlorophylle b (Chl b) et caroténoïdes (Car) des plantules de maïs ont été déterminées selon **Lichtenthaler et Wellburn. (1983)** avec de légères modifications. Les feuilles fraîches (0,5g) ont été broyées dans 5 ml de 80% d'acétone et la solution a été laissée macérer pendant 48h et filtrer. 100µl de filtrat obtenu ont été introduit dans une plaque de microtitration de 96 puits et les densités optiques ont été mesurées à 645 ; 663 et 470 nm afin de déterminer les teneurs en chlorophylle a, b et caroténoïdes respectivement en utilisant les formules ci-dessous :

$$Chl\ a\ (mg^{-1}\ ml) = [(12.21A_{663} - 2.81\ A_{646}) \times V] / W$$

$$Chl\ b\ (mg^{-1}\ ml) = [(12.21A_{646} - 5.03A_{663}) \times V] / W$$

$$Carotenoids\ (mg^{-1}\ ml) = [(1000\ A_{470} - 3.27\ Chl\ a - 104\ Chl\ b)/227] \times V / W$$

Où A= Absorbance à des longueurs d'onde spécifiques

V= Volume d'extrait de chlorophylle (5 ml)

W= Poids frais des feuilles (0,5 g)

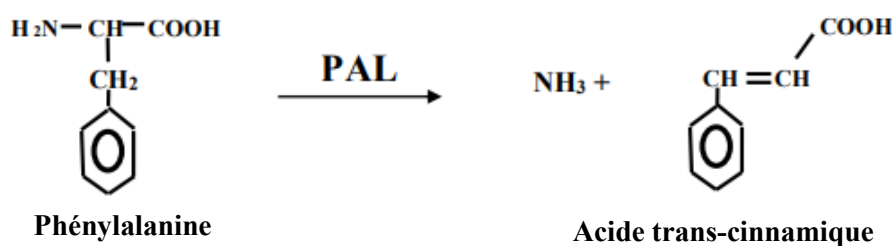
II.2.7.3. Paramètres biochimiques

II.2.7.3.1. Evaluation de l'activité spécifique de la Phénylalanine ammonia lyase (EC 4.3.1.24)

L'enzyme phénylalanine ammoniac lyase (PAL) est une enzyme clé du métabolisme de la phénylalanine qui joue un rôle important dans la croissance des plantes et dans la réponse au stress. Son activité est généralement déclenchée suite à une infection par des agents pathogènes des plantes dans le cadre du mécanisme de défense de la plante.

➤ Principe

En présence de la PAL, la phénylalanine est désaminée conduisant à la formation d'une double liaison carbone-carbone, résultant en acide trans-cinnamique et à la libération d'ammoniac (NH_3). L'acide trans-cinnamique produit peut-être quantifiée par spectrométrie à 290nm.



➤ Mode opératoire

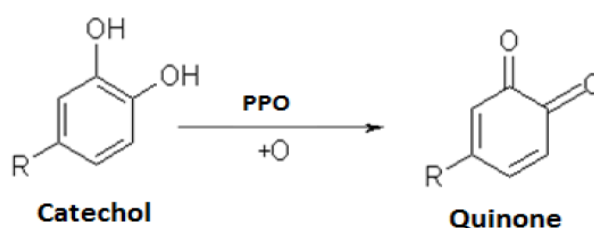
La PAL a été extraite et déterminée selon le protocole décrit par **Wuyts et al. (2006)** suivie de quelques modifications. En effet, 0,5g d'échantillons de plantules fraîches ont été broyés dans 5ml de tampon phosphate de potassium glaciale 50 mM (pH 7,2) et centrifugés à 5 000 tr/min à 4 °C pendant 30min. Le surnageant a été recueilli, filtré et utilisé pour la détermination de l'activité de la PAL. 50 μL de tampon phosphate (50mM ; PH 7,2) ont été ajoutés à 50 μL d'extrait enzymatique et mélangés avec 50 μL de phénylalanine (50 mM). Le blanc a été réalisé en remplaçant l'extrait par 50 μL d'eau distillée et l'ensemble du mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante. La réaction a été arrêtée par l'ajout de 25 μL HCL 2 N et la lecture de la densité optique (DO) a été effectuée à 290 nm. Chaque essai a été répété 3 fois.

II.2.4.7.2. Evaluation de l'activité spécifique de la Polyphénol oxydase (EC 1.14.18.1)

La polyphénol oxydase (PPO) est une enzyme qui joue un rôle important dans la défense des plantes contre les agents pathogènes notamment en réponses aux stress biotiques. La capacité des ALBs à atténuer le stress induit par une infection par *F. verticillioides* sur les cellules végétales a été évaluée en quantifiant l'activité de polyphénol oxydase.

➤ Principe

En présence de la PPO, le catéchol est oxydé, conduisant à la formation de O-quinone qui une fois produit peut-être quantifié par spectrométrie à 540 nm.



➤ Mode opératoire

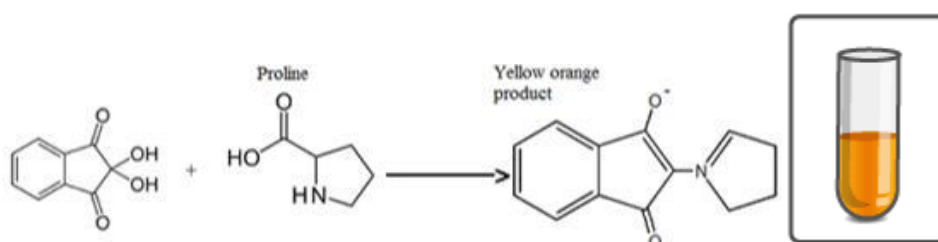
La PPO a été extraite et déterminée selon le protocole décrit par **Peng *et al.* (2019)** suivie de quelques modifications. En effet, 0,5g d'échantillons de pousses fraîches ont été broyés dans 5ml de tampon phosphate de potassium glaciale 50 mM (pH 7,2) et centrifugés à 5 000 tr/min à 4 °C pendant 30min. Le surnageant a été recueilli, filtré et utilisé pour la détermination de l'activité de la PPO. 50 µL de tampon phosphate (50 mM ; PH 7,2) ont été ajoutés à 50 µL d'extrait enzymatique et mélangés avec 50 µL de catéchol (5 mM). Le blanc a été réalisé en remplaçant l'extrait par 50 µL d'eau distillée et l'ensemble du mélange a été incubé pendant 5 min à température ambiante. La réaction a été arrêtée par l'ajout de 25 µL HCL 2 N et la lecture de la densité optique (DO) a été effectuée à 540 nm. Chaque essai a été répété 3 fois.

II.2.7.3. Estimation de la teneur en proline totale

La proline est un acide aminé multifonctionnel essentiel connu pour ses diverses fonctions biologiques chez les plantes. Elle est généralement accumulée en réponse au stress subit par la plante (**Hai *et al.*, 2024**). La capacité des ALBs à induire une résistance contre *Fusarium verticillioides* chez les plantules de maïs a été évaluée en quantifiant la teneur en proline

➤ **Principe :**

La proline extraite avec le méthanol réagit avec la ninhydrine pour former un complexe jaune-orange qui absorbe à 520nm. En bref, la ninhydrine peut réagir avec un acide aminé par désamination oxydative pour produire le CO₂, de l'ammoniac et un aldéhyde associé à l'hydrantine. Ainsi, l'ammoniac libéré déclenche une seconde réaction avec une autre molécule de ninhydrine pour former un complexe jaune-orange qui implique un iminoacide tel que la proline.



➤ **Mode opératoire**

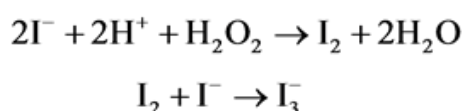
La teneur en proline a été déterminée en utilisant la méthode décrite par **Bates *et al.* (1973)** avec de légères modifications. En bref, la proline a été extraite en macérant 0,5g de plantules sèches de chaque traitement avec 5ml de méthanol à 80% pendant 48 heures. Les surnageants ont été filtrés avec du papier Whatman et les filtrats obtenus ont été utilisés comme extraits pour l'analyse. A l'aide d'une microplaque, 50µl d'extraits ont été mélangés à 100µl de mélange réactionnel qui a été préparé en utilisant 1 ml de Ninhydrine 1% (w/v), 60% d'acide acétique glacial (v/v), 20% d'éthanol (v/v) à l'abri de la lumière. Le blanc a été obtenu en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Après cela, les plaques ont été incubées à 96°C pendant 20 minutes et refroidies dans un bain glace, puis les densités optiques ont été lues à 520 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Une courbe standard a été construite en utilisant des solutions de proline, ce qui a permis de déterminer la concentration de proline dans les échantillons. Chaque essai a été répété 3 fois.

II.2.7.4. Quantification du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est couramment produit par les plantes au cours de processus physiologiques normaux et en réponse à des situations de stress. Sa détermination quantitative est importante car, il est impliqué dans les dommages cellulaires oxydatifs ainsi que dans les processus de signalisation.

➤ **Principe**

Lorsque le peroxyde d'hydrogène est ajouté à une solution incolore d'iodure de potassium (KI), les iodures (I^-) sont lentement oxydés en iode (I_2). En présence d'iodure, l'iode réagit pour former du triiodure (I_3^-) donnant une solution jaunâtre. Par conséquent, le peroxyde d'hydrogène est quantifié par la méthode spectrométrique en suivant l'absorbance du triiodure à 390 nm.



➤ **Mode opératoire :**

La teneur en peroxyde d'hydrogène a été déterminée en utilisant la méthode de **Gietler et al. (2016)** avec des modifications. En effet, 0,5 g de plantules de chaque traitement ont été broyées puis, laissées macérer dans 10 ml de 0,1% de Trichloroacétate (TCA), incubés pendant 30 minutes et filtrés avec du papier Whatmann. Ensuite, 25 µl de chaque extrait ont été mélangés avec 100 µl d'iodure de potassium et 25 µl de TCA dans la microplaque. Le blanc a été réalisé en remplaçant l'extrait par de l'eau (25 µl). Par la suite les plaques ont été incubées pendant 30 min puis, les densités optiques ont été mesurées à 390 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et la concentration a été déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage. Chaque essai a été répété 3 fois.

II.2.8. Analyse statistique

L'analyse de la variance (ANOVA) inter et intra groupes a été réalisé par le logiciel Origin Pro 2024. Les distances entre les moyennes calculées ont été évaluées par le post-test *Least Significant Difference* (LSD) au seuil de probabilité de 5%. Les résultats ont été exprimés en Moyennes ± Ecart-type.

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Résultats

III.1.1. Isolement et examen macroscopique

Le tableau ci-dessous (**tableau II**) présente les isolats bactériens obtenus des différents sites d'isolement groupés en fonction des critères tels que la forme, le relief, le contour, l'opacité, la couleur et la consistance des colonies obtenues. A l'issue de l'isolement, un total de 53 isolats a été obtenu et répartis comme suit : Au site Guidanmoutou, 27 isolats bactériens ont été obtenus, dont 20 isolats provenaient de rhizosphère répartis en 12 morphotypes distincts et 7 en provenance des racines repartis-en 5 morphotypes distincts ; Au site Woudata 7 isolats bactériens ont été obtenus, répartis-en 4 morphotypes distincts et au site ZEBE 19 isolats bactériens ont été obtenus, répartis-en 8 morphotypes distincts.

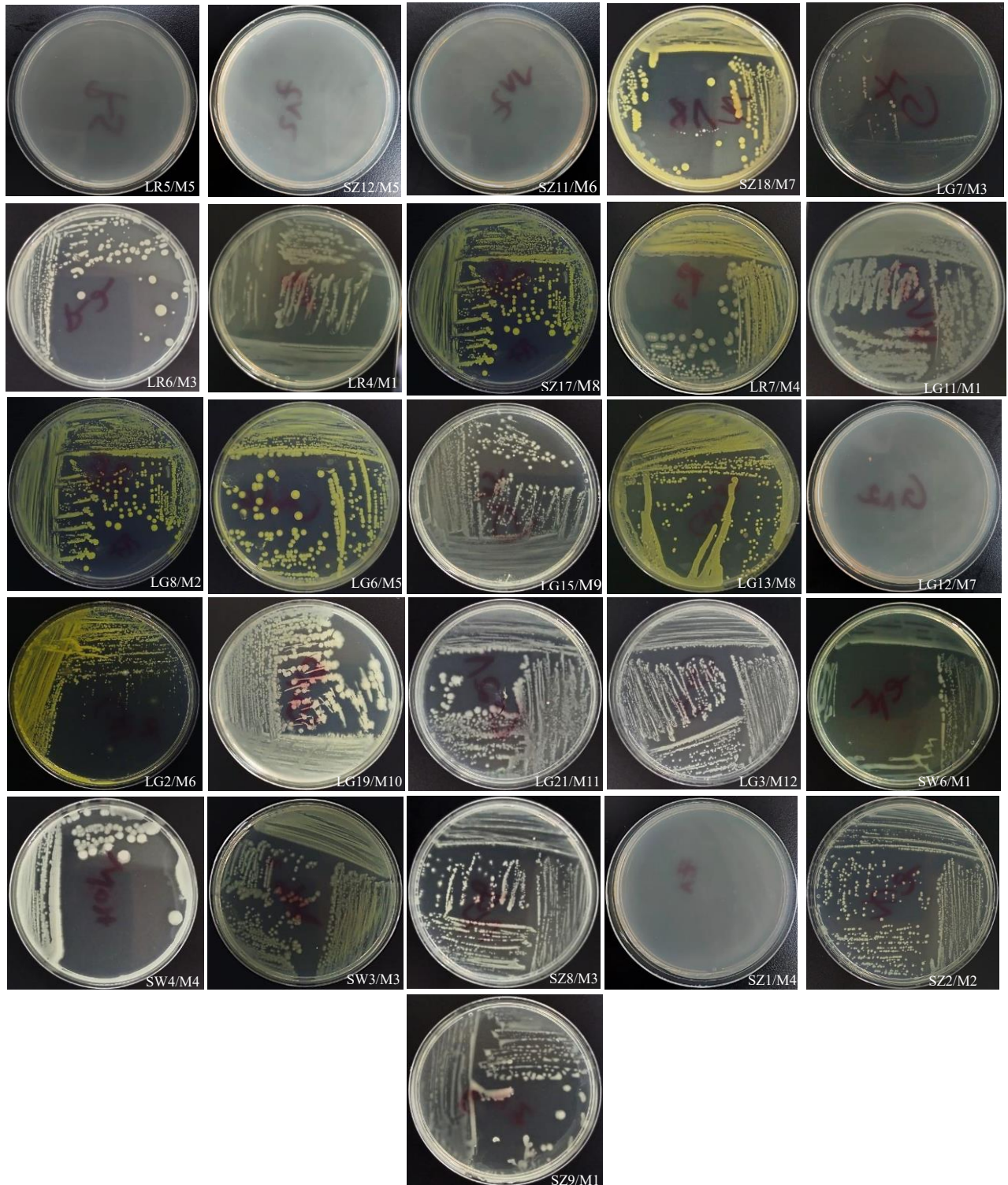
Tableau II : Résultats de l'examen macroscopique des isolats bactériens sur le milieu NA 28°C pendant 24h.

Morphotypes	Isolats	Formes	Relief	Contours	Surface	Opacité	Couleur	Consistance
GUIDANMOUTOU								
1	LG11	Circulaire	Plat	Filamenteux	Lisse	Opaque	Blanche	Sèche
2	LG8	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Opaque	Jaune	Crémeuse
3	LG7	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Translucide	Maronne	Sèche
4	LG14, LG4, LG9, LG5	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Blanche	Sèche
5	LG6	Circulaire	Bombée	Régulier	Lisse	Opaque	Jaune	Crémeuse
6	LG2	Ponctiforme	Convexe	Régulier	Lisse	Opaque	Jaune	Crémeuse
7	LG12	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
8	LG13	Circulaire	Bombée	Régulier	Lisse	Opaque	Jaune	Crémeuse
9	LG15, LG20	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Jaunâtre	Crémeuse
10	LG18, LG19	Irrégulier	Plat	Filamenteux	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Sèche
11	LG16, LG21	Irrégulier	En forme de cratère	Ondulé	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Crémeuse
12	LG3, LG10, LG17	Circulaire	Bombée	Régulier	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Crémeuse
WOUDATA								
1	SW1, SW6, SW7	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Jaunâtre	Crémeuse
2	SW2, SW5	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
3	SW3	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
4	SW4	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Crémeuse

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

Morphotypes	Isolats batériens	Formes	Relief	Contours	Surface	Opacité	Couleur	Consistance
ZEBE								
1	SZ4, SZ9, SZ6, SZ15, SZ14, SZ3, SZ19, SZ16, SZ10	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
2	SZ2	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Blanche	Crémeuse
3	SZ5, SZ8	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Translucide	Jaunâtre	Crémeuse
4	SZ1, SZ7, SZ13	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Transparent	Blanche	Crémeuse
5	SZ12	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Crémeuse
6	SZ11	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Blanche	Crémeuse
7	SZ18	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Opaque	Orange	Crémeuse
8	SZ17	Circulaire	Bombée	Régulier	Lisse	Opaque	Jaune	Crémeuse
GUIDANMOUTOU (RACINES)								
1	LR4	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
2	LR2	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Opaque	Blanchâtre	Sèche
3	LR1, LR6	Circulaire	Plat	Régulier	Lisse	Translucide	Blanchâtre	Crémeuse
4	LR7	Circulaire	Convexe	Régulier	Lisse	Translucide	Orange	Crémeuse
5	LR3, LR5	En nappe	Plat	Régulier	Lisse	Transparent	Jaunâtre	Crémeuse

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons
phytopathogènes



Photographie 3: Morphotypes des isolats bactériens obtenus.

(Photographie, CHUIDJANG 2024)

III.1.2. Criblage préliminaire des isolats a potentiels antagonistes

L'absence ou la présence des zones d'inhibitions plus ou moins différentes selon l'antagoniste (**tableau III**) observées à l'œil nu, a permis de sélectionner 14 isolats bactériens parmi les 53 isolats testés dont les isolats : **LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15** qui ont été retenus pour leur activité inhibitrice contre les phytopathogènes (*Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina*, *Aspergillus flavus*).

Tableau III : Résultat du criblage de l'activité antagoniste des isolats bactériens

Morphotype	Isolats	Phytopathogènes		
		<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Macrophomina phasoelina</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
2	LG8	-	-	-
3	LG7	-	-	-
4	LG14	-	-	-
4	LG9	-	-	-
4	LG5	-	-	-
5	LG6	-	-	-
8	LG12	-	-	-
9	LG13	-	-	-
11	LG18	-	-	-
12	LG16	-	-	-
13	LG3	-	-	-
13	LG10	-	-	-
13	LG17	-	-	-
3	LR1	-	-	-
4	LR7	-	-	-
5	LR3	-	-	-
5	LR5	-	-	-
1	SW1	-	-	-
1	SW6	-	-	-
1	SW7	-	-	-
2	SW5	-	-	-
3	SW3	-	-	-
4	SW4	-	-	-
1	SZ4	-	-	-
1	SZ9	-	-	-
1	SZ6	-	-	-
1	SZ14	-	-	-
1	SZ3	-	-	-

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

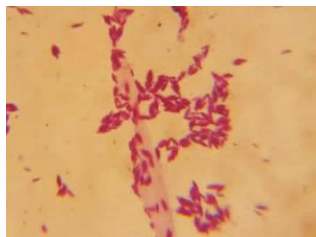
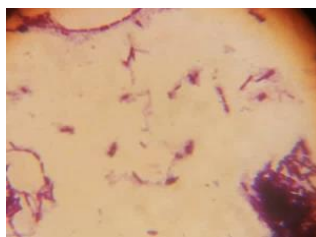
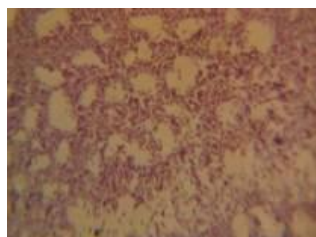
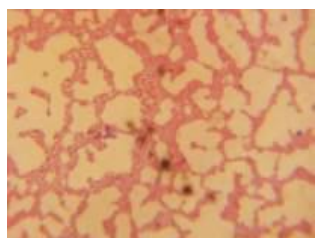
1	SZ19	-	-	-
1	SZ16	-	-	-
1	SZ3	-	-	-
1	SZ10	-	-	-
2	SZ2	-	-	-
3	SZ5	-	-	-
3	SZ8	-	-	-
4	SZ7	-	-	-
4	SZ13	-	-	-
6	SZ11	-	-	-
8	SZ18	-	-	-
1	LG11	+	+	+
7	LG4	-	-	+
6	LG2	-	-	+
10	LG15	+	+	+
10	LG20	+	+	+
11	LG19	+	+	+
12	LG21	+	+	+
1	LR4	+	+	
2	LR2	+	+	+
3	LR6	+	-	+
2	SW2	+	+	+
1	SZ15	+	+	+
4	SZ1	+	+	+
5	SZ12	+	+	+

Le signe – : isolats bactériens ne possédant aucune activité inhibitrice ; **le signe +** : isolats bactériens possédant une activité inhibitrice

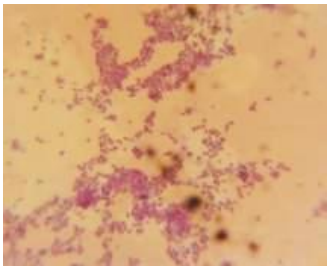
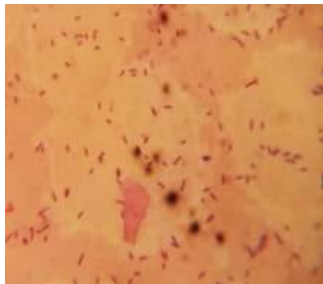
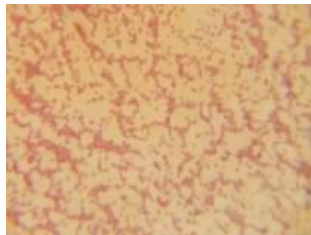
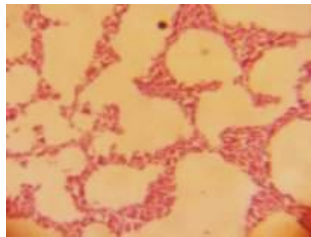
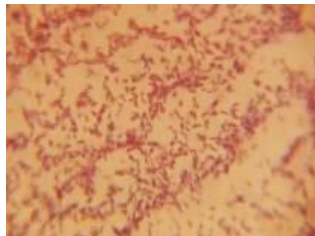
III.1.3. Examen microscopique

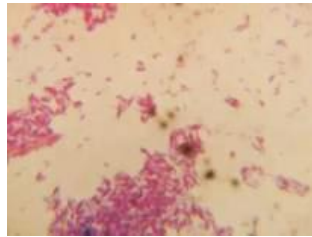
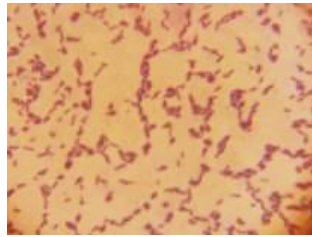
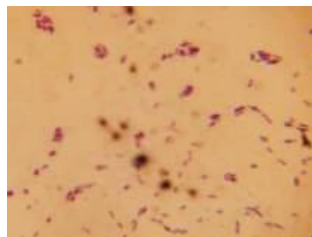
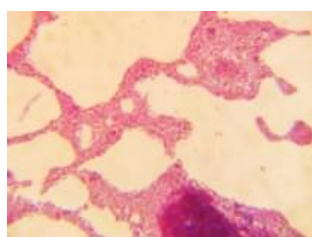
Les résultats du test de coloration différentielle de Gram présentés dans le **tableau IV** ci-dessous a révélé tous les 14 isolats bactériens sélectionnés comme étant des Gram positif présentant des formes différentes : en bâtonnet, en coque et en coccobacille et des agencements différents : isolé, en amas, en chaînette.

Tableau IV : Résultat de l'examen microscopique des isolats bactériens.

Isolats bactériens	Gram	Forme	Agencement	Aspect microscopique
LG4	+	Bacille	En amas	
LG11	+	Bacille	En chaînette, en diplo, en triplo et en amas	
LG15	+	Coccobacille	Isolé et en amas	
LG20	+	Coccobacille	En chaînette regroupée	
LG19	+	Coccobacille	En diplo et en triplo	

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

LG2	+	Cocci	En amas	
LG21	+	Coccobacille	Isolé	
LR6	+	Cocci	Isolé, en amas et en courte chainette	
LR4	+	Coccobacille	En amas formant des cercles de regroupement	
LR2	+	Bacille	Isolé, en chainette et en diplo	

SZ1	+	Bacille	Isolé et en amas	
SZ12	+	Coccobacille	Isolé et en courte chainette	
SZ15	+	Bacille	Isolé et en petit amas	
SW2	+	Cocci	En gros amas	

III.1.4. Evaluation du potentiel antagoniste par confrontation directe

L'effet inhibiteur des 14 isolats sélectionnés sur la croissance des phytopathogènes *F. verticillioides*, *M. phasoelina*, *A. flavus* a été évalué. Après 7 jours d'incubations Il en ressort que, la présence des isolats bactériens a induit une inhibition de la croissance mycélienne des phytopathogènes avec des pourcentages d'inhibitions variant de 27,46% à 95,77% en fonction des isolats bactériens et des phytopathogènes.

Les pourcentages d'inhibitions de *F. verticillioides* variaient de 27,46% à 95,77% ; l'inhibition maximale a été obtenue par les isolats LG11, LG4, SZ1, SZ12, SZ15 avec des

pourcentages respectifs de 63,40%, 82,40%, 94,36%, 95,77%, 92,95% (**figure 5**). Les pourcentages d'inhibitions de *M. phasoelina* variaient entre 41,54% à 95,77% les inhibitions maximales ont été obtenues avec les isolats LG4, LR2, SZ15, SZ1, SZ12 avec des pourcentages respectifs de 88,72%, 72,88%, 82,74%, 95,77%, 95,77% (**figure 6**). En présence de la souche *A. flavus* les pourcentages d'inhibitions variaient de 28,82% à 95,77% (**figure 7**) l'inhibition maximale a été obtenue par des isolats LG4, LG15, LG2, SZ1, SZ12 avec des pourcentages respectifs de 86,97%, 64,08%, 66,90%, 94,77%, 95,77%.

De manière générale le phytopathogène *M. phasoelina* a été le plus sensible avec un pourcentage d'inhibition moyen de 62,97% et le phytopathogène *F. verticillioides* a été la plus résistante avec un pourcentage moyen de 56,58%. Toutefois, les isolats SZ1 et SZ12 ont été les plus actifs induisant en moyen le plus fort taux d'inhibition (95%) face à ces 3 phytopathogènes.

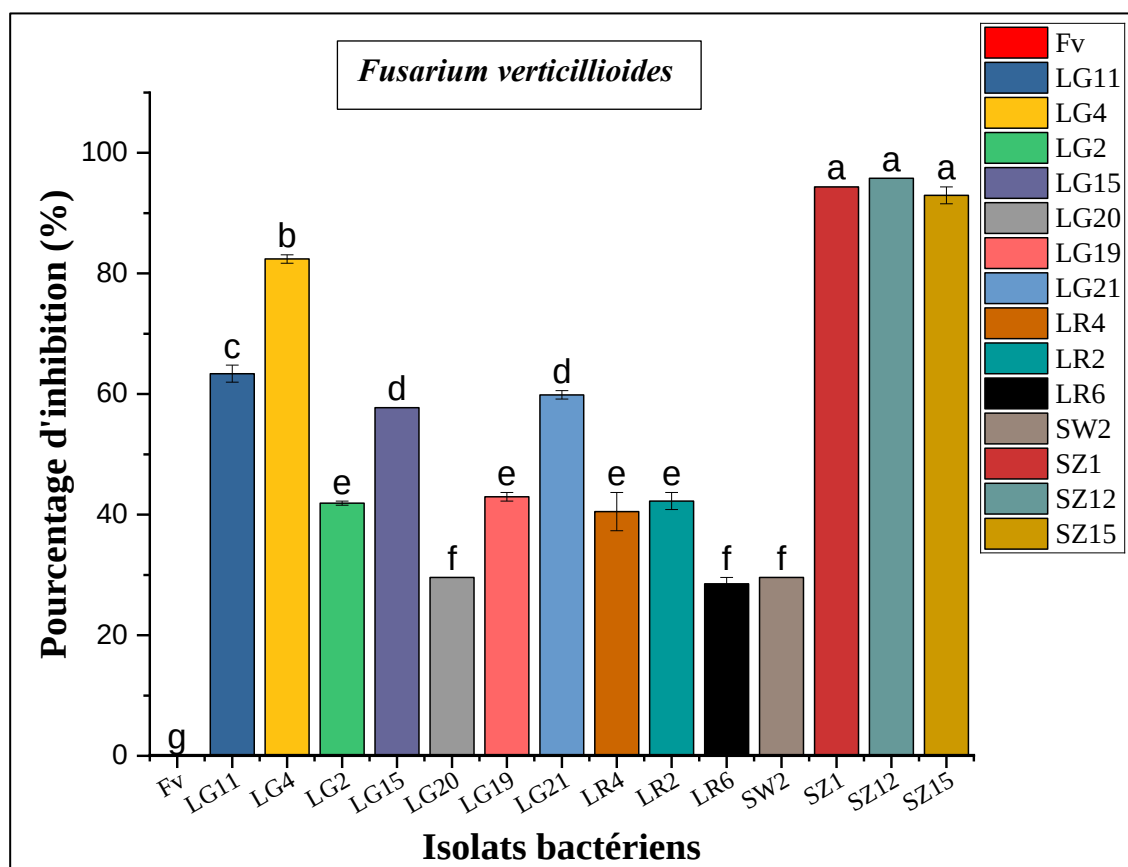
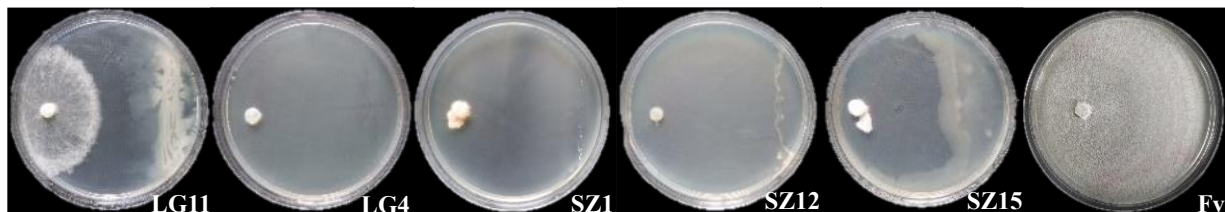


Figure 5: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre *F. verticillioides*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. *Fv* = *F. verticillioides* ; *LG11*, *LG4*, *LG2*, *LG15*, *LG20*, *LG19*, *LG21*, *LR4*, *LR2*, *LR6*, *SW2*, *SZ1*, *SZ12*, *SZ15* = Isolats bactériens.



Photographie 4: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre *F. verticillioides* en boîte de Petri (CHUIDJANG, 2025). Fv = *Fusarium verticillioides* ; LG11, LG4, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens en confrontation avec *Fusarium verticillioides*.

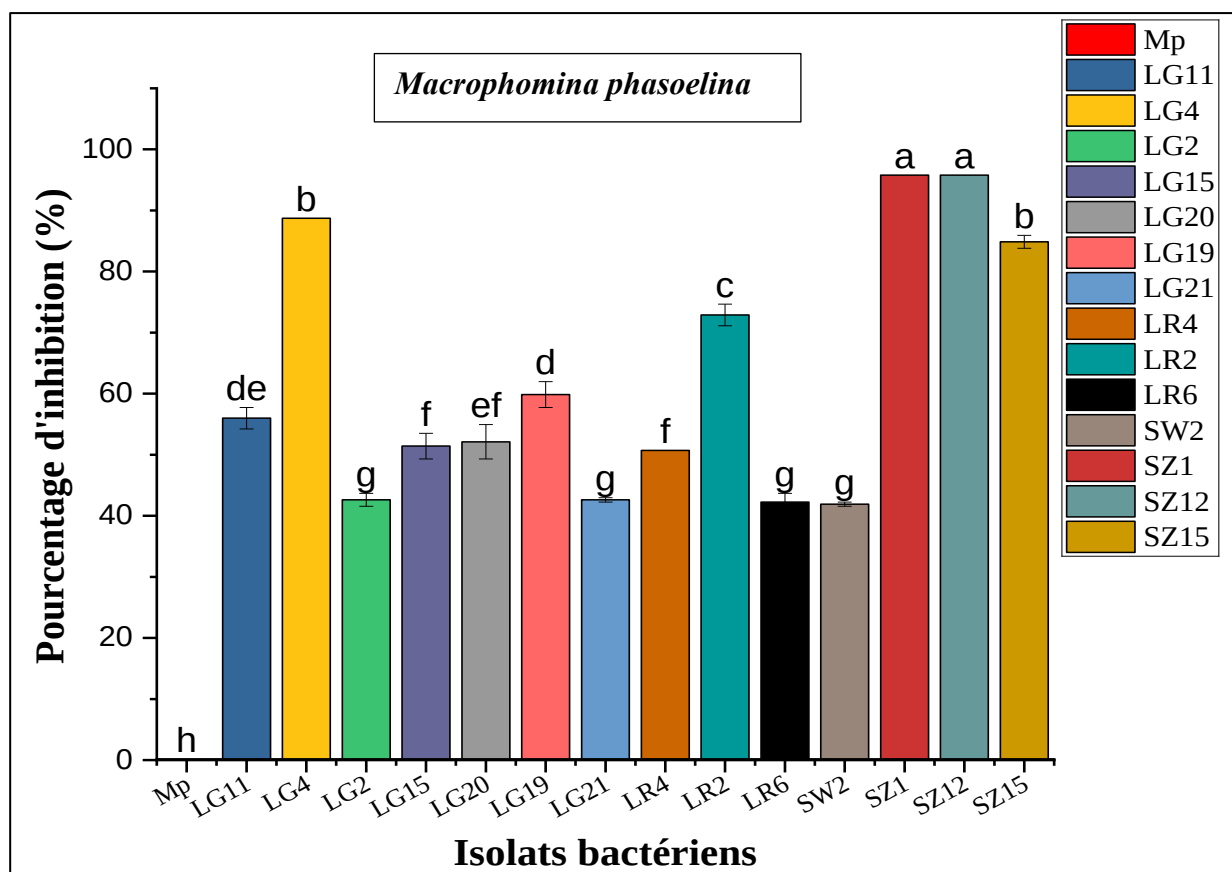
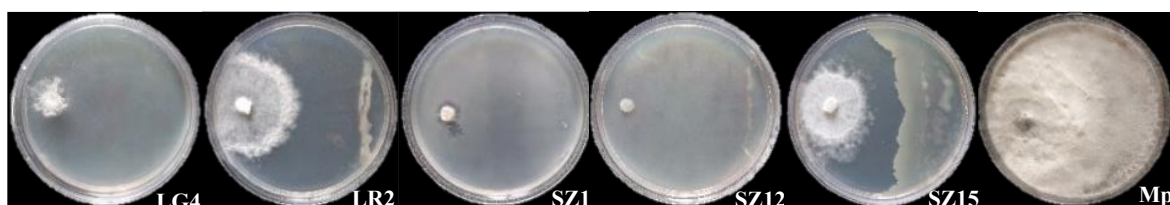


Figure 6: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre *M. phasoelina*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. Mp = *Macrophomina phasoelina* ; LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens.



Photographie 5: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre *M. phasoelina* en boîte de Petri. (CHUIDJANG, 2025) Mp = *Macrophomina phasoelina* ; LG4, LR2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens en confrontation avec *Macrophomina phasoelina*.

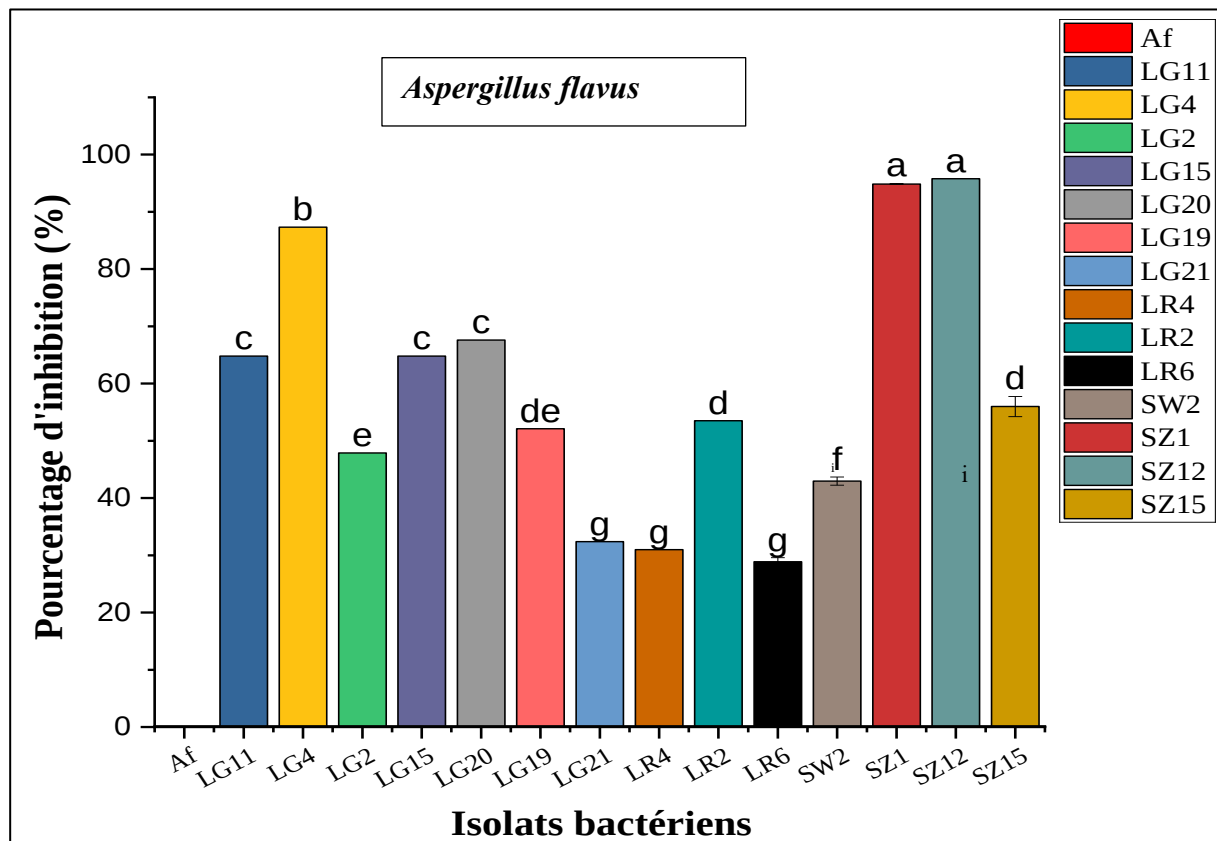
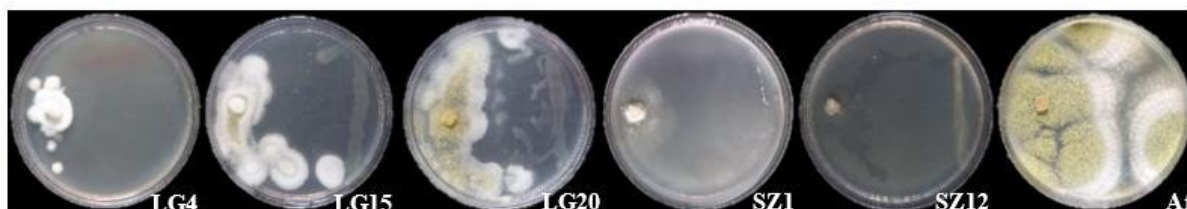


Figure 7: Pourcentages d'inhibitions des isolats bactériens en confrontation directe contre *A. flavus*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. Af= *Aspergillus flavus* ; LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens.



Photographie 6: Confrontation directe des meilleurs isolats bactériens contre *A. flavus* en boîte de Petri (CHUIDJANG, 2025). Af= *Aspergillus flavus* ; LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens en confrontation avec *A. flavus*.

III.1.5. Inhibition par confrontation indirecte

L'effet inhibiteur des composés volatils produit par les isolats bactériens sur la croissance mycélienne des 03 champignons phytopathogènes a été évalué. Au terme des 7 jours d'incubation, il en ressort que la présence des isolats bactériens a montré des pourcentages d'inhibitions variant de 0% à 98,11% en fonction des pathogènes et des agents de lutte biologique. En présence de *F. verticillioides* les isolats bactériens ont montré des pourcentages d'inhibitions variant de 19,33% à 98,11%, les pourcentages les plus élevés ont été observés en présence des isolats LG15, SZ1, SZ12, SZ15 suivi respectivement des pourcentages de 97,64% ; 98,01% ; 97,64% ; 98,11% (**figure 8**). En présence de *M. phasoelina* (**figure 9**) les isolats bactériens ont montré des pourcentages d'inhibitions variant compris entre 0% et 98,11% ; les pourcentages les plus élevés ont été observés en présence de LR6, SZ12, SZ15 avec des pourcentages respectifs de 98,11%. L'activité inhibitrice des isolats bactériens sur *A. flavus* a montré des inhibitions comprises entre 26,88% et 98,11%, les inhibitions les plus élevées étaient celle des isolats LR2, LR6, LG20, SW2 avec des pourcentages d'inhibitions respectifs de 98,11% (**figure 10**).

De manière globale, la souche *A. Flavus* est la plus sensible avec un pourcentage d'inhibition moyen de 73,24% et *M. phasoelina* la plus résistante avec un pourcentage moyen de 58,28%. Toutefois l'isolat SZ12 a été la plus active induisant en moyenne le plus fort taux d'inhibition (97,95%) suivie de l'isolat SZ15 présentant un pourcentage d'inhibition de 97,53% face à ces 3 champignons pathogènes.

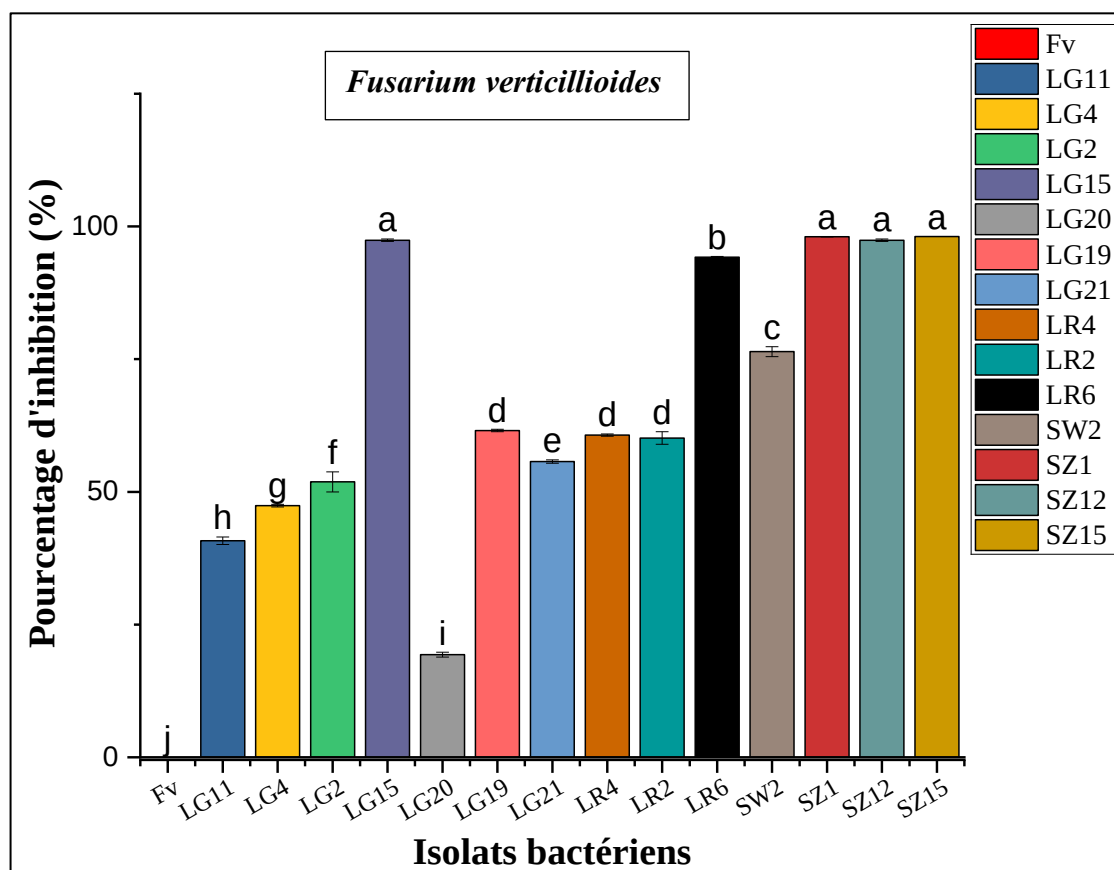
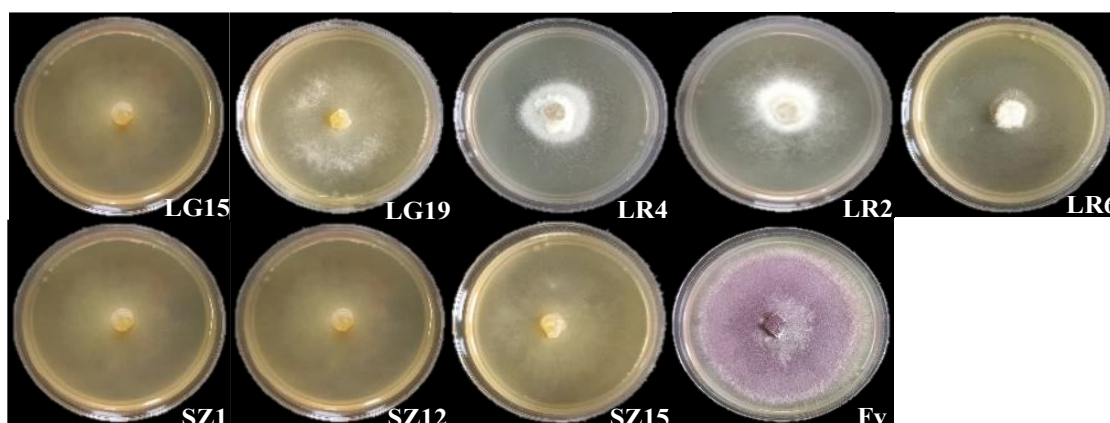


Figure 8: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre *F. verticillioides*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. FV = *Fusarium verticillioides* ; LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens.



Photographie 7: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre *F. verticillioides* en boîte de Petri ((CHUIDJANG, 2025). Fv = *Fusarium verticillioides* ; LG15, LG19, LR4, LR2, LR6, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens en confrontation avec *F. verticillioides*.

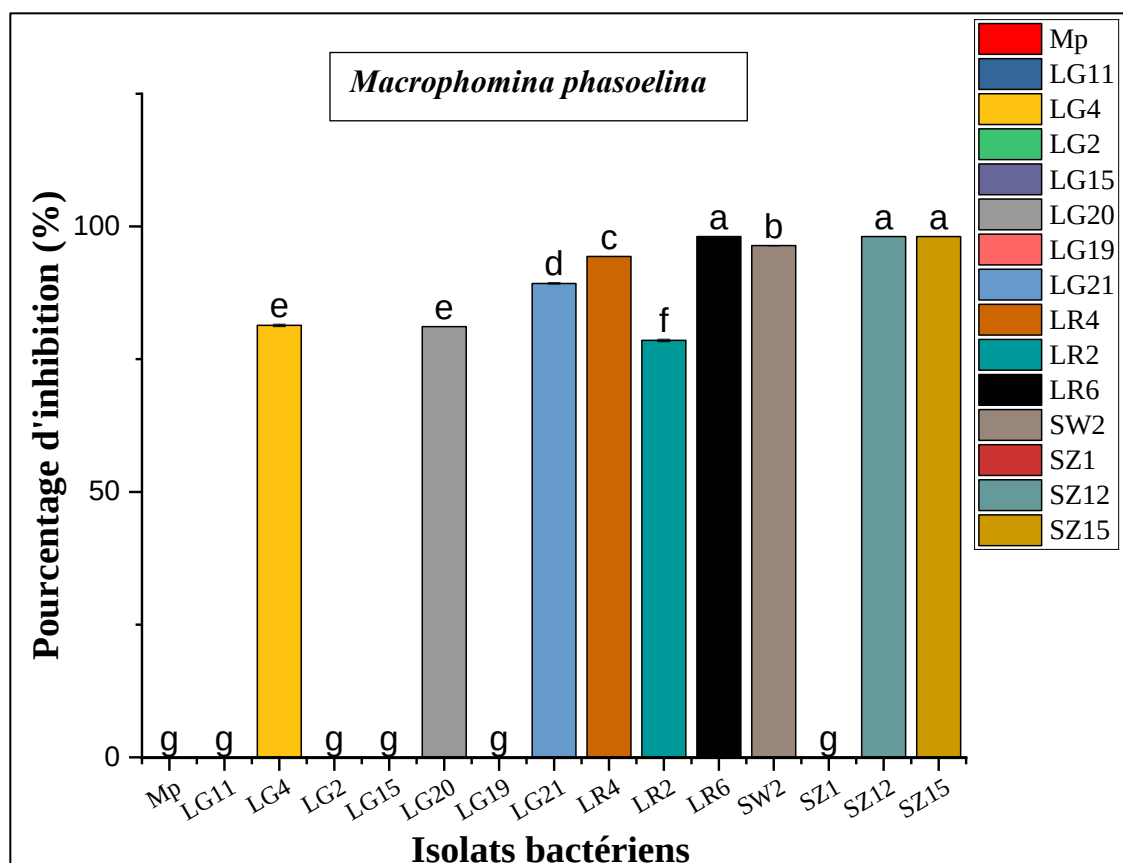
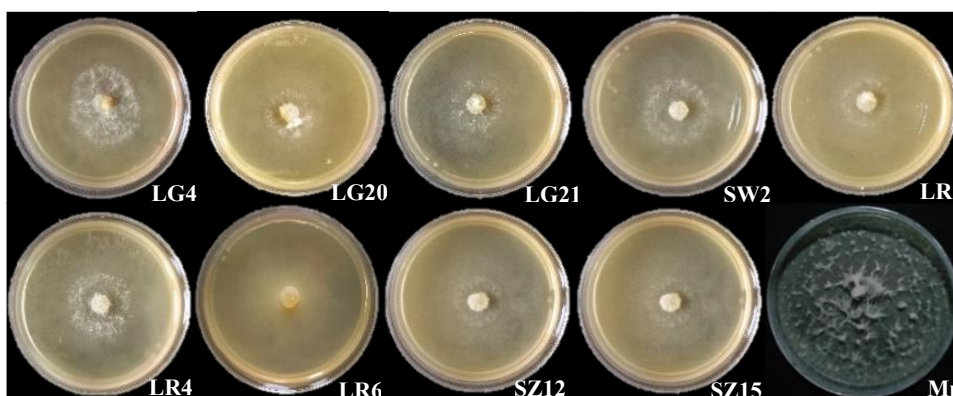


Figure 9: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre *M. phasoelina*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **Mp** = *Macrophomina phasoelina* ; **LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15**= Isolats bactériens



Photographie 8: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre *M. phasoelina* en boîte de Petri (CHUIDJANG, 2025). **MP**= *Macrophomina phasoelina* ; **LG4, LG20, LG21, SW2, LR2, LR4, LR6, SZ12, SZ15** = Isolats bactériens en confrontation avec *Macrophomina phasoelina*

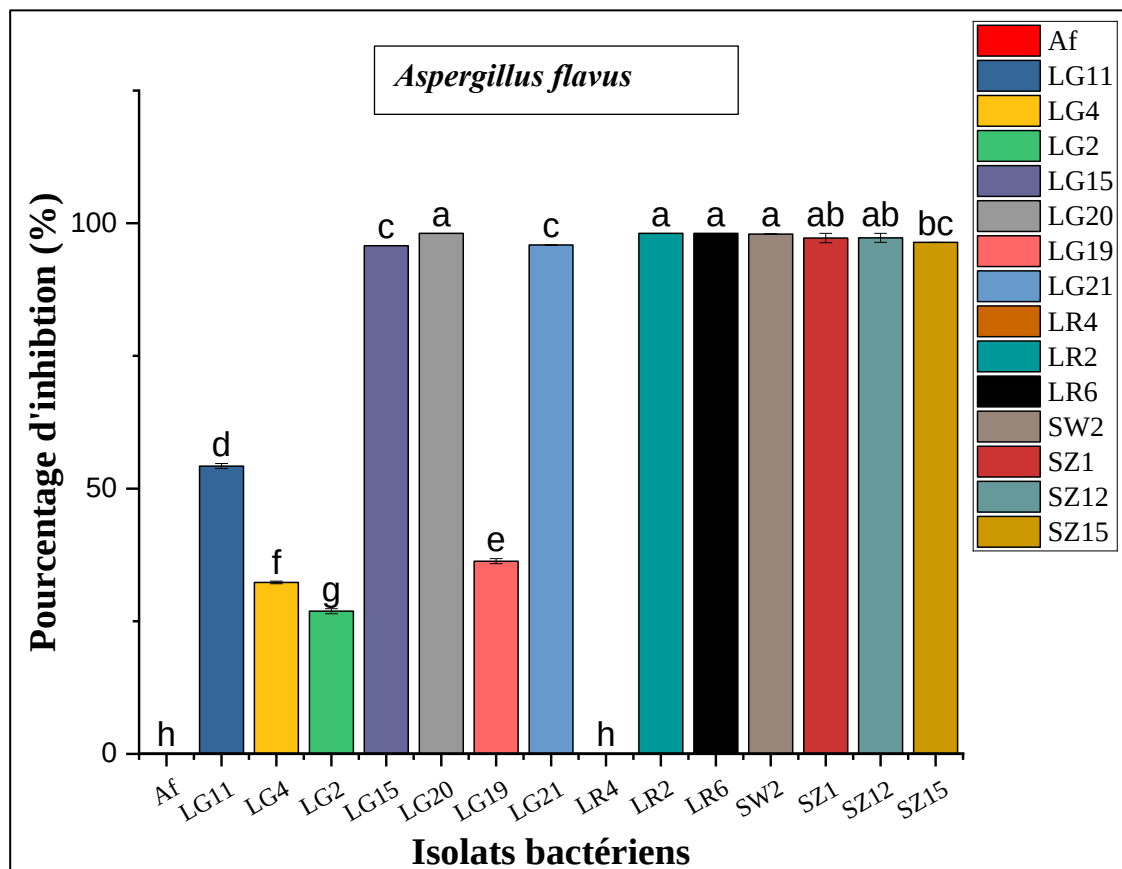
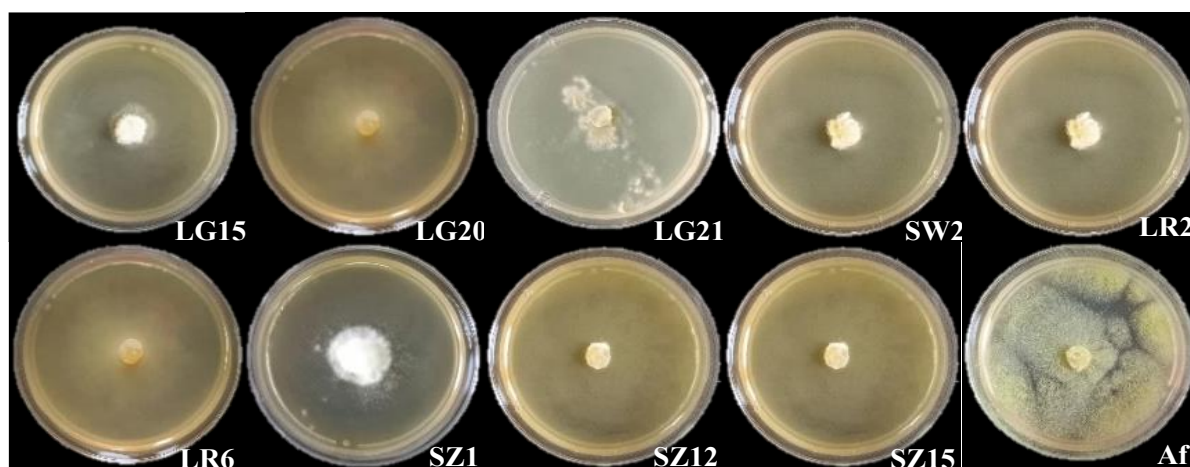


Figure 10: Pourcentages d'inhibitions des composés volatils provenant des isolats bactériens en confrontation indirecte contre *A. flavus*.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. Af = *Aspergillus flavus* ; LG11, LG4, LG2, LG15, LG20, LG19, LG21, LR4, LR2, LR6, SW2, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens



Photographie 9: Confrontation indirecte des meilleurs isolats bactériens contre *A. flavus* en boîte de Petri (CHUIDJANG, 2025). Af = *Aspergillus flavus* ; LG15, LG19, LR4, LR2, LR6, SZ1, SZ12, SZ15= Isolats bactériens en confrontation avec *Aspergillus flavus*.

III.2. Effet de la pré-stimulation des semences de maïs par les ALBs vis-à-vis de *F. verticillioides* sur les paramètres évalués

III.2.1. Effet sur les paramètres de croissance

L'évaluation de l'effet de l'inoculation préalable des semences de maïs par les ALBs (SZ1, SZ12, SZ15) et infectées par *F. verticillioides* a révélé des effets variables sur la croissance des plantules comme présenté dans le **Tableau V**. En ce qui concerne la longueur aérienne et la longueur racinaire il en découle que, le traitement *F. verticillioides* seul a entraîné une diminution significative ($p < 0.05$) de 45,29% de la longueur aérienne et de 85,88% de la longueur racinaire des plantules comparés au contrôle positif (sans bactérie ni phytopathogène). Cependant, le pré-traitement des plantules par les ALBs a significativement amélioré ces paramètres. Toutefois, le pré-traitement avec l'isolat SZ12 s'est montré le plus efficace en induisant significativement ($p < 0.05$) une augmentation de la taille aérienne et de la taille racinaire respectivement de 86,92% et de 90,66% par rapport au traitement *F. verticillioides* seul. Parallèlement, le pré-traitement avec l'isolat SZ1 a entraîné une augmentation de 89,39% de la taille racinaire des plantules comparé au traitement *F. verticillioides*.

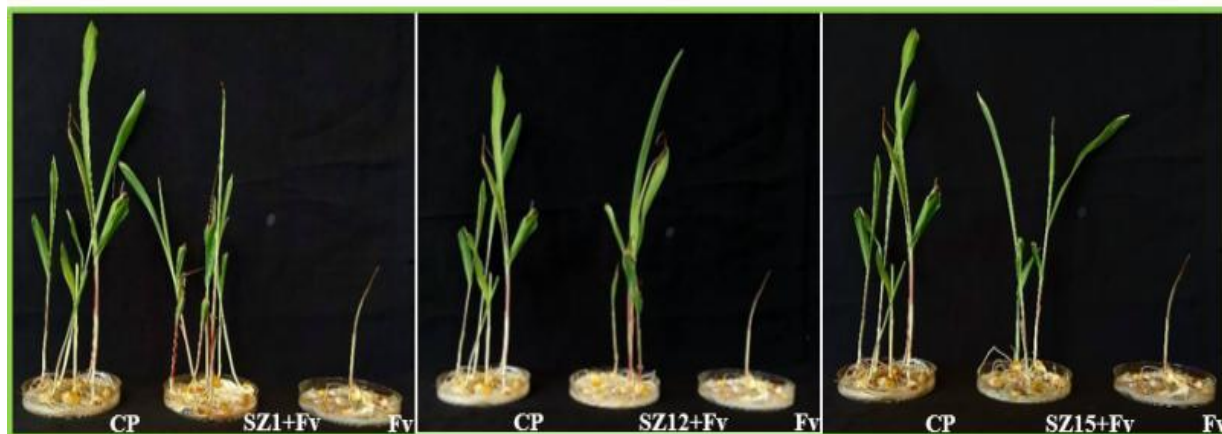
Au sujet du poids frais des plantules et des racines, il apparaît que, le traitement *F. verticillioides* seul a entraîné une baisse respective de 43,33% et de 57,14% du poids frais aérien et racinaires respectivement comparé au traitement contrôle positif (sans bactérie ni phytopathogènes). Cependant, la pré-inoculation par les ALBs à l'instar du traitement par l'isolat SZ12 s'est montré le plus efficace en induisant une augmentation de 84,64% du poids frais aérien. Néanmoins, la pré-inoculation par les traitements SZ1 et SZ15 ont induit une augmentation respective de 76,55% et 74,81% du poids frais racinaire des plantules comparées au traitement *F. verticillioides*.

Pour ce qui est du poids sec aérien et racinaire, il en découle que, le traitement *F. verticillioides* seul a entraîné une diminution significative ($p < 0.05$) de 41,66% et de 57,14% respectivement des poids secs aériens et racinaires comparé au traitement positif (sans bactérie ni phytopathogène). Par contre, le traitement préalable par les isolats bactériens SZ1, SZ15 se sont montrés les plus efficaces en induisant une augmentation de 75,86% et 74,04% du poids sec aérien tandis que le traitement préalable avec l'isolat SZ15, a induit une augmentation de 66,67% du poids racinaire sec des plantules comparées au traitement *F. verticillioides*.

Tableau V : Effet de l'inoculation des ALBs vis-à-vis de *F. verticillioides* sur les paramètres de croissance des plantules de maïs.

Traitement	Longueurs aériennes (cm)	Poids frais aériens (g)	Poids secs aériens (g)	Longueurs Racinaires (cm)	Poids frais racinaires (g)	Poids secs racinaires (g)
CP	14,68 ± 0,02 ^{ab}	0,70 ± 0,01 ^c	0,12 ± 0,02 ^b	12,75 ± 1,14 ^b	0,12 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,002 ^b
Fv	8,03 ± 1,01 ^d	0,18 ± 0 ^d	0,07 ± 0,003 ^c	1,8 ± 0,09 ^c	0,068 ± 0,003 ^c	0,03 ± 0,002 ^d
SZ1+Fv	13,40 ± 0,53 ^b	0,90 ± 0,16 ^b	0,29 ± 0,01 ^a	16,98 ± 0,58 ^a	0,29 ± 0,007 ^a	0,09±0,005 ^a
SZ12+Fv	15,01 ± 0,40 ^a	1,17 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0 ^b	19,29 ± 2,61 ^a	0,12 ± 0 ^b	0,07 ± 0,004 ^b
SZ15+Fv	11,14 ± 0,03 ^c	0,73 ± 0,02 ^{bc}	0,27 ± 0,01 ^a	12,25 ± 1,29 ^b	0,27 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,004 ^c

Les valeurs portant les lettres différentes sont significativement différentes selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **CP** = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv**= Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1+ Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*



Photographie 10: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par *Fusarium verticillioides* sur la longueur aérienne des plantules (**CHUIDJANG, 2025**)

CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv**= Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1+ Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.2. Effet de la pré-inoculation des rhizobactéries vis-à-vis de *Fusarium verticillioides* sur les paramètres d'incidence de la maladie : pourcentage de germination, l'indice de vigueur et sur le pourcentage de protection.

Au cours de cette étude, le nombre de graines de maïs germées et infectées ont été relevé à un intervalle régulier de deux jours. Les données collectées ont été illustrées dans les graphiques des **figures 11 et 12** ci-dessous.

Concernant la cinétique du taux de germination (**figure 11**), il en ressort que, le traitement avec *Fusarium verticillioides* seul a entraîné une diminution moyenne du nombre de graines germées de 3 à 1,5 (du Jour 8 à 10) par comparaison avec le témoin positif où nous avons observé une augmentation progressive de nombre graines germées allant de 3 à 8,5 (du Jour 4 à 10). Cependant, les pré-traitements avec les isolats bactériens SZ1, SZ12, SZ15 comparé au traitement *Fusarium verticillioides* seul ont entraîné une augmentation du nombre de graines germées de 5,5 à 6,5 (Jour 4) chez le pré-traitement avec SZ1, de 2 à 4 (Jours 4 à 8) chez le pré-traitement avec SZ12 ; de 3 à 3,5 chez le pré-traitement avec SZ15 (Jour 8 à 10). Cependant, Il est à noter que le pré-traitement avec l'isolat bactérien SZ1 présentait un nombre maximal de

graines germées d'une valeur moyenne de 6,5 sur un total de 10 graines par rapport aux autres traitements bactériens.

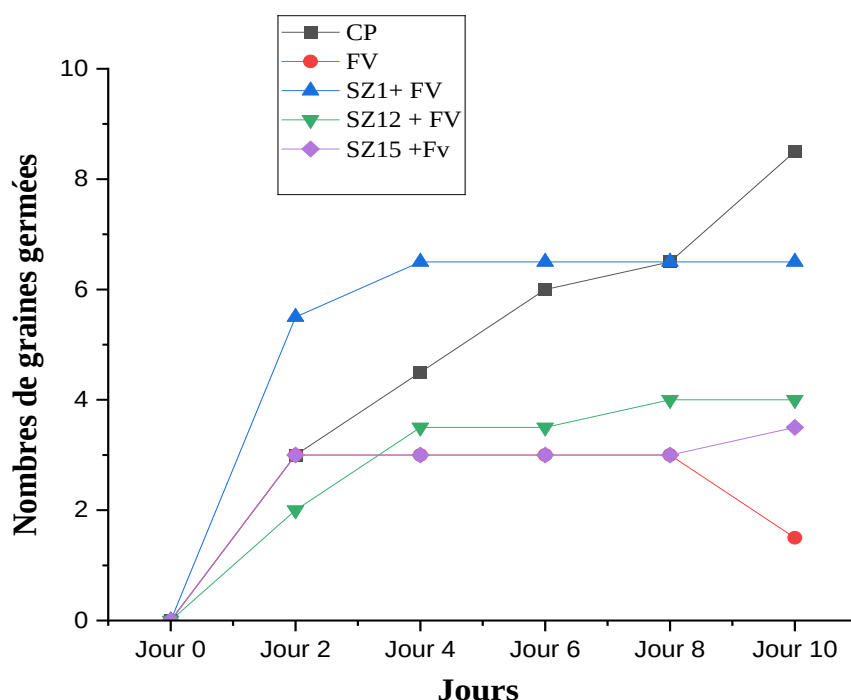


Figure 11: Variation du nombre de graines germées en fonction du temps et des traitements.

CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; Fv= Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. SZ1+ Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ12 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ15 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

S'agissant de l'évolution du taux d'infection (**figure 12**), il apparaît que, le traitement avec *Fusarium verticillioides* seul a entraîné une augmentation du nombre de graines infectées de 5 à 7,5 (Jours 4 à 8) et de 7,5 à 8 (Jours 8 à 10). Cependant, les pré-inoculations avec les ALBs SZ1, SZ12, SZ15 comparé au traitement par *Fusarium verticillioides* seul ont présenté une réduction significative ($p < 0.05$) du nombre de graines infectées de 2,5 à 3,5 (Jour 4 à 6) pour le traitement avec SZ1, de 1 à 2,5 (Jours 4 à 6) et de 2,5 à 4 (Jours 6 à 10) pour le traitement avec SZ12 ; de 5 à 6,5 pour le traitement avec SZ15 (Jour 4 à 8). Néanmoins, Il est à noter que, la pré-inoculation avec l'isolat bactérien SZ1 a présenté un nombre minimal de graines infectées d'une valeur moyenne de 3,5 sur un total de 10 graines par rapport aux autres traitements.

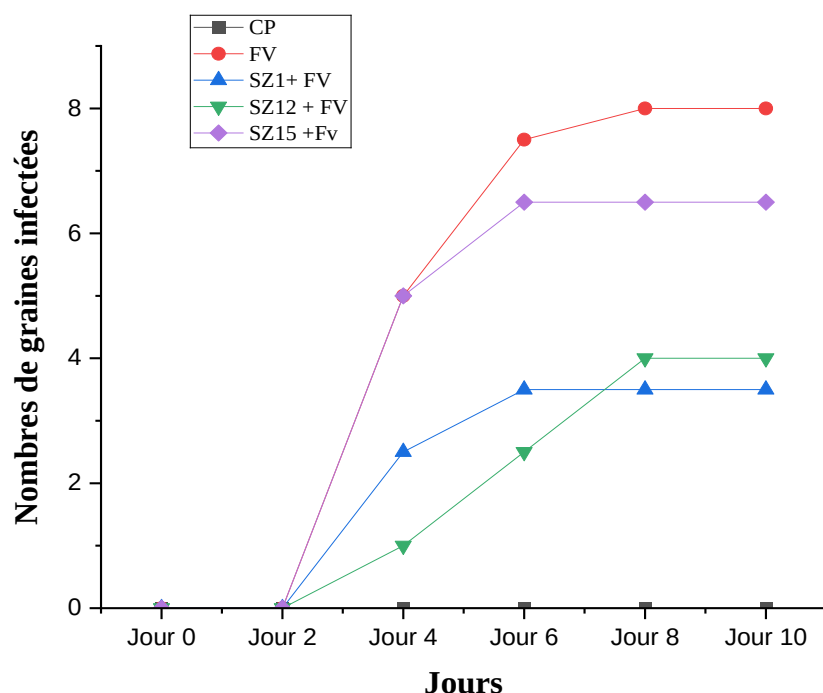


Figure 12: Variation du nombre de graines infectées en fonction du temps et des traitements.

CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; Fv= Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. SZ1+ Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ12 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ15 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

La **figure 13** ci-dessous présente respectivement les résultats de l'effets de l'inoculation préalable des semences de maïs par les rhizobactéries (SZ1, SZ12, SZ15) et infectées par *F. verticillioides* sur les différents paramètres d'incidence de maladie (pourcentage de germination, indice de vigueur et pourcentage de protection). Il en ressort que, l'infection avec *Fusarium verticillioides* seul a entraîné une réduction significative ($p < 0.05$) de ces différents paramètres cités plus haut respectivement de 79,41%, 88,58% et 96,10% par rapport au contrôle positif. En revanche, la pré-inoculation par les ALBs a montré un effet bénéfique significatif ($p < 0.05$) sur tous ces différents paramètres montrant ainsi un effet protecteur comparé au traitement avec *Fusarium verticillioides* seul. Néanmoins la pré-inoculation avec l'isolat SZ1 s'est montré plus efficace avec un pourcentage de germination maximal de 65% ; un indice de vigueur de 869,37% et un pourcentage de protection de 66,5%. Cela suggère que, les rhizobactéries en particulier SZ1 peut être utiliser pour protéger les plants de maïs contre l'infection par *Fusarium verticillioides*.

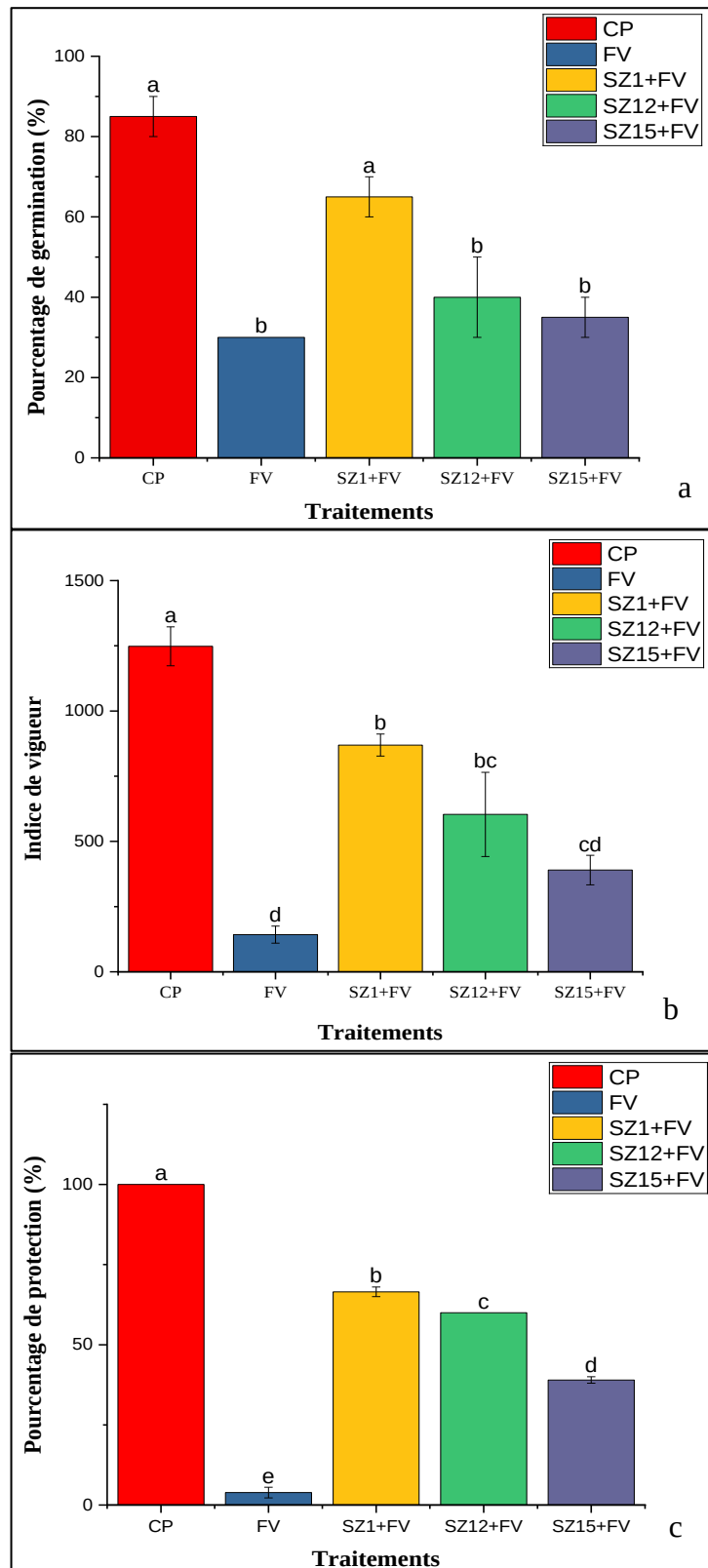


Figure 13: Effet de la pré-inoculation des rhizobactéries vis-à-vis de *Fusarium verticillioides* sur les paramètres d'incidence de la maladie ; **a** : Pourcentage de germination ; **b** : Indice de vigueur ; **c** : Pourcentage de protection.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **CP** = Graines de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv** = Graines de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1 + Fv** = Graines de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Graines de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Graines de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*.



Photographie 11: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par *Fusarium verticillioides* sur les paramètres d'incidence de maladie.

(CHUIDJANG, 2025)

CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv** = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.3. Effet de l'infection par *Fusarium verticillioides* et traitement préalable par les isolats bactériens sur les pigments chlorophylliens

L'inoculation par les ALBs suivie d'une infection par *Fusarium verticillioides* sur des semences de maïs a révélé divers effets sur les pigments chlorophylliens des plantules de maïs obtenus comme illustré dans la **figure 14** ci-après. Il en ressort que, la production en Chlorophylle a, en chlorophylle b et en caroténoïdes était nettement plus faible dans le feuillage frais des plantules infectées par *Fusarium verticillioides* seul par rapport aux plantules du témoin positif à des pourcentages respectifs de 85,93%, 88,54%, 83,33%. De plus, par comparaison avec les pré-traitements bactériens aucune différence significative ($p>0.05$) n'a été observée dans la teneur en chlorophylle b comparé au traitement *Fusarium verticillioides* seul. Toutefois, le traitement préalable avec l'isolat bactérien SZ1 a présenté un taux de chlorophylle a et de caroténoïdes significativement ($p<0.05$) plus élevés (0,3 mg/g MF et de 0,4 m/g MF) par rapport aux traitements bactériens et au traitement *Fusarium verticillioides* seul.

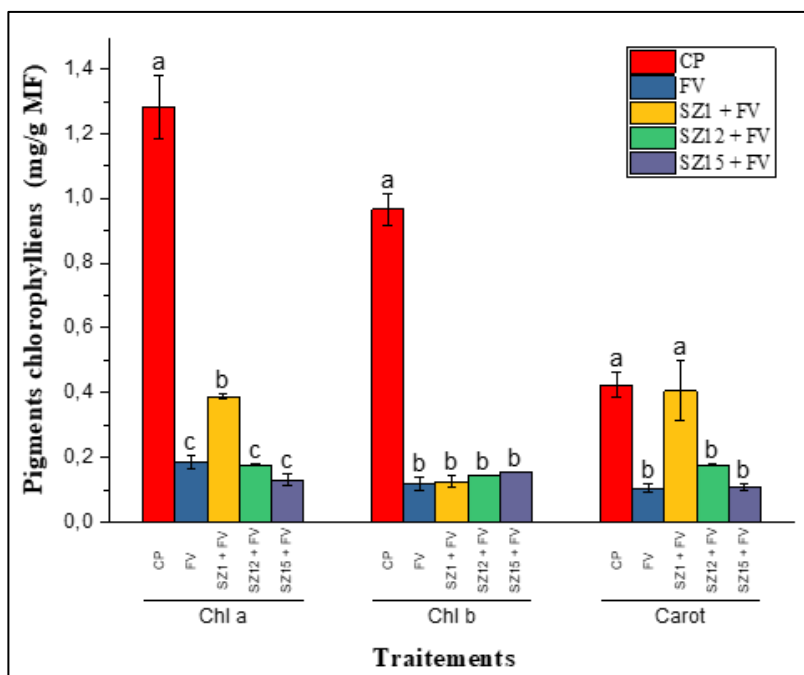


Figure 14: Effet du pré-traitement des semences de maïs par les isolats bactériens et infection par *Fusarium verticillioides* sur la teneur en pigments chlorophylliens dans les feuillages frais des plantules de maïs.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; Fv = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. SZ1+ Fv = Semences de maïs

préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.4. Effet des agents de lutte biologiques et de *F. verticillioides* sur les paramètres biochimiques chez les plantules de maïs

III.2.4.1. Activité spécifique de la phénylalanine ammonia lyase

La **figure 15** ci-dessous présente l'activité de la PAL chez les plantules de maïs en fonction des différents traitements. Il y en ressort que, l'infection par *Fusarium verticillioides* seul a stimulé ($58,47 \mu\text{mol/min/mg de MF}$) de façon significative ($p < 0,05$) l'activité de la PAL en comparaison au contrôle positif ($36,03 \mu\text{mol/min/mg de MF}$). Par contre, le pré-traitement à l'aide des ALBs ont significativement ($p < 0,05$) réduit l'activité de cette enzyme par rapport au traitement par le pathogène seul. Cependant, le pré-traitement avec l'isolat SZ15 comparativement aux autres traitements a entraîné une meilleure réduction de 50,60 % de l'activité de ladite enzyme.

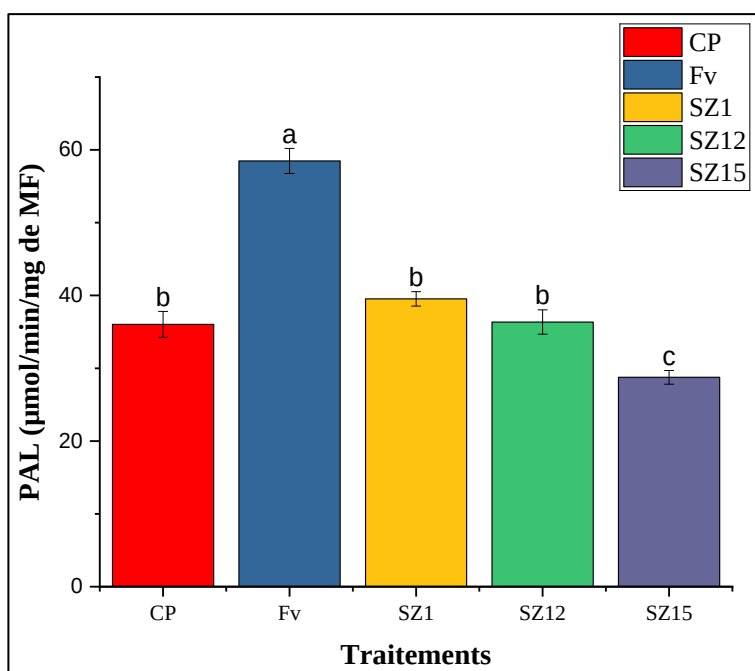


Figure 15: Influence du pré-traitement des semences de maïs par les ALBs et infection par *Fusarium verticillioides* sur la teneur en PAL.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **CP** = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv** = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1+ Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par

l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.4.2. Activité spécifique de la polyphénol oxydase

Les activités de la polyphénol oxydase (PPO) des différents traitements sont représentées dans la **figure 16** ci-après. D'une manière générale l'infection par *Fusarium verticillioides* seul a entraîné une augmentation de 37,93% de l'activité de la PPO comparé au témoin positif traduisant le niveau de stress des plantes malades. Par ailleurs, les pré-traitements par les ALBs, ont entraîné une réduction significative générale ($P < 0,05$) de cette activité par rapport au traitement avec *Fusarium verticillioides* seul. De plus, Aucune différence d'activité n'a été observé chez les différents traitements avec les ALBs.

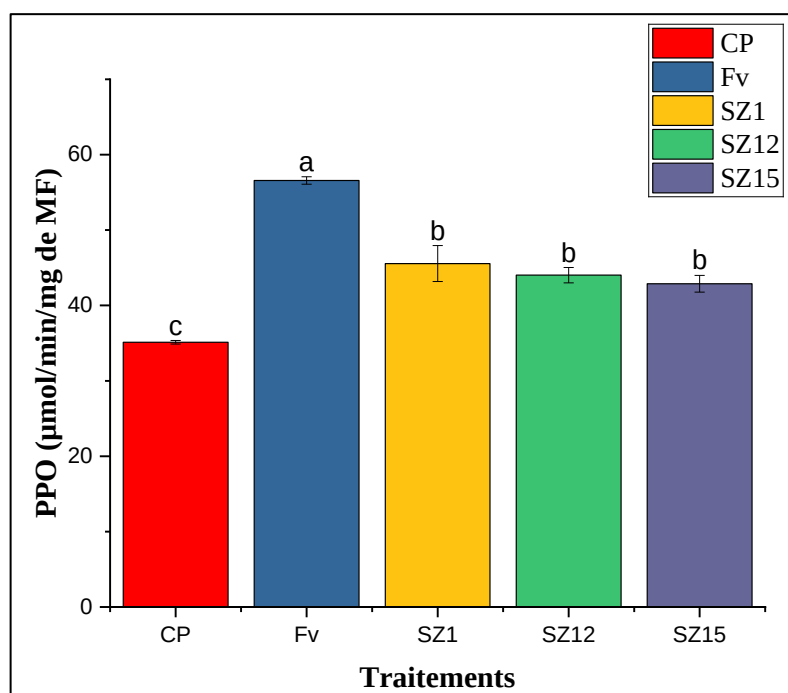


Figure 16: Effet du traitement préalable des semences de maïs par les ALBs et infection par *Fusarium verticillioides* sur la teneur en PPO.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **CP** = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv** = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1+ Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.4.3. Quantification de la teneur en proline

La **figure 17** ci-après présente la teneur en proline des différents traitements. Il en découle que, le traitement avec *Fusarium verticillioides* seul a entraîné une augmentation significative ($P < 0,05$) de la teneur en proline (1,11 mg/g de MS) par rapport au contrôle positif (0,80 mg/g de MS). Cette activité est significativement réduite en présence des pré-traitements avec les rhizobactéries en particulier ceux avec l'isolat SZ15 (0,97 mg/g de MS) et SZ12 (0,70 mg/g de MS) par comparaison avec le témoin négatif.

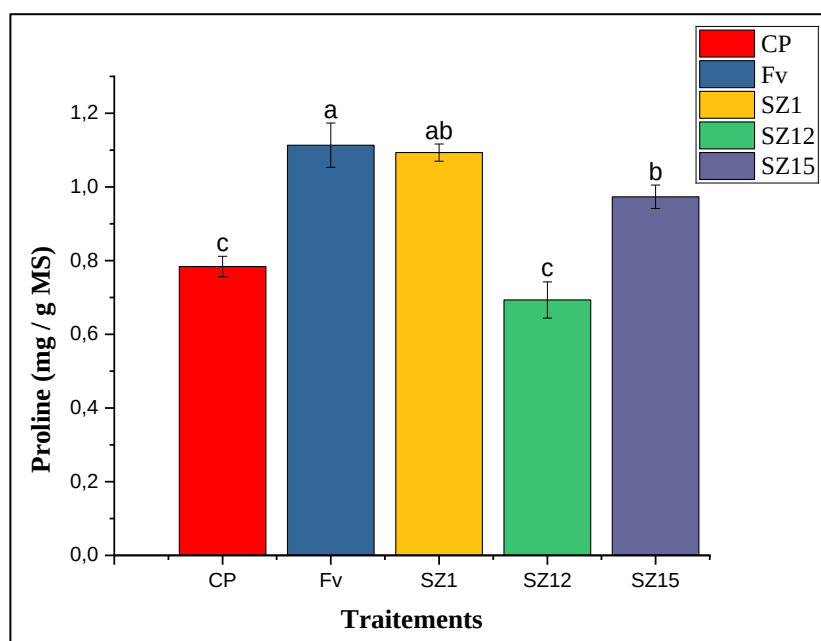


Figure 17: Effet de la pré-inoculation des semences de maïs par les rhizobactéries et infection par *Fusarium verticillioides* sur la teneur en proline.

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. CP = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; Fv = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. SZ1+ Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ12 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; SZ15 + Fv = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*

III.2.4.4. Quantification de la teneur peroxyde d'hydrogène

L'évaluation de la teneur en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est présentée dans la **figure 18** ci-dessous. De cette figure il ressort que, l'infection par *Fusarium verticillioides* seul a stimulé une augmentation significative de la teneur en H_2O_2 (0,20mmol/g de MF) par comparaison au témoin positif (0,04 mmol/g de MF). Cependant, on observe une réduction significative ($P <$

0,05) de la teneur en H_2O_2 chez les traitements avec les isolats SZ12 et SZ15 par rapport au traitement avec *Fusarium verticillioides* seul respectivement de 0,08 mmol/g de MF et 0,05mmol/g de MF.

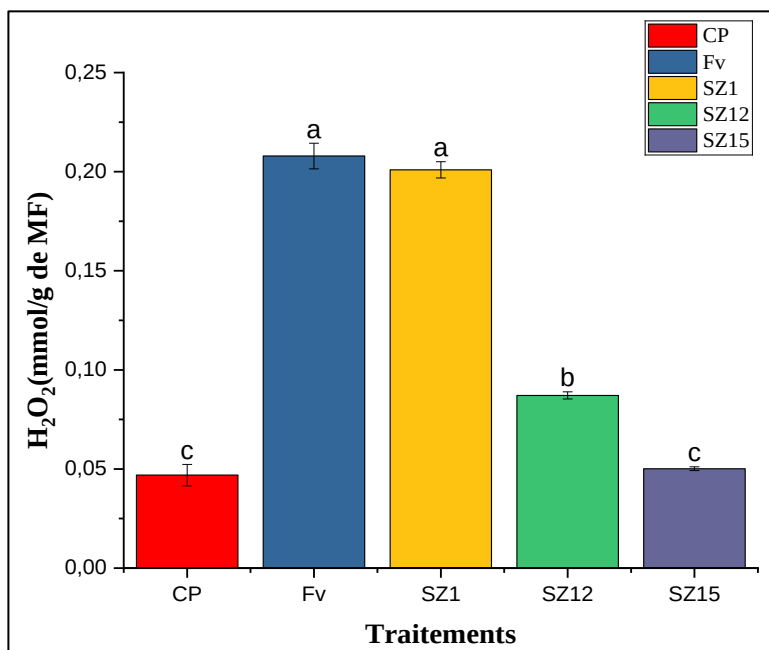


Figure 18: Effet de la bactérisation des semences de maïs par les ALBs et infection par *Fusarium verticillioides* sur la teneur en H_2O_2 .

Les traitements portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%. **CP** = Semences de maïs immergées dans de l'eau distille stérile ; **Fv** = Semences de maïs infectées par *F. verticillioides*. **SZ1+ Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ1 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ12 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ12 puis infectées par *F. verticillioides* ; **SZ15 + Fv** = Semences de maïs préalablement inoculées par l'isolat SZ15 puis infectées par *F. verticillioides*.

III.3. Discussion

Les stratégies de lutte biologique impliquant les agents bactériens sont apparues comme étant de véritables approches innovantes et respectueuses de l'environnement (**Kant et al., 2011**). Cependant, les phénomènes de changements climatiques fluctuantes dans les agroécosystèmes réduisent l'efficacité de ces derniers (**Goswani et al., 2014**). A cet effet, de nombreuses études ont démontrées l'efficacité des rhizobactéries issues des zones semi arides en tant qu'agents de lutte biologique dans ces conditions (**Asnake et al., 2024 ; Silva et al., 2020**). Ainsi, la présente étude a été menée dans l'optique d'identifier et d'évaluer le potentiel antagoniste des bactéries de la rhizosphère d'*Azadirachta indica* (neem) présent dans la zone semi-aride de l'extrême nord Cameroun contre les phytopathogènes *F. verticillioides*, *M. phasoelina*, *A. flavus*.

Au regard des résultats, 53 isolats de rhizobactéries ont été obtenus à l'issue de l'isolement et regroupés en 27 morphotypes démontrant ainsi la diversité microbienne associée à la rhizosphère du neemier. Le criblage préliminaire réalisé, a permis de sélectionner quatorze (14) isolats avec des pouvoirs antifongiques allant de 27,46 % à 95,77% en fonction de l'isolat bactérien et du phytopathogène concerné. Parmi ceux-ci, l'isolat SZ1 et SZ12 se sont révélés comme de meilleurs candidats face à ces trois phytopathogènes avec un pourcentage moyen de 95%. Des résultats similaires ont été obtenus par **Hussein et al. (2024)** qui ont présenté un pourcentage d'inhibition compris entre 0 et 97,99 % contre les phytopathogènes *R solani*, *M. phasoelina*, *P. aphamadermatum* en fonction des isolats de rhizobactéries utilisés parmi lesquels l'isolat DMC8 provenant de la rhizosphère d'un oranger doux s'est révélé comme meilleur candidat présentant une activité inhibitrice maximale de 97,99%. Par ailleurs, **Giannelli et al. 2024** ont testé vingt-cinq isolats bactériens issues de la rhizosphère du blé contre les espèces *A. flavus*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides* à l'issu de ce test, les rhizobactéries OK-17, OK-39, OK-45 se sont révélées efficaces contre les trois phytopathogènes avec des pourcentages d'inhibitions variant de 20 à 40%. De même, les phytopathogènes sont restés distants des ALBs testées, ceci témoigne la libération des substances diffusibles dans l'environnement (**Klich et al., 1991**). En Fait, il a été démontré que les rhizobactéries du genre *pseudomonas* ont la capacité de produire des enzymes lytiques capable de briser les liaisons glycosidiques dans la paroi cellulaire du pathogène, limitant ainsi leur croissance. Elles sont également capables de produire divers antibiotiques tels que le 2-4-diacétylphoroglucinol, les pyoverdines, la pyocheline, les phénazines pouvant inhiber la germination des spores et de modifier la morphologie des hyphes fongiques (**Beneduzi et al., 2012**). D'autres études ont aussi démontré la capacité de diverses espèces bactériennes tels que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Azobacter*, *Enteterobacter* et

Serratia à produire des sidérophores qui agissent en inhibant la prolifération des phytopathogènes, en séquestrant le Fe^{3+} et le rendant indisponible pour les pathogènes (**Beneduzi et al., 2012**).

En ce qui concerne le test de confrontation indirecte les pourcentages d'inhibitions variaient de 0% à 98,11% en fonction du pathogène et des isolats bactériens antagonistes ; la meilleure activité a été obtenue par SZ12 (97,95%) suivie de l'isolat SZ15 qui présentait un pourcentage d'inhibition de 97,53%. Ceci expliquerait la capacité de ces isolats bactériens à produire des composés volatiles tels que la pyocyanine, un composé à fort potentiel antimicrobien (**Zhimo et al., 2014**). En effet, ces composés volatils ont la capacité d'induire de nombreuses anomalies morphologiques chez le pathogène, telles que la perméabilité des membranes et le gonflement des hyphes provoquant de faible germination de conidies (**Li et al., 2020**).

Par ailleurs, les meilleurs agents de lutte SZ1, SZ12 et SZ15 ont démontré leurs capacités à protéger les plantules de maïs contre la pourriture des semis et racines causés par *F. verticillioides*. De ces résultats il ressort que, le pré-traitement par les ALBs a entraîné une augmentation significative des paramètres de croissance. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Mufti et Bano (2019)** qui ont démontré que les rhizobactéries *Pseudomonas stutzeri* et *pseudomonas putida* inoculées avant le semis pouvaient entraîner une augmentation des paramètres de croissance tel que la hauteur des pousses (117% et 103%) et le poids frais des pousses (120% et 100%) chez les plantes de soja infectées par *Macrophomina phaseolina*. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que, les rhizobactéries produisent des phytohormones telles que l'acide indole-3-acétique (AIA), l'auxine et les cytokinines qui ont la capacité de stimuler la croissance des racines latérales et améliorer l'absorption des nutriments et d'eau ce qui entraîne une amélioration de la biomasse racinaire et de la croissance des pousses (**Ahmed et al., 2024**).

Pour ce qui est de l'effet des pré-traitements avec les rhizobactéries sur les paramètres liés à la maladie, il a été révélé que le pré-traitement des semences avec les isolats bactériens augmentait le pourcentage de germination, l'indice de vigueur et le pourcentage de protection respectivement de 65%, 869,37% et de 66,5%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **Elsharkawy et al. (2022)** qui a signalé que l'inoculation des PGPR du genre *pseudomonas* (*Pseudomonas putida*, *P. brassicacearum*, *P. aeruginosa* et *P. resinovorans*) aux plantules de riz infectées par *Rhizoctonia solani* ont entraîné une amélioration de la croissance et de la résistance de ces plantules notamment, une augmentation respective de 83 à 89% et 1756 à 1496 du taux de germination et de l'indice de vigueur par rapport au groupe témoin. En effet, les rhizobactéries

sont bien connus pour leur capacité à stimuler la germination des graines en produisant divers métabolites secondaires en particulier les phytohormones qui favorisent de façon directe la croissance et le développement de la plante (**Ahmed *et al.*, 2024**). A cet effet, les résultats obtenus dans cette étude pourraient être attribués aux faits que, les ALBs ont stimulé une production accrue d'hormones végétales telles que les gibbérellines qui auraient pu déclencher l'activité d'enzymes spécifiques comme l'amylase, catalysant ainsi l'hydrolyse de l'amidon présent en sucres simples rendant ainsi les nutriments plus accessibles à la croissance de la plantule (**Konappa *et al.*, 2020**). De plus, un indice de vigueur élevé pourrait être due à la conséquence d'une amélioration de la synthèse et métabolisme de l'auxine hormone responsable de l'élongation cellulaire ou de la cytokinine hormones qui stimulent la division cellulaire déclenchée par le traitement au PGPR (**Noumavo *et al.*, 2013**). Nos résultats indiquent que les pré-traitements par les rhizobactéries (SZ1,SZ12,SZ15) ont significativement augmenté le pourcentage de protection des plantules de maïs vis-à-vis de *F. verticillioides* respectivement de 66,5%, 60% et 39% cette augmentation notable pourrait être due à l'induction d'une résistance systémique dans les plantules de maïs conféré par les ALBs comme mécanisme de lutte biologique conduisant à une promotion indirecte de la croissance des plantes via la suppression de la maladie (**Choudhury *et al.*, 2022 ; Zhu *et al.*, 2022**).

Les plantules infectées par *F. verticillioides* ont présenté une réduction des teneurs en chlorophylle et de caroténoïdes (85,93%, 88,54%, 83,33%) par rapport au témoin positif tandis qu'une réduction moins prononcée de la teneur en chlorophylle a et de caroténoïde a été observé chez le pré-traitement avec l'isolat SZ1 (0,3 mg/g MF et de 0,4 m/g MF). Ceci serait dû à l'infection par *F. verticillioides* qui aurait provoqué des dommages cellulaires notamment une chlorose et une nécrose foliaire en réduisant le nombre de chloroplastes fonctionnels entraînant ainsi une diminution de la teneur en chlorophylle observé chez le témoin négatif (**Krishna, 2025**).

L'activité enzymatique de la phénylalanine ammonia lyase (PAL) ont révélé une réduction d'activité de cette enzyme chez les différents traitements bactériens notamment SZ1, SZ12 et SZ15. Ces résultats pourraient être liés à une induction d'un mécanisme de défense systémique chez les plantules de maïs suite à une pré-inoculation des graines de maïs par les ALBs comme indiqué précédemment (**Martinez-Medina *et al.*, 2011**). En effet, la PAL est une enzyme clé issu de la voie des phénylpropanoïdes catalysant la désamination de la phénylalanine en acide trans cinnamique précurseur essentiel des voies de biosynthèse des phénylpropanoïdes (**Kim et Hwang, 2014**). Des recherches ont démontré que l'activation de la voie de l'acide

jasmonique entraîne une induction significative de synthèse de la PAL, qui se situe à l'interface du métabolisme primaire et de la synthèse des phénylpropanoïdes. Ce dernier constitue un groupe majeur de composés phénoliques comprenant les flavonoïdes, les phytoalexines, les lignines capables, de détruire les membranes du phytopathogène (**Kumar et al., 2020** et **Misra et al., 2023**), et par conséquent dotés d'activité antimicrobienne (**Cowan, 1999**). Ainsi plus la plante se retrouve en présence des agents étrangers plus elle synthétise une grande quantité de PAL d'où les résultats observés après dosage de cette enzyme ou la quantité de PAL produit augmentaient lors de l'infection par *F. verticillioides* seul comparé à la quantité observée dans les traitements en présence d'agents de lutte.

Par ailleurs, l'infection par *F. verticillioides* seul a entraîné une augmentation de la teneur en polyphénol oxydase (PPO) comparé à la quantité observée chez le témoin positif. Néanmoins, une augmentation significative de la teneur en PPO a été notée chez les traitements en présence d'ALBs comparé au témoin positif. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Chen et al. (2000)** qui ont indiqué que les racines de concombres traitées avec le PGPR *Pseudomonas aureofaciens* et infectées au pathogène *Pythium aphanidermatum* présentaient une accumulation élevée de PPO en outre, les résultats obtenus par **Babu et al. (2025)** ont indiqué que les PGPR isolés de la rhizosphère de la tomate présentaient une protection accrue contre le mildiou de la tomate en raison d'une accumulation importante en polyphénol oxydase. Cette augmentation pourrait être attribuée au fait que, le pré-traitement par les ALBs a pu entraîner une activation des voies de l'ISR notamment celle l'acide jasmonique qui a déclenché une série de réponses biochimiques coordonnées aboutissant à l'induction des mécanismes de défenses comprenant l'activation de diverses enzymes liés à la défense parmi lesquelles intervient la polyphénol oxydase qui contribuent à la défense des cellules végétales en catalysant l'oxydation des composés phénoliques en quinones (composés antimicrobiens). Ces composés hautement réactifs ont la capacité de modifier et réticuler divers constituant cellulaires favorisant ainsi la lignification des parois cellulaires qui empêchera l'invasion par le phytopathogènes entraînant par conséquent une réduction du stress chez les plantes (**Press, 2022** et **Ardebili et al., 2011**).

La quantification de la teneur en proline a révélé une proportion plus élevée de proline chez les plantules infectées par *F. verticillioides* (1,11 mg/g de MS) ainsi qu'une activité significativement réduite en présence des pré-traitements avec les ALBs SZ15 (0,97 mg/g de MS) et SZ12 (0,70 mg/g de MS). Ces résultats vont dans le même sens avec ceux obtenus par **Ahmed et al. (2024)** qui ont montré que le traitement par les rhizobactéries ont significativement

réduit la teneur en proline dans les feuillages frais des plantes de sorgo infectées par *Burkholderia*. En effet, la proline agit comme un piègeur de radicaux libres, une molécule antioxydante et un régulateur de l'équilibre thermique qui contribue à une atténuation du stress biotique (**Sporman et al., 2023 ; Hosseinifard et al., 2022**). ; de plus, une augmentation de la teneur en proline chez le traitement infecté par *Fusarium verticillioides* traduirait une réponse de l'hôte visant à se défendre contre le stress induit par le phytopathogènes (**Zeyad et al., 2022**).

Les résultats de l'évaluation de la teneur en H_2O_2 ont présenté une augmentation plus élevée (0,2mmol/g MF) de H_2O_2 chez les jeunes plantules infectées par *Fusarium verticillioides*. Tandis que, les pré-traitements par les ALBs SZ12 et SZ15 ont démontré des diminutions de cette teneur respectivement de 0,08 mmol/g de MF et 0,05mmol/g par comparaison au traitement infecté. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Krishna, (2025)** qui a montré que la quantité de H_2O_2 générée chez les plantes infectées par *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* était la plus élevée par rapport au traitement avec les rhizobactéries. De même, il a aussi indiqué une réduction de la teneur en H_2O_2 chez les plantules traitées avec les PGPB telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *pseudomanas putida*, *paenibacillus polymyxa* et *Bacillus cereus*. En effet, dans les conditions normales de croissance, les plantes utilisent les espèces réactives à l'oxygène à de faible concentration comme molécule de signalisation cependant, en conditions de stress comme une infection par *Fusarium verticillioides* la production de H_2O_2 devient excessive entraînant un déséquilibre rédox et des dommages cellulaires au niveau des protéines de signalisation (les kinases et facteurs de transcription), de l'ADN et des lipides (**Sahu et al., 2022**) ce qui pourrait expliquer la production accrue de H_2O_2 observé chez le traitement avec *Fusarium verticillioides* seul. Néanmoins, une diminution de la teneur en H_2O_2 chez les plantules prétraitées avec les isolats SZ12 et SZ15 peut être due aux faites que, les rhizobactéries ont réussi à maintenir l'équilibre stable entre la production de H_2O_2 et les mécanismes de piégeage, à travers l'activation d'enzymes antioxydantes telles que la peroxydase (POD) et la catalase (CAT) qui ont entraîné une décomposition de H_2O_2 en H_2O et O_2 réduisant ainsi la toxicité du H_2O_2 (**Sahu et al., 2022** et **Krishna, 2025**). A cet effet, les études réalisées par **Qadir et al. (2024)** et **Backer et al. (2018)** ont confirmé l'impact positif des PGPR sur le renforcement de la capacité antioxydante de la plante.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

1. CONCLUSION

Au terme de ce travail dont l'objectif général était d'isoler et d'évaluer le potentiel antagoniste des bactéries issues des sol semi-arides et de la rhizosphère de la plante *Azadirachta indica* (neem) présent dans les zones semi-arides de l'extrême nord Cameroun contre quelques champignons phytopathogènes (*Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina*, *Aspergillus flavus*), il en ressort que :

- Cinquante-trois (53) isolats bactériens regroupés en 27 morphotypes ont été obtenus de la rhizosphère d'*Azadirachta indica* (neem) présent dans les zones semi-arides de l'extrême nord Cameroun.
- Les tests d'antagonismes ont permis d'identifier trois isolats a fort potentiel antagoniste contre *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* à savoir : SZ1, SZ12 et SZ15.
- Les ALBs SZ1, SZ12 et SZ15 ont réduit le taux d'infection des graines par *Fusarium verticillioides* et ont fortement augmentés la croissance végétative des plantules de maïs et une reprogrammation du système de défense des jeunes plants.

2. PERSPECTIVES

Ce travail n'étant qu'une étape d'un vaste projet de recherche, nous envisageons dans un avenir proche de :

- Faire une identification moléculaire de l'isolat SZ1 afin de déterminer son appartenance spécifique à une espèce bactérienne.
- Evaluer le pouvoir antagoniste de l'isolat en champs dans plusieurs zones agro écologiques.

REFERENCE

REFERENCES

Abdel, F., Matsumoto, K., & Watanabe. (2011). Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European Journal of Pharmacology*, 400, 89–97.

Abdelhamid, Foughalia. (2022). Recherche d'agents de lutte biologique d'origine microbienne contre des champignons phytopathogènes. Université Mohamed Khider de Biskra.

Abdelkader, F. (2012). Étude comparative de l'infection des sols par quelques champignons pathogènes en conditions de semis direct et de travail conventionnel. Diplôme de Magister, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.

Academic Press. (2016). Boddy, L. The Fungi_ (3rd ed.). Academic Press. pp. 245–292.

Acur, A., Arias, R. S., Odongo, S., Tuhaise, S., Ssekandi, J., Adriko, J., Muhanguzi, D., Buah, S., & Kiggundu, A. (2020). Genetic diversity of aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* isolated from selected groundnut growing agro-ecological zones of Uganda. *Journal of Plant Pathology*, 1–12.

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology (5th ed.). Elsevier Academic Press, Amsterdam. pp. 398–401.

Ahemad, M. (2005). Phosphate-solubilizing bacteria-assisted phytoremediation of metalliferous soil. *3 Biotech*, 5, 111–121.

Ahmed, M., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., Ram, T., Manghwar, H., & Liu, F. (2024). Plant Stress Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, 11 (August 2023).

AL-Askar, A., & Rashad, Y. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease. *Plant Pathology Journal*, 9, 31–38.

Anand, G., & Rajeshkumar, K. C. (2022). Défis et menaces posés par les champignons phytopathogènes sur la productivité et l'économie agricoles. Dans : Diversité fongique, écologie et gestion du contrôle. Biologie fongique. Springer, Singapour.

- Anokhe, A., Singh, N., & Deeksha, M. G. (2024).** Climate change effect on the efficacy of biological control agents of terrestrial and aquatic invasive weeds. *Journal Name*, 56, 449–460.
- Anonymous. (2017).** Stop neglecting fungi. *Nature Microbiology*, 2, 17120.
- Ardebili, Z. O., Ardebili, N. O., Mohammad, S., & Hamdi, M. (2011).** Physiological effects of *Pseudomonas fluorescens*_CHA0 on tomato (*Lycopersicon esculentum*_ Mill.) plants and its possible impact on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Journal Name*, 5, (12), 1631–1638.
- Ashwini, N., & Srividya, S. (2014).** Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides*_OGC1. *3 Biotech*, 4, 127–136.
- Asnake, B., Beshah, D., Muleta, G., Gudina, L., & Fassil, A. (2024).** Exploring stress-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from groundnut rhizosphere soil in semi-arid regions of Ethiopia. *Plant Signaling and Behavior*, 19.
- Aylor, D. L. (2017).** Dispersal of plant pathogens by wind and water. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 169–189.
- Babu, A. N., Jogaiah, S., Ito, S. I., Nagaraj, A. K., & Tran, L. S. P. (2015).** Improvement of growth, fruit weight, and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Plant Science*, 231, 62–73.
- Baca, B. E., & Elmerich, C. (2007).** Microbial production of hormones. In C. Elmerich & W. E. Newton (Eds.), *Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacteria Associations* (pp. 113–143). Springer, Netherlands.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2018).** Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1473.
- Bajsa, N., & Fabiano, E. (2023).** Biological control of phytopathogens and insect pests in agriculture: An overview of 25 years of research in Uruguay. *Journal Name*, 121–133.
- Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2005).** Favorise la croissance des plantes. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 1, 103–115.

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207.

Bebber, D. P., Field, E., Gui, H., Mortimer, P., Holmes, T., & Gurr, S. J. (2019). Many unreported crop pests and pathogens are probably already present. *Global Change Biology*, 25.

Benazouz-Kesbia, K. (2021). Cours de biotechnologie fongique et bactérienne. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, UMMTO, pp. 1–4.

Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists to plant pathogens. *Genetics and Molecular Biology*, 35(5), 1044–1051.

Benidire, L., et al. (2018). Évaluation de l'activité antimicrobienne de la rhizobactérie *Pseudomonas fluorescens* isolée des sols semi-arides du Maroc. *Journal of Plant Pathology*, 100(2), 241–248.

Benjamin, J., Olayinka, D., Emmanuel, O., Oziegbe, V., Oni, J., Boluwatife, E., Godswill, O., Ujah, O., & Adebayo, A. (2024). Cereal production in Africa: The threat of current plant pathogens in changing climate - a review. *Discover Agriculture*.<https://doi.org/10.1007/s44279-024-00040-3>.

Bennett, R., Mellon, F., Foild, N., Pratt, J., Dupont, M., Perkins, L., & Kroon, P. (2003). Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose tree *Moringa oleifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (12), 3546–3553.

Berg, G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: Perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84 (1), 11–18.

Bezert, G., Chappe, P., Mourey, A., & Loubinoux, B. (1996). Action de *Bacillus* et d'*actinomycètes* sur les Bulletins des Académies et Sociétés des Sciences, 35 (3), 177–190.

Bibi, A., Bibi, S., Ghouti, M. A. Al, & Dieyeh, M. H. A. (2023). Isolation and evaluation of Qatari soil rhizobacteria for antagonistic potential against phytopathogens and growth promotion in tomato plants. *Scientific Reports*, 12, 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49304>.

Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J. P., Reymond, P., Sanglier, J., Vayssier, Y., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. Paris : Masson. p. 512.

Boudih, S. (2011). Identification des moisissures et leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de doctorat, Université Paris Est.

Boukerma, L., Benchabane, M., Charif, A., & Khélifi, L. (2017). Activity of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) in the biocontrol of tomato Fusarium wilt. *Plant Protection Science*, 53 (2), 78–84.

Camele, I., Elshafie, H., Caputo, L., Sakr, S. H., & De Feo, V. (2019). *Bacillus mojavensis* : Formation de biofilm et étude biochimique de ses métabolites bioactifs. *Journal of Research in Biological Sciences*, 39–45.

Chabasse, D., Bouchara, J. P., De Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation en biologie médicale n°25, pp. 29, 78–84.

Chaiharn, M., & Lumyong, S. (2009). Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (2), 305–314.

Chaloner, T. M., Gurr, S. J., & Bebber, D. P. (2020). The global burden of plant disease tracks crop yields under climate change. bioRxiv[Preprint]. <https://doi.org/10.1101/2020.04.28.066233>.

Chauhan, H., Bagyaraj, D., Selvakumar, G., & Sundaram, S. (2015). Novel plant growth-promoting rhizobacteria: Prospects and potential. *Applied Soil Ecology*, 95, 38–53.

Chen, C., Belanger, R. B., Benhamou, N., & Paulitz, T. C. (2000). Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56, 13–23.

Choudhury, D., Tarafdar, S., & Dutta, S. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their eco-friendly strategies for plant growth regulation: A review. *Plant Science Today*, 9, 524–537.

Corbaz, R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaires, 10-14.

- Cowan, M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564–582.
- Curl, E. A., & Truelove, B. (1986).** The Rhizosphere. *Advanced Series in Agricultural Sciences*, Vol. 15(3), Coordinating Editor B. Yaron, pp. 284–288.
- Dinango, V. N., Dhouib, H., Wakam, N., Kouokap, L. K., Youmbi, Y., Eke, P., & Driss, F. (2023).** Bacterial endophytes inhabiting desert plants provide protection against seed rot caused by *Fusarium verticillioides* and promote growth in maize. *Pest Management Science*.
- Djellout, H., Mekheldi, D., Belkacem, K. K., Raio, A., & Krimi, Z. (2019).** Évaluation du potentiel de souche antagoniste de *Bacillus spp* et de *Pseudomonas spp* dans le contrôle de *Agrobacterium spp* pathogène impliqué dans la maladie de galle de collet. *Revue Agrobiologia*, 9 (1), 1267–1283.
- Doucet, R. (2008).** Les plantes agricoles et leurs maladies. Édition Aline Côté. Centre collégial de développement de matériel didactique, Québec.
- Duy, M., Hoi, N., Ve, N., Thuc, L., & Trang, N. (2016).** Influence of *Cellulomonas flavigena*, *Azospirillum sp*, and *Pseudomonas sp*. On rice growth and yield grown in submerged soil amended in rice straw. *Recent Trends in PGPR Research for Sustainable Crop Productivity*, 238–242.
- Edris, A. E., & Farrag, E. S. (2003).** Activité antifongique des huiles essentielles de menthe poivrée et de basilic doux et de leurs principaux constituants aromatiques sur certains champignons phytopathogènes de la phase vapeur. *Nahrung/Food*, 47, 117–121.
- Elsharkawy, M. M., Sakran, R. M., Ahmad, A. A., Behiry, S. I., Abdelkhalek, A., Hassan, M. M., & Khedr, A. A. (2022).** Induction of systemic resistance against sheath blight in rice by different *Pseudomonas* isolates. *Journal of Plant Disease Research*, 1–13.
- Errakhi, R. (2008).** Contribution d'actinomycètes (actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- Eva, Stukenbrock, E., & Gurr, S. (2023).** Addressing the growing urgency of fungal disease in crops. *Nature*, 2023.

Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F. A., Khan, F., Chen, Y., & Wu, C. (2015). Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stress: Consequences for a changing environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 22.

FAO, FIDA, UNICEF, PAM, & OMS. (2022). L'état de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde : Réorienter les politiques alimentaires et agricoles pour rendre les régimes alimentaires sains plus abordables. Rome, Italie : FAO. ISBN 978-92-5-136499-4.

FAO. (2023). The State of Food and Agriculture: Moving Forward on Food Loss and Waste Reduction. Licence CC BY-NC-SA 3.0 IGO, Rome, Italie.

Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. (2012). Emerging fungal threats to animal, plant, and ecosystem health. *Nature*, 484, 186–194.

Fones, H. N., Bebbler, D. P., Chaloner, T. M., Kay, W. T., Steinberg, G., Gurr, S. J., et al. (2020). Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. *Nature Food*, 1, 332–342.

Fourneau, E., Personeni, E., & Morvan-Bertrand, A. (2024). A “love match” score to compare root exudate attraction and feeding of the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Azospirillum brasilense*. *Frontiers in Microbiology*.

Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X., & Barea, J. M. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45, 209–217.

Gauthier, A. (2016). Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, France, pp. 30–31.

Giannelli, G., Del Vecchio, L., Cirlini, M., Gozzi, M., Gazza, L., Galaverna, G., Potestio, S., & Visioli, G. (2024). Exploring the rhizosphere of perennial wheat: Potential for plant growth promotion and biocontrol applications. *Scientific Reports*, 14 (1), 22792.

Gietler, M., Nykiel, M., & Zagdańska, B. M. (2016). Changes in the reduction state of ascorbate and glutathione, protein oxidation, and hydrolysis leading to the development of dehydration intolerance in *Triticum aestivum*_L. seedlings. *Plant Growth Regulation*, 79, 287–297.

- Glick, B. R. (1995).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41 (2), 109–117.
- Glick, B. R. (2012).** Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 15p.
- Goswami, D. H., Vaghela, S., Parmar, P., Dhandhukia, J., & Thakker, J. N. (2013).** Plant growth-promoting potentials of *Pseudomonas spp.* strain OG isolated from marine water. *Journal of Plant Interactions*, 8, 281–290.
- Gowtham, H. G., Singh, S. B., & Murali, M. (2016).** Biological control of plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Control*, 30 (3), 147–155.
- Gray, E., & Smith, D. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 395–412.
- Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., & Dinoor, A. (2002).** Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Phytopathology*, 92(6), 620–626.
- Gundersen, C., & Ziliak, J. P. (2015).** Insécurité alimentaire et résultats en matière de santé. *Health Affairs*, 34, 1830–1839.
- Gupta, G., Singh Parihar, S., Kumar Ahirwar, N., Kumar Snehi, S., & Singh, V. (2015).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial Biochemical Technology*, 7 (2), 96–102.
- Gupta, G. K., Sharma, S. K., & Ramteke, R. (2012).** Biology, epidemiology, and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean. *Journal of Phytopathology*, 160 (4), 167–180.
- Hai, D., Li, J., Jiang, D., Cheng, J., Xiao, X., Yin, H., Lin, Y., Chen, T., Li, B., Cai, Q., Chen, W., Kotta-Loizou, I., & Xie, J. (2024).** Plants interfere with non-self-recognition of a phytopathogenic fungus via proline accumulation to facilitate mycovirus transmission. *Nature Communications*, 1–13.
- Hajek, A. E., & Eilenberg, J. (2018).** Natural enemies: An introduction to biological control Cambridge University Press.

Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., & Imran, A. (2021). Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 617157.

Hartman, K., & Tringe, S. G. (2019). Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress. *Frontiers in Microbiology*, October, 2705–2724.

Heit, S. (2015). Identification de *Fusarium* et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, 13–116.

Helluy, S., & Holmes, J. C. (2005). Parasitic manipulation: Further considerations. *Behavioural Processes*, 68 (3), 205–210.

Hosford, R. M. Jr., & Morrall, R. A. A. (2012). The epidemiology of leaf spot disease in a native prairie: The progression of disease with time. *Canadian Journal of Botany*, 53, 1040–1050.

Hosseinifard, M., Stefania, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., & Garnzczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stress tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (9), 5186.

Houbraken, J., & Samson, R. A. (2011). Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in Mycology*, 70, 1–51.

Hunziker, L., Bonisch, D., Groenhagen, U., Bailly, A., Schulz, S., & Weisskopf, L. (2015). *Pseudomonas* strains naturally associated with potato plants produce volatiles with high potential for inhibition of *Phytophthora infestans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 8, 821–830.

Hussein, S. N., Safaie, N., Shams-Bakhsh, M., & Al-Juboory, H. H. (2024). Harnessing rhizobacteria: Isolation, identification, and antifungal potential against soil pathogens. *Heliyon*, 10(15), e35430.

Jog, R., Pandya, M., Kumar, G. N., & Kumar, S. R. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*, 160, 778–788.

Jørgensen, K., Puustinen, J., & Suortti, A. M. (2000). Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. *Environmental Pollution*, 107 (2), 245–254.

Jourdan, E., Ongena, M., & Thonart, P. (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment (BASE)*.

Ju, W., Jin, X., Liu, L., Shen, G., Zhao, W., Duan, C., & Fang, L. (2020). Rhizobacteria inoculation benefits nutrient availability for phytostabilization in copper-contaminated soil: Drivers from bacterial community structures in rhizosphere. *Applied Soil Ecology*, 150, 103450.

Kadyan, S., Panghal, M., Kumar, S., Singh, K., & Yadav, J. P. (2013). Assessment of functional and genetic diversity of aerobic endospore-forming *Bacillus* from rhizospheric soil of *Phyllanthus amarus*. *World Journal of Microbiology and Biotchnology*, 29, 1597–1610.

Kang, Y., Shen, M., Wang, H., & Zhao, Q. (2013). A possible mechanism of action of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 59(4), 267–277.

Kant, P., Reinprecht, Y., Martin, J., Islam, R., & Pauls, K. (2011). Disease resistance/pathology/*Fusarium*. *Comprehensive Biotechnology*, 729–743.

Kaur, S., Dhillon, G. S., Kronemeyer, W., Rossi, A. L., Noel, T. C., & Brar, S. K. (2012). Fungal Aflatoxin B1 and chratoxin A₁ biosynthesis: Chemistry, genetics, and bioremediation. *Advances in Applied Microbiology*, 78, 1–44.

Khabbaz, S. E., Ladhalakshmi, D., Babu, M., Kandan, A., Ramamoorthy, V., Saravanakumar, D., Al-Mughrabi, T., & Kandasamy, S. (2019). Plant growth-promoting bacteria (PGPB): A versatile tool for plant health management. *Canadian Journal of Pesticides and Pest Management*, 1 (1), 1–25.

Khan, I., Mohyuddin, S. G., Zaman, S., Qadir, M., & Guo, J. (2024). Enhancing growth in *Vigna radiata* through the inhibition of charcoal rot disease: A strategic approach using plant growth-promoting rhizobacteria. *Frontiers in Microbiology*.

Khandare, S. S., Bhoge, P. D., & College, B. (2020). Studies on characterization and antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from semiarid soil against plant fungal pathogens. *Journal of Plant Protection Research*, 10, 1–8.

Kim, D. S., & Hwang, B. K. (2014). An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signaling of the defense response to microbial pathogens. *Journal of Experimental Botany*, 65, 2295–2306.

Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., Egham, U. K., & Stopes, J. A. (2001). Ainsworth and Bysby's Dictionary of Fungi (9th ed.). CABI Bioscience UK Center and Central Bureau, Utrecht, The Netherlands.

Klich, M. A., Lax, A. R., & Bland, J. M. (1991). Inhibition of some mycotoxigenic fungi by iturin A, a peptidolipid produced by *Bacillus subtilis*. *Mycopathologia*, 116 (2), 77–80.

Konappa, N., Krishnamurthy, S., Arakere, U. C., & Chowdappa, S. (2020). Efficacy of indigenous plant growth-promoting rhizobacteria and *Trichoderma* strains in eliciting resistance against bacterial wilt in tomato. *Journal of Plant Protection Research*, 102(4), 873-884.

Kumar, M., Tak, Y., Potkule, J., Choyal, P., Tomar, M., Meena, N. L., & Kaur, C. (2020). Phenolics as plant protective companions against abiotic stress. In Lone, R., Shuab, R., & Kamili, A. (Eds.), *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture* (Vol. 1, pp. 277–308).

Kumar, S., et al. (2019). Évaluation de l'activité antimicrobienne de la rhizobactérie *Bacillus subtilis* isolée des sols semi-arides de l'Inde. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19 (3), 537–546.

Kumari, B., Mallick, M. A., Solanki, M. K., Solanki, A. C., Hora, A., & Guo, W. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Modern prospects for sustainable agriculture. In *Plant Health under Biotic Stress* (Vol. 2, pp. 109–127).

Krishna, R. (2025). Relevance of plant growth-promoting bacteria in reducing the severity of tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by altering metabolites and related genes. *Frontiers in Microbiology*, 1–12.

Latgé, J. P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (2), 310–350.

Lee, J. Y., & Hwang, B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*, 4, 407–417.

- Lee, J. S. (2013).** Insécurité alimentaire et coûts des soins de santé : stratégies de recherche utilisant des sources de données locales, étatiques et nationales pour les personnes âgées. *Advances in Nutrition*, 2013, 42–50.
- Lefort, F. (2010).** Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute École de Paysage, d'Ingénierie et d'Architecture, Genève.
- Lehlali, R., Ezrari, D., Nabil, R., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., ElHamss, H., Belabess, Z., & Ait Barka, E. (2022).** Biological control of plant pathogens: *A global perspective* *Microorganisms*, 10 (3), 596.
- Lemanceau, P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp. fluorescent*. *Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie*, 12(6), 413–437.
- Lepoivre, P. (2003).** Phytopathologie (1ère édition). De Boeck, Bruxelles, Belgique, pp. 111–159.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006).** The *Fusarium* Laboratory Manual. *Blackwell Publishing*.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983).** Determination of total carotenoid and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 1, 591–592.
- Li, Y., Li, Z., Arafat, Y., & Lin, W. (2020).** Studies on fungal communities and functional guilds shift in tea continuous cropping soils by high-throughput sequencing. *Annals of Microbiology*, 9 (1), 1–22.
- Liu, K., Qi, Z., Tan, L., Yang, C., & Hu, C. (2023).** Mixed use of chemical pesticides and biopesticides among rice–crayfish integrated system farmers in China: A multivariate probit approach. *Agriculture*, 13 (8), 1590.
- Manjunath, M., Prasanna, R., Sharma, P., Nain, L., & Singh, R. (2011).** Developing PGPR consortia using novel genera *Providencia* and *Alcaligenes* along with cyanobacteria for wheat. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 57, 873–887.

Mantelin, S., & Touraine, B. (2004). Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: Impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany*, 55 (394), 27–34.

Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S., & Ducasse, D. A. (2021). *Macrophomina phaseolin*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. *Frontiers in Microbiology*, 12(April).

Martínez-Medina, A., Roldan, A., & Pascual, J. (2011). Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low-input fertilization field conditions in melon crops: Growth response and *Fusarium* wilt biocontrol. *Applied Soil Ecology*, 47, 98–105.

Martinez-V, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10 (3), 293–319.

Maufras. (2001). The role of the cropping method in the elimination of hazardous fungicides (*Tilletia caries*). Mémoire d'ingénieur, IST, Université de Tebessa, 70p.

Misturo, H., Mitsuyoshi, N., Tatsuyuki, A., Shigenobu, Y., Seiya, T., & Hideki, T. (2013). *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato. *Microbes and Environments*, 28(1), 128–134.

McDonald, B. A., & Stukenbrock, E. H. (2016). Rapid emergence of pathogens in agroecosystems: Global threats to agricultural sustainability and food security. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B Biological Sciences*, 371, 20160026. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0026>.

McQuilken, M. (2003). Production of macrophelide A by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *FEMS Microbiology Letters*, 27–31.

Mihail, J. D. (1992). *Macrophomina*. In *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, (pp. 143–145).

Misra, D., Dutta, W., Jha, G., & Ray, P. (2023). Interactions and regulatory functions of phenolics in the soil-plant-climate nexus. *Agronomy*, 13, 280.

Morin, O. (1994). *Aspergillus* et *aspergilloses* : biologie. Techniques Encyclopédie Médecine Chirurgicale (Elsevier, Paris), *Maladies infectieuses 8-600-A-10 Morno-Martinez*.

Mufti, R., & Bano, A. (2019). PGPR-induced defense responses in the soybean plant against charcoal rot disease. *Journal of Fungi*, 46.

Müller, D. B., Vogel, C., Bai, Y., & Vorholt, J. A. (2016). The plant microbiota: Systems-level insights and perspectives. *Annual Review of Genetics*, 50, 211–234.

Mukhtar, S., Mehnaz, S., Mirza, M. S., & Malik, K. A. (2019). Isolation and characterization of bacteria associated with the rhizosphere of halophytes (*Salsola stocksii* and *Atriplex Amnicola*) for production of hydrolytic enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50, 85–97.

Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium* species and their associated mycotoxins. *Methods in Molecular Biology*, 1542, 51–106

Murali, M., Naziya, B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., & Alyaha, S. (2021). Biorespecting of rhizosphere-resident fungi: Their role and importance in sustainable agriculture. *Journal of Fungi*, 7, 314.

Nehem, N. (2008). Étude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni* : Impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, pp. 43–44.

Nelson, P. E., Dignani, M. C., & Anaissie, E. J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7 (4), 479–504.

Noumavo, P. A., Kochoni, E., Didagbé, Y. O., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R., Gachomo, E. W., Kotchoni, S. O., & Baba-Moussa, L. (2013). Effect of different plant growth-promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *Journal of Plant Pathology*, 1013–1021.

Novello, G., Bona, E., Toumatia, O., Vuolo, F., Bouras, N., Titouah, H., Zitouni, A., Gorrasi, S., Massa, N., Cesaro, P., Todeschini, V., Lingua, G., & Gamalero, E. (2023). Rhizosphere bacterial isolation from indigenous plants in arid and semi-arid Algerian soils: Implications for plant growth enhancement. *Frontiers in Microbiology*, 1–17.

Nysanth, N. S., Sivapriya, S. L., Natarajan, C., & Anith, K. N. (2022). Novel *in vitro* methods for simultaneous screening of two antagonistic bacteria against multiple fungal phytopathogens in a single agar plate. *3 Biotech*, 12 (6), 140.

Oleńska, E., Malek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., & Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of the Total Environment*, 743, 140682.

Omar, I., O'Neill, T. M., & Rossall, S. (2006). Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. *Plant Pathology*, 55(1), 92–99.

Ousma, M. B., Brahim, M., Adama, M. H., Simon, M. S., & Bana, M. S. (1975). Commune de Yagoua Cameroun. *Revue Géographique*, 1–11.

Pal, K. K., Dey R., TilakK, V., B., R. (2014). Fungal Diseases of Groundnut: Control and Future Challenges. In: *Goyal. A et Manoharachary. C (eds), Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens*. P, 12-16: 61.

Palazzini, J. M., Alberione, E. J., & Chulze, S. N. (2016). Biological control of *Fusarium* head blight: A review. *European Journal of Plant Pathology*, 146 (2), 257–271.

Pane, B., Sourabie, O., Philippe, A., Nikiem, A., Alfred, S., & Traoré, E. (2011). Caractérisation de souches d'*Aspergillus sp.* isolées des grains d'arachides cultivées au Burkina Faso, Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (3), 1232–1249.

Pellan, L. (2020). Décryptage des mécanismes impliqués dans le biocontrôle des champignons mycotoxinogènes des céréales. Thèse de doctorat en biotechnologie et microbiologie, 225p.

Peng, X., Du, C., Yu, H., Zhao, X., & Zhang, X. (2019). Purification and characterization of polyphenol oxidase (PPO) from water yam (*Dioscorea alata*). *Journal of Food*, 17 (1), 676–684.

Pereira, V. L., Fernandes, J. O., & Cunha, S. C. (2014). Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 36, 96–136.

- Pérez-Montano, F., Alias-Villegas, C., Bellogín, R. A., Cerro, P. A., Espuny, M. R., Jiménez-Guerrero, I., López-Baena, F. J., & Cubo, T. (2013). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research*, 169 (5–6), 325–336.
- Perrone, G., & Gallo, A. (2017). *Aspergillus* species and their associated mycotoxins. *Methods in Molecular Biology*, 1542, 33–49.
- Pertot, I., Puopolo, G., Giovannini, O., Angeli, D., Sicher, C., Agroecosistemi, D., Ricerca, C., Fem, E. M., Michele, S., Agricoltura, C., Ambiente, A., Trento, U., & Michele, S. (2017). Advantages and limitations involved in the use of microbial biofungicides for the control of root and foliar phytopathogens of fruit crops. *Biological Control Journal*, 23 (3), 3–12
- Petatàn-Sagahón, I., Anducho-Reyes, M. A., Silva-Rojas, H. V., Arana-Cuensa, A., Tellez-Jurado, A., Cárdenas-Álvarez, I. O., & Mercado-Flores, Y. (2011). Isolation of bacteria with antifungal activity against the phytopathogenic fungi *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*. *International Journal of Molecular Sciences*, 12 (9), 5522–5537.
- Prasad, P., Boote, K., Vu, J., & Allen, L. (2004). The carbohydrate metabolism enzymes sucrose-P synthase and ADG-pyrophosphorylase in Phaseolus bean leaves are up-regulated at elevated growth carbon dioxide and temperature. *Plant Sciences*, 166, 1565–1567.
- Press, S. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and its mechanisms against plant diseases for sustainable agriculture and better productivity. *Biocell*, 46 (8), 1843–1859.
- Qadir, M., Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Al-Huqail, A. A., Iqbal, A., & Ali, S. (2024). Improving sunflower growth and arsenic bioremediation in polluted environments: Insights from ecotoxicology and sustainable mitigation approaches. *Heliyon*, 10, 33078.
- Rahul, P., & Jha, S. N. (2014). Basics of the genus *Aspergillus*. *International Journal of Research in Botany*, 4 (2), 26–30.
- Ramjegathesh, R., Samiyappan, R., Raguchander, T., Prabakar, K., & Saravanakumar, D. (2013). Plant-PGPR interaction for pest and disease resistance in sustainable agriculture. In *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management* (pp. 293–320). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Raveau, R., Fontaine, J., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. *Foods*, 9(3), 365.

Roger, P., Dommergues, Y., Balandreau, J., Dreyfus, B., & Sougoufara, B. (1996). La fixation biologique de l'azote : quelles potentialités pour le développement. Conférence-débat de l'ORSTOM.

Sahu, P. K., Jayalakshmi, K., Tilgam, J., Gupta, A., Nagaraju, Y., Kumar, A., Hamid, S., Singh, H. V., Minkina, T., Rajput, V. D., & Rajawat, M. V. (2022). ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1042936.

Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J., & Hollier, C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security*, 4, 519–537.

Shakeel, Q., Lyu, A., Zhang, J., Wu, M., Li, G., & Hsiang, T. (2018). Biocontrol of *Aspergillus flavus* on peanut kernels using *Streptomyces yanglinensis*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–9.

Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., et al. (2021). PGPR in agriculture: A sustainable approach to increasing climate change resilience. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667546.

Shen, F., Wu, W., Han, X., Wang, J., Li, Y., & Liu, D. (2021). Study on the occurrence law and green control of grape gray mold from the perspective of ecological balance. *Bioengineered*, 12 (1), 779–790.

Silva, J. F., et al. (2020). Évaluation de l'activité antimicrobienne de la rhizobactérie *Streptomyces griseus* isolée des sols semi-arides du Brésil. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30 (3), 537–546.

Singleton, P. (2005). Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies (6ème édition). Dunod, Paris, pp. 480–490.

Singh, D. P., Singh, H. B., & Prabha, R. (2017). Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Systems.

Spaepen, S., Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., & Vanderleyden, J. (2008). Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. *Plant and Soil*, 312, 15–23.

Summerell, B. A., Salleh, B., & Leslie, J. F. (2003). A utilization approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*, 87(2), 117, 120, 122–128.

Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323–339.

Sun, Y., Ding, J., Siemann, E., & Keller, S. R. (2020). Biocontrol of invasive weeds under climate change: Progress, challenges, and management implications. *Current Opinion in Insect Science*, 38, 72–78.

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M. S. I., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialization and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117

Takatsu, Y., Nishizawa, Y., Hibi, T., & Akutsu, K. (1999). Transgenic chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) expressing a rice chitinase gene shows enhanced resistance to gray mold (*Botrytis cinerea*). *Scientia Horticulturae*, 82, 13–123.

Takishita, Y., Smith, D. L., & Smith, D. L. (2021). Plant-associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Frontiers in Plant Science*, 12, 634796.

Terakawa, T., Takaya, N., Horiuchi, H., Koike, M., & Takagi, M. (1997). A fungal chitinase gene from *Rhizopus oligosporus* confers antifungal activity to transgenic tobacco. *Plant Cell Reports*, 16, 439–443.

Tian, B., Gao, J., & Li, J. (2016). Biological control of plant diseases: A review. *Journal of Plant Protection Research*, 56(2), 131–141.

Tiwari, R. K., Lal, M. K., Kumar, R., Mangal, V., Altaf, M. A., Sharma, S., et al. (2022). Aperçu de la réponse et de la signalisation médiées par la mélatonine dans la régulation de la défense des plantes sous stress biotique. *Plante Moléculaire Biologique*, 109, 385–399.

Torriani, S. F., Brunner, P. C., McDonald, B. A., & Sierotzki, H. (2009). resistance emerged independently at least four times in European populations of *Mycophaearella graminicola*. *Pest Management Science*, 65 (2), 155–162.

Tran, M. T., Ameye, M., Thi-Kim Phan, L., Devlieghere, F., De Saeger, S., Eeckhout, M., & Audenaert, K. (2021). Impact of ethnic pre-harvest practices on the occurrence of *Fusarium verticillioides* and fumonisin B1 in maize fields from Vietnam. *Food Control*, 120, 107567.

Ubalua, A. O. (2009). Transgenic plants: Successes and controversies. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 4 (6), 118–127.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moënne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*, 4, 356.

Vessey, J. (2003). Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255 (1), 571–586.

Waday, Y. A., Girma Aklilu, E., Bultum, M. S., Ramayya Ancha, V., & Beyene, D. (2022). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from coffee plantation soils and its influence on maize growth. *Applied and Environmental Soil Science*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5115875>

Wang, E., & Martinez-Romero, E. (2000). *Sesbania herbacea* *Rhizobium huautlense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea*-nodulating rhizobia in different environments. *Microbial Ecology*, 40, 25–32.

Wegulo, S. N., Zwingman, M. V., Breathnach, J. A., & Baenziger, P. S. (2015). Management of *Fusarium* head blight of wheat using fungicides. *Crop Protection*, 71, 100–107.

Wenli, S., & Shahrajabian, M. H. (2024). Survey on nitrogenase evolution by considering the importance of nitrogenase, its structure, and mechanism of nitrogenase. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 52 (1), 13157–13157.

Whipps, J. M., Sreenivasaprasad, S., Muthumeenakshi, S., Rogers, C. W., & Challen, M. P. (2003). Utilisation de *Coniothyrium minitans* comme agent de biocontrôle et certains aspects moléculaires du mycoparasitisme *sclerotia*. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 323–330.

Wuyts, N., De Waele, D., & Swennen, R. (2006). Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs Grande Naine and Yangambi) before and after infection with *Radopholus similis*. *Nematology*, 8(2), 201–209.

Xu, X. M., & Nicholson, P. (2009). Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 83–104.

Yaguchi, T., & Frisvad, J. C. (2014). Phylogeny, identification, and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141–173.

Yu, C., Liu, X., Zhang, X., Zhang, M., Gu, Y., Ali, Q., Mohamed, M., Xu, J., Shi, J., & Gao, X. (2021). Perspectives: Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives. *Journal of Agroecology*, 2(December), 1–763.

Zamioudis, C., & Pieterse, C. M. (2012). Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 25, 139–150.

Zeyad, M. T., Tiwari, P., Ansari, W. A., Kumar, S. C., Kumar, M., Chakdar, H., et al. (2022). Bio-priming with a consortium of *Streptomyces* strains modulates defense response in chickpea against fusarium wilt. *Frontiers in Microbiology*, 13, 998546.

Zhimo, V. Y., Bhutia, D. D., Saha, J., & Panja, B. (2014). Exploitation of yeasts as an alternative strategy to control post-harvest diseases of fruits: A review. *World Applied Science Journal*, 31 (4), 785–793.

Zhu, L., Huang, J., Lu, X., & Zhou, C. (2022). Development of plant systemic resistance by beneficial rhizobacteria: Recognition, initiation, elicitation, and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 952397.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1: Préparation des milieux de culture

Potato Dextrose Agar (PDA)

- **Composition**

Potato peptone	4 (1)g
Glucose	20g
Agar	15g

(1) Equivalent de 200 g d'infusion de pomme de terre

- **Préparation**

Le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) a été préparé selon les recommandations du fabricant en dissolvant 39g de poudre du milieu dans 600ml d'eau distillée puis bien homogénéiser et compléter le volume à 1000ml. La stérilisation s'est faite à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et le milieu a été supplémenté à l'ampicilline (250 mg pour 1000ml de milieu)

Nutrient Agar (NA)

- **Composition**

Peptone	5 g/l
NaCl	5g/l
Extrait de viande	1g/l
Extrait de levure.....	2, 5g/l
Agar	(15g)

- **Préparation**

Le milieu de culture Nutrient Agar (NA) a été préparé selon les recommandations du fabricant en dissolvant 5g de poudre de peptone, 5 g de NaCl, 1 g d'extrait de viande, 2,5g d'extrait de levure et 15gd'agar dans 600ml d'eau distillée puis bien homogénéiser et compléter le volume à 1000ml. La stérilisation s'est faite à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes.

Annexe 2: Pourcentages d'inhibitions des champignons *Fusarium verticillioides* *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* en confrontation avec les isolats bactériens obtenus : résultats du test de criblage

				Isolats bactériens									
Phytopathogènes	LG4	LG2	LG15	LG20	LG19	LG21	LR4	LR2	LR6	SW2	SZ15	SZ1	SZ12
<i>F.verticillioides</i>	0±0	0±0	67,53±3,673	59,74±1,83	62,10±0,91	57,79±2,75	63,63±3,67	58,44±3,67	55,19±0,91	63,63±3,67	59,09±2,75	62,33±9,18	64,28±4,6
<i>M.phasoelina</i>	0±0	0±0	62,10±4,60	62,33±5,50	57,80±0,91	61,04±3,67	62,33±1,84	62,10±0,91	0±0	63,63±3,67	67,53±9,18	71,42±3,67	59,74±5,0
<i>A.flavus</i>	60,40±2,80	70,12±1,83	60,40±2,80	62,33±1,83	53,24±3,67	70,77±4,59	75,32±1,83	64,93±5,50	59,74±1,83	70,77±0,91	56,50±0,92	74,02±0	72,72±1,3

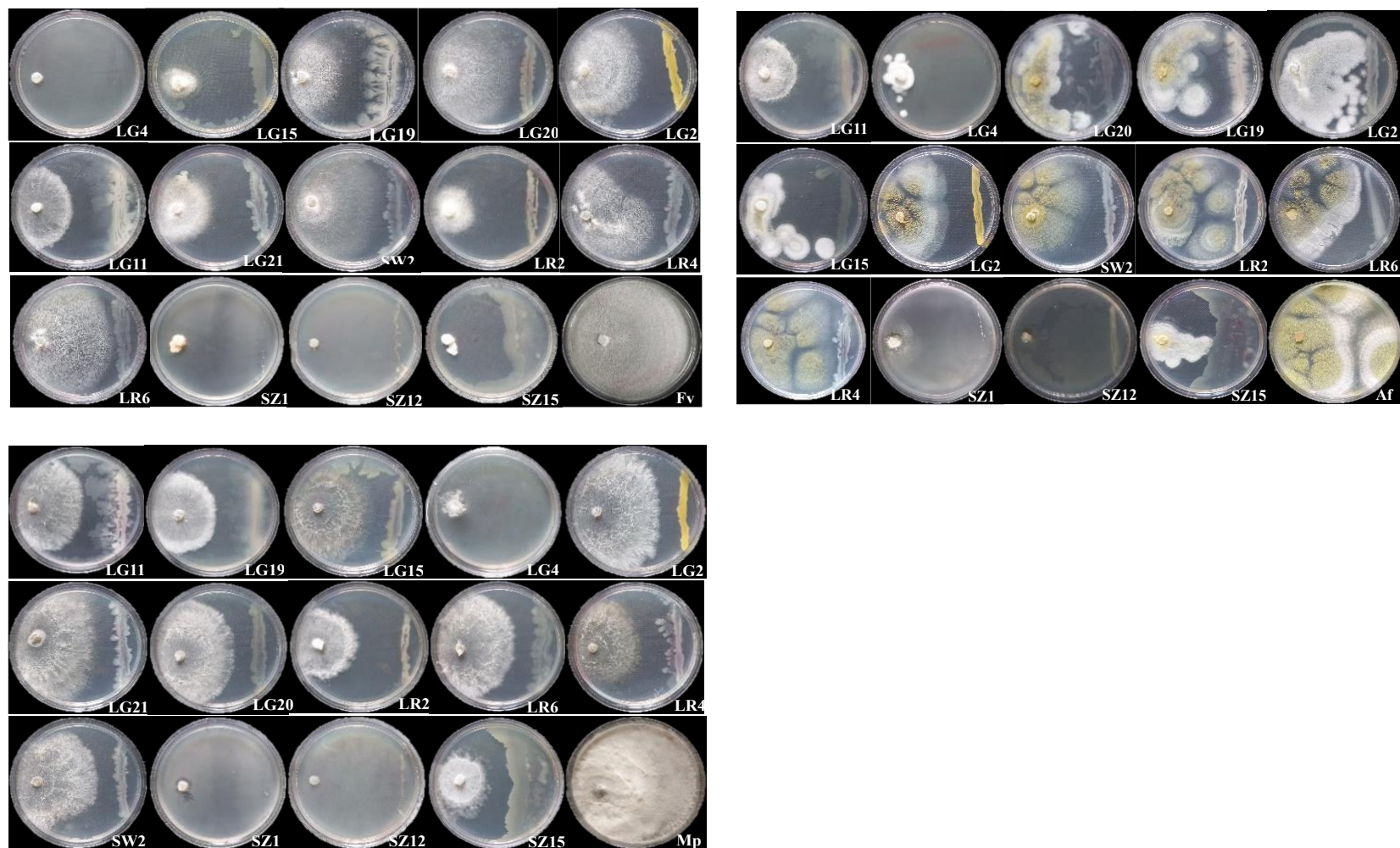
Isolats bactériens																					
Phytopathogènes	LG8	LG7	LG14	LG6	LG12	LG13	LG18	LG16	LG3	LG10	LG17	LR1	LR7	LR3	LR5	SW1	SW7	SW5	SW3	SW4	SZ9
<i>F.verticillioides</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>M.phasoelina</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>A.flavus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

	Isolats bactériens											
Phytopathogènes	SZ6	SZ3	SZ19	SZ16	SZ3	SZ10	SZ5	SZ8	SZ7	SZ11	SZ18	LG11
<i>F.verticillioides</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	56,50 ±0,91
<i>M.phasoelina</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
<i>A.flavus</i>	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	57,14±5,50

Annexe 3: Pourcentage d'inhibition des champignons phytopathogènes *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* en confrontation directe avec les 14 isolats sélectionnés lors du criblage.

Pourcentage d'inhibition														
Pathogènes	Souches antagonistes													
	LG11	LG4	LG2	LG15	LG20	LG19	LG21	LR4	LR2	LR6	SW2	SZ15	SZ1	SZ12
<i>Fusarium verticillioides</i>	61,97 ± 3,98	81,69±1,99	41,54±0,99	57,74±0	29,57±0	42,25±1,99	59,15±1,99	37,32±8,96	40,84±3,98	27,46±0	29,57±0	92,95±1,99	94,36±0	95,77±0
<i>Macrophomina phasoelina</i>	54,22±4,97	88,73±0	41,59±2,98	49,29±5,97	49,29±7,96	57,74±5,97	42,95±0,99	50,70±0	71,12±4,97	43,66± 3,98	41,54±0,99	83,80±2,98	95,77±0	95,77±0
<i>Aspergillus flavus</i>	62,67±2,98	86,61±0,99	46,47±1,99	63,38±1,99	67,60±1,99	47,88±5,97	29,57± 3,98	30,98±1,99	53,52± 3,98	28,16± 1,99	42,25± 1,99	54,22± 4,97	94,78± 0,19	95,77± 0

Annexe 4: Photographie des confrontations directe des 14 isolats bactériens sélectionnés contre *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* et *Aspergillus flavus* en boîte de pétri.



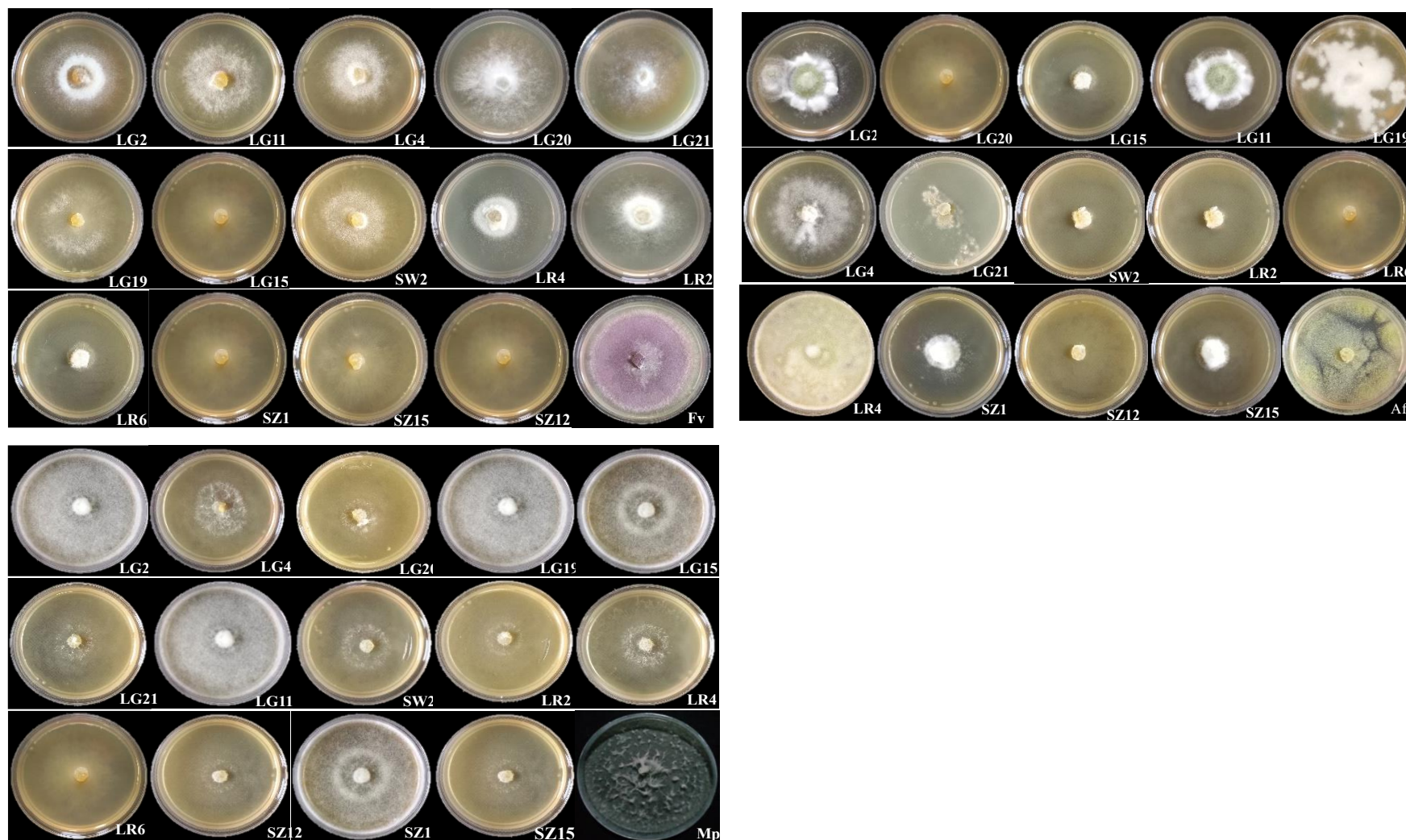
Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

Annexe 5: Pourcentage d'inhibition des champignons phytopathogènes *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* en confrontation indirecte avec les 14 isolats sélectionnés lors du criblage

Pourcentage d'inhibition														
Pathogènes	Souches antagonistes													
	LG11	LG4	LG2	LG15	LG20	LG19	LG21	LR4	LR2	LR6	SW2	SZ15	SZ1	SZ12
<i>Fusarium verticillioides</i>	40,99± 2	47,64±0,66	50±5,33	97,64±0,66	19,81±1,33	61,79±0,66	55,53±0,93	60,89±0,60	58,93±3,33	94,10±0,33	77,35±2,66	98,11±0	98,01±0,13	97,64±0,66
<i>Macrophomina phasoelina</i>	0±0	81,60±0,66	0±0	0±0	81,13±0	0±0	89,38±0,33	94, 33±0	78,77±0,66	98,11±0	96,36±0,066	98,11±0	0±0	98,11±0
<i>Aspergillus flavus</i>	54,71±1, 33	32,54±0,66	27,35±1,33	95,75±0	98,11±0	35,84±1,34	95,94±0,13	0±0	98,11±0	98,11±0	98,01±0,13	96,36±0,066	96,41±0,13	98,11±0

Annexe 6: Photographie des confrontations directe des 14 isolats bactériens sélectionnés contre *Fusarium verticillioides*, *Macrophomina phasoelina* et *Aspergillus flavus* en boîte de pétri.

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes



Annexe 7: Cinétique d'évolution du nombre de graines germées et du nombre de graines infectées

	NGG	NGI	NGG	NGI	NGG	NGI	NGG	NGI	NGG	NGI
Traitement	Jour2	Jour 2	Jour 4	Jour 4	Jour 6	Jour 6	Jour 8	Jour 8	Jour 10	Jour 10
CP	3±0	0±0	4,5±0,7	0±0	7±1,4	0±0	7,5±0,7	0±0	8,5±1,4	0±0
FV	3±0	0±0	3±0	6±1,4	3±0	7,5±0,7	3±0	8±0	1,5±0,1	8,5±0,7
SZ12+FV	2±0	0±0	3,5±0,7	1±0	3,5±0,7	2,5±0,7	4±1,4	4±0	4±1,4	4±0
SZ15+FV	3±0	0±0	3±0	5±1,4	3±0	7±0	3±0	6,5±0,7	3,5±0,7	6,5±0,7
SZ1+FV	5,5±0,7	0±0	6,5±0,7	2,5±0,7	6,5±0,7	3,5±0,7	6,5±0,7	3,5±0,7	6,5±0,7	4±0

Annexe 8: Résultats des paramètres d'incidence de la maladie, physiologiques et biochimiques

Paramètres	CP	FV	SZ1+Fv	SZ12+Fv	SZ15+Fv
Pourcentage de germination (%)	85 ± 7,07 ^a	17,5 ± 3,53 ^c	65 ± 7,07 ^a	40 ± 14,14 ^b	35 ± 7,07 ^{bc}
Indice de vigueur	1247,91 ± 105,47 ^a	142,44±46,05 ^d	869,37 ± 59,72 ^b	603,45 ± 228,46 ^{bc}	390,14 ± 79,93 ^{cd}
Pourcentage de protection (%)	100 ± 0 ^a	3,90 ± 2,40 ^e	66,5 ± 2,12 ^b	60 ± 0 ^c	39 ± 1,41 ^d
Chlorophylle a (mg/g MF)	1,28 ± 0,14 ^a	0,18 ± 0,026 ^c	0,39 ± 0,0010 ^b	0,18 ± 0,0062 ^c	0,13 ± 0,026 ^c
Chlorophylle b (mg/g MF)	0,12 ± 0,030 ^b	0,13 ± 0,026 ^b	0,15 ± 0,0025 ^b	0,15 ± 0,0025 ^b	0,16± 0,0341 ^b
Caroténoïdes (mg/g MF)	0,42 ± 0,060 ^a	0,10 ± 0,018 ^b	0,40 ± 0,013 ^a	0,18 ± 0,0036 ^b	0,109 ± 0,015 ^b
PAL (µmol/min/mg de MF)	36,03 ± 3,08 ^b	58,47 ± 2,99 ^a	39,53 ± 1,73 ^b	36,35 ± 2,90 ^b	28,80 ± 1,63 ^c
PPO (µmol/min/mg de MF)	35,11 ± 0,41 ^c	56,58 ± 0,90 ^a	45,55 ± 4,13 ^b	44,02 ± 1,80 ^b	42,90 ± 1,91 ^b
Proline (mg / g MS)	0,80 ± 0,05 ^c	1,13 ± 0,10 ^a	1,09 ± 0,004 ^{ab}	0,70 ± 0,09 ^c	0,97 ± 0,060 ^b

Potentiel antagoniste des rhizobactéries d'*Azadirachta indica* contre trois champignons phytopathogènes

H ₂ O ₂ (mmol/g FW)	0,05 ± 0,009 ^c	0,20 ± 0,013 ^a	0,20 ± 0,007 ^a	0,087 ± 0,0031 ^b	0,05 ± 0,0016 ^c
---	---------------------------	---------------------------	---------------------------	-----------------------------	----------------------------

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD et les valeurs dans chaque colonne portant les lettres différentes sont significativement différents selon le Least Significant Difference (LSD) au seuil de probabilité 5%

Annexe 9: Courbe standard de la proline

