

## BIOCONTRÔLE DESTRACHEOMYCOSES PAR LES PGPR : CAS DE LA FUSARIOSE DU POIS AVEC *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

YALA Ania<sup>1\*</sup>, CHOUIH Sofiane<sup>2</sup>, RISPAIL Nicolas<sup>3</sup> et BENCHABANE Messaoud<sup>1</sup>

1. Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saad Dahleb de Blida 1, B.P. 270, route de Soumaa, Blida, Algérie.
2. Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saad Dahleb de Blida 1, B.P. 270, route de Soumaa, Blida, Algérie.
3. Institut de l'agriculture durable CSIC, Cordoue- Espagne.

Reçu le 15/12/2018, Révisé le 29/12/2018, Accepté le 31/12/2018

### Résumé

**Description du sujet :** Suite aux problèmes écologiques et de santé suscités par les produits chimiques, la lutte biologique devient l'une des méthodes alternatives la plus prometteuse.

**Objectifs :** Notre travail consiste à montrer les potentialités antagonistes *in situ* et *in vitro* de deux souches rhizobactériennes de *Pseudomonas fluorescens* dans la bioprotection du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire.

**Méthodes :** L'effet antagoniste des rhizobactéries vis-à-vis de l'agent pathogène a été évalué en déterminant l'inhibition de la croissance mycélienne et de la germination conidienne (*in vitro*), la sévérité de la maladie et l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) (*in situ*).

**Résultats :** Les tests d'antagonisme *in vitro* ont révélé des activités inhibitrices des deux souches bactériennes allant de 2% à 57% en croissance mycélienne et de 6% à 97% en germination conidienne. Les essais d'application *in situ*, réalisés sous serre, ont mis en évidence des effets de biocontrôle importants induisant une régression de l'expression de la maladie de 19,29% à 86,82%.

**Conclusion :** L'évaluation de la progression de la maladie durant le temps d'expérimentation calculée (AUDPC) a été significativement réduite chez les traitements bactérisés, comparés aux témoins.

**Mot clés :** *Fusarium oxysporum* f.sp. *lisi*, *Pseudomonas fluorescens*, PGPR, *Pisum sativum*, Biocontrôle.

## TRACHEOMYCOSIS BIOCONTROL BY PGPR: CASE OF PEAFUSARIUM WITH *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

### Abstract

**Description of the subject:** As a result of ecological and health problems caused by chemicals, biological control is becoming one of the most promising alternative methods.

**Objectives:** Our work consists in showing the *in situ* and *in vitro* antagonistic potentialities of two rhizobacterial strains of *Pseudomonas fluorescens* in the bioprotection of peas against vascular fusariosis.

**Methods:** The antagonistic effect of the rhizobacteria on the pathogen was evaluated by determining the inhibition of mycelial growth and conidial germination (*in vitro*), the severity of the disease and the AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) (*in situ*).

**Results:** The *in vitro* antagonism tests revealed inhibitory activities of the two bacterial strains ranging from 2% to 57% in mycelial growth and from 6% to 97% in conidial germination. The *in situ* trials under greenhouse demonstrated significant biocontrol effects reducing of the disease's expression from 19.29% to 86.82%.

**Conclusion:** The evaluation of the disease's progression over the calculated experimental time (AUDPC) was significantly reduced in bacterialized treatments compared to controls.

**Key words:** *Fusarium oxysporum* f.sp. *lisi*, *Pseudomonas fluorescens*, PGPR, *Pisum sativum*, Biocontrol.

\* Auteur correspondant: YALA Ania, Email: yala.ania@gmail.com

## INTRODUCTION

Le pois (*Pisum sativum* L.) est considéré comme la deuxième légumineuse la plus cultivée dans le monde [1]. C'est une culture à grains qui a été largement cultivée comme source de protéines pour la nutrition animale et humaine depuis plusieurs siècles. Cette culture revêt une importance économique mondiale, toutefois, les rendements sont généralement réduits par des contraintes abiotiques et biotiques [2].

La fusariose vasculaire causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), représente l'un des principaux facteurs limitant l'augmentation et la stabilisation des rendements du pois, causant de graves pertes dans tous les pays où le pois est cultivé [3]. Les symptômes typiques de cette trachéomycose s'expriment par un flétrissement, un jaunissement des feuilles suivis par le dessèchement et/ou la mort de la plante [3, 4 et 5].

Depuis des décennies nous assistons, dans les pratiques agricoles, l'association systématique des intrants chimiques (fertilisants et pesticides). Il est ainsi admis que la protection des cultures contre les agents nuisibles et parasites, souvent à titre préventif, fait appel à un arsenal de spécialités chimiques qui demeure très diversifié. Certainement, les maladies d'origine fongique, en raison de leurs caractéristiques étiologique et épidémiologique, occupe les premiers rangs en imposant l'usage d'une grande variété de fongicides à tous les stades de culture, de la semence au stockage des produits récoltables. Une telle dépendance, même si c'est relativement efficace, il en est des conséquences désastreuses sur les équilibres écologiques et microbiens, en plus des dangers sur la santé du consommateur et les conséquences de la pollution chimique.

Face aux méfaits des pesticides chimiques, tant reconnus et prouvés, le monde tente de trouver d'autres alternatives où la lutte contre les maladies devrait se réaliser avec moins d'intrants chimiques, tout en encourageant les pratiques d'une agriculture durable et biologique. Dans ce contexte, les techniques de lutte biologique reçoivent de plus en plus d'intérêt et sont plus sollicitées.

Parmi les agents les plus exploités en lutte biologique vis-à-vis des fusarioses vasculaires, les rhizobactéries PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria),

ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle [6]. Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine. En effet, le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses et réciproques entre la plante et le milieu environnant [7].

Une grande diversité existe parmi les rhizobactéries, mais l'intérêt s'est surtout porté sur les espèces ayant la capacité d'assurer une protection biologique des plantes vis-à-vis d'autres microorganismes phytopathogènes tels que les *Pseudomonas* fluorescents.

L'objectif du présent travail est de mettre en évidence les potentialités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (F21 et BB10) vis-à-vis de deux souches de la race 2 de Fop (*Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) (Arg1 et Arg3), en interaction avec quatre géotypes de pois.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel biologique

Les expérimentations ont été réalisées *in vitro* par l'utilisation des souches bactériennes BB10 et F21 face à deux souches de Fop (Arg1 et Arg3), et *in situ* les tests ont été réalisés en interaction avec les géotypes de pois (G1, G2, G3 et G4) sous serre en verre dans des conditions semis-contrôlées (Tableau 1).

### 2. Antagonisme *in vitro*

#### 2.1. Inhibition de la croissance mycélienne

Le test de l'activité inhibitrice a été réalisé sur trois milieux gélosés : (i) Milieu KB, favorable au développement des bactéries, (ii) Milieu PDA, favorable au développement du champignon, (iii) Milieu mixte (1/2 KB + 1/2 PDA).

L'évaluation de l'action inhibitrice a été testée selon la méthode des spots [8], qui consiste à mettre en périphérie des disques de papier Wathman stérile (0,5 cm de diamètre), imprégnés d'une suspension bactérienne de 24 h ( $10^6$  CFU/ml). Au centre de la boîte nous déposons un disque mycélien de 0,5 cm de diamètre d'une culture fongique de 7 jours.

Le taux d'inhibition est calculé après 7 jours d'incubation à 25°C, relativement à la croissance mycélienne maximale enregistrée chez les témoins représentés uniquement avec les cultures cryptogamiques pures.

Tableau 1: Matériel biologique utilisé

Matériel végétal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Génotype1 (G1) (résistant)</li> <li>• Génotype2 (G2) (moyennement résistant)</li> <li>• Génotype3 (G3) (sensible)</li> <li>• Génotype4 (G4) (sensible)</li> </ul>	IAS-CSIC, Cordoba, Spain  ITGC (Algérie)
Souches bactériennes de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BB10</li> <li>• F21</li> </ul>	Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Algérie
Souches fongiques phytopathogène de Fop	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arg1 (Race 2)</li> <li>• Arg3 (Race 2)</li> </ul>	Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Algérie

## 2.2. Inhibition de la germination conidienne

Les essais ont été effectués dans les trois milieux de culture à l'état liquide (KB, PD et mixte), avec les deux isolats de *Fop* (*Fop* Arg1, *Fop*Arg3).

L'évaluation des activités inhibitrices de la germination conidienne a été menée selon une méthode qui consiste à mettre 1ml de la suspension bactérienne antagoniste ( $10^6$  CFU/ml), 24 h avant l'introduction d'un volume identique de la suspension conidienne ( $5 \times 10^6$  conidies/ml). Les témoins sont préparés dans les mêmes conditions, mais sans les souches bactériennes [9].

Pour évaluer l'inhibition de la germination conidienne, nous avons calculé le rapport entre la germination des conidies de *Fop* ayant été confrontées aux souches bactériennes et la germination moyenne des témoins incubée sans bactéries.

## 3. Antagonisme in situ

Au stade végétal de deux à trois nœuds, la bactérisation des plantes a été pratiquée avec l'une des deux suspensions bactériennes BB10 ou F21 ( $10^6$  CFU/ml), suivie 24h après par l'inoculation fongique avec l'une des deux suspensions de *Fop* ( $5 \times 10^6$  conidies/ml). Donc les interactions étudiées sont les suivantes : (FopArg1-BB10, FopArg1-F21, FopArg3-BB10 et FopArg3-F21). L'inoculation fongique s'est effectuée selon la méthode d'immersion racinaire dite « trimmed root dipping » [10].

Les témoins sains (T-) sont inoculés uniquement avec de l'eau distillée stérile. Les témoins positifs (T+) sont inoculés avec chacune des suspensions fongiques selon les interactions. Les plantules sont laissées en observation sous serre en verre pendant 30 jours, dans des pots de 20g contenant de la perlite stérile.

## 3.1. Paramètres étudiés

Plusieurs travaux portant sur l'étude de la fusariose vasculaire du pois considère la sévérité de la maladie et l'AUDPC en tant que paramètres distinctifs [11, 12, 13]. Pour le suivi de la maladie, nous avons calculé la sévérité et l'AUDPC selon cinq niveaux symptomatiques typiques de la fusariose (1- sain ; 2- début de jaunissement ; 3- jaunissement total ; 4- début de flétrissement ; 5- flétrissement total) [5] (Fig. 1).



Figure 1 : Echelle de suivi du développement de la maladie [5].

### 3.1.1. Sévérité de la maladie

$$S \% = [(1 \times f_1) + (2 \times f_2) + (3 \times f_3) + (4 \times f_4) + (5 \times f_5)] / f$$

S (%) : Taux de sévérité de la maladie,  $f_i$  : Nombre de feuille de chaque niveau symptomatique.

### 3.1.2. AUDPC

L'AUDPC permettra d'évaluer la progression de la maladie durant la période d'expérimentation, c'est à dire le temps de suivi et de déroulement de l'expérimentation.

$$AUDPC = \sum [(x_i + x_{i+1})/2] * (t_{i+1} - t)$$

Avec :  $x_i$  : Sévérité de la maladie au temps  $i$ ,  $x_{i+1}$  : Sévérité de la maladie au temps  $i+1$ ,  $t_{i+1} - t$  : Nombre de jours entre  $i$  et  $i+1$ .

## 4. Analyses statistiques

L'analyse des résultats a été basée sur l'analyse de la variance (ANOVA) entre les traitements expérimentés.

Dans le cas de différences significatives, la comparaison est établie selon le test de Newman-Keuls au seuil du risque d'erreur de 5%, pour déterminer leurs amplitudes significatives [14].

## RÉSULTATS

### 1. Antagonisme *in vitro*

La croissance mycélienne et la germination conidienne, lors de l'interaction avec les deux bactéries antagonistes sur les trois milieux étudiés, sont inférieures aux valeurs enregistrées chez les témoins (Fop Arg1, Fop Arg3) (Fig. 2). Concernant l'inhibition de la germination conidienne, il apparaît que les deux souches ont montré des niveaux rapprochés,

néanmoins dans certains cas la souche F21 a montré plus d'action antagoniste que la souche BB10 (Fig. 2).

### 2. Antagonisme *in situ*

Chez la plupart des génotypes étudiés l'expression de la protection bactérienne est très apparente. D'après les résultats, nous constatons que la bactérisation des génotypes de pois avec les deux souches bactériennes (F21 et BB10) en interaction avec Fop (Arg1 et Arg3), a permis de réduire l'évolution de la maladie en comparaison avec les témoins (Arg1 et Arg3). Les valeurs de l'AUDPC les plus faibles sont enregistrées chez les génotypes G1 et G2. Les valeurs les plus élevées sont observées chez G3 G4 (Fig.3).

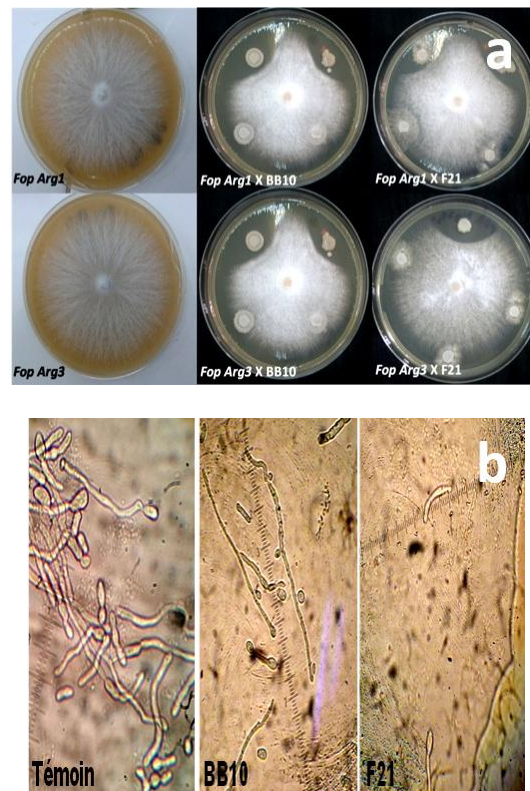


Figure 2 : Activités antagonistes des deux souches de *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 vis-à-vis des deux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*. **a)** Exemples des activités antagonistes des deux souches de *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 vis-à-vis des deux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* (Fop) sur milieu PDA. **b)** Inhibition de la germination conidienne de Fop Arg1 par les deux souches antagonistes (Pf BB10 et Pf F21).

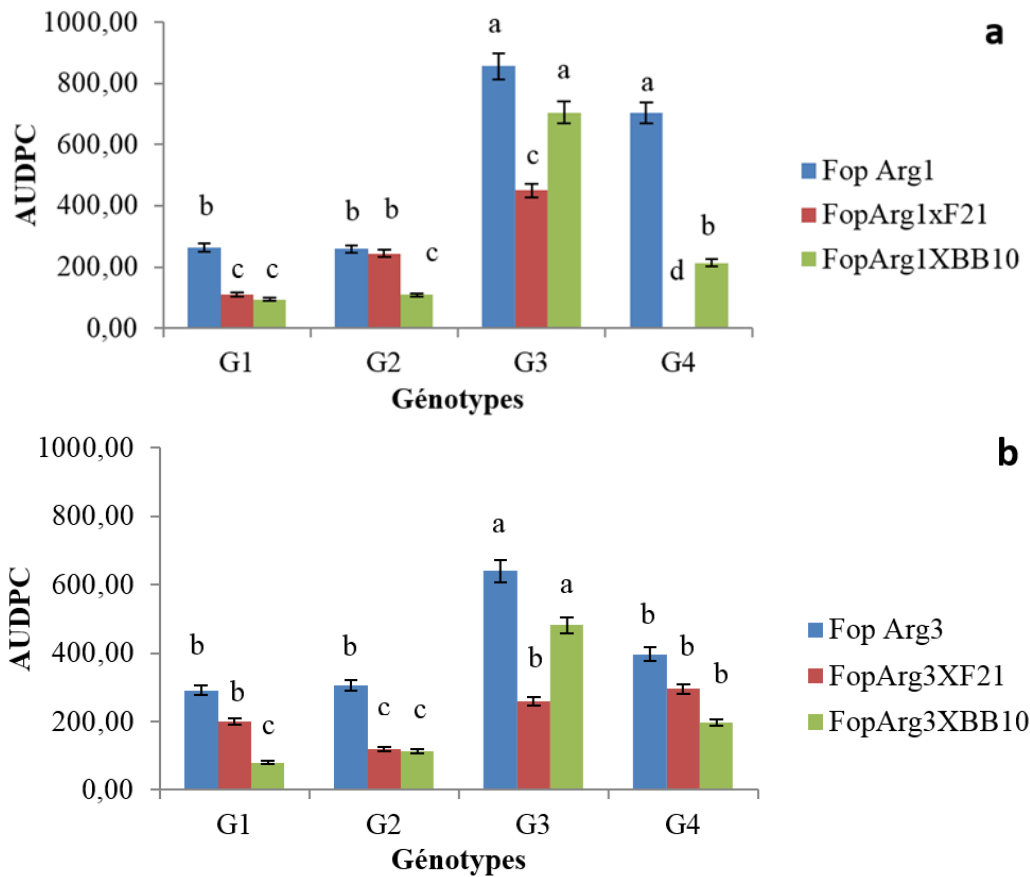


Figure 3 : AUDPC des quatre géotypes étudiés

a : Fop Arg1, Fop Arg1 - F21, Fop Arg1 - BB10, b: Fop Arg3, Fop Arg3 - F21, Fop Arg3 - BB10

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $\alpha \leq 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c, et d).

## DISCUSSION

Les résultats obtenus à partir des tests d'inhibition de la croissance mycélienne et de la germination conidienne des deux souches de *Fop* (Fop Arg1 et Fop Arg3), ont montré que *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 inhibent considérablement les agents fongiques. Nous pouvons attribuer l'activité antagoniste exercée par les deux souches bactériennes, à la synthèse des métabolites secondaires particuliers [15, 16]. Il est à noter que les souches bactériennes BB10 et F21 sont connues par la synthèse de divers métabolites à effet antagonistes et même antibiotiques [17, 18].

Le pouvoir antagoniste observé chez les *Pseudomonas* est attribué en partie aux sidérophores produits par ces bactéries [19]. Toutefois, d'après nos résultats sur le milieu PDA, qui ne favorisent pas la production du pigment fluorescent, ces souches bactériennes exhibent des activités antagonistes importantes.

Ceci peut s'expliquer par l'implication d'autres mécanismes d'action, en montrant que la fluorescence, signe de synthèse de sidérophores, n'est pas subordonnée obligatoirement à l'activité antagoniste. Des constatations similaires ont été révélées dans plusieurs travaux avec des essais en milieu non carencés en fer [17, 20, 21, 22, 23].

Les résultats obtenus dans le test de biocontrôle *in situ*, concordent avec ceux déjà obtenus dans des travaux antérieurs [18, 21, 22]. Ces essais montrent l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. fluorescents en tant qu'agent de biocontrôle contre les pathogènes telluriques [17, 19, 24]. L'action des bactéries est plus apparente chez les géotypes sensibles que chez les géotypes résistants ou moyennement résistants, les mécanismes d'action qui reflètent l'activité de bioprotection s'expriment surtout en conditions défavorables (chez les géotypes sensibles). Ces mêmes géotypes, en l'absence des bactéries, ont exprimé des niveaux de résistance naturelle à cette maladie [25].

En comparant les résultats de l'AUDPC, nous constatons que les génotypes ayant les valeurs les plus élevés sont G3 et G4, considérés comme les génotypes les plus sensibles. Les génotypes à valeurs d'AUDPC les plus faibles sont G1 et G2 qui représentent les plus résistants.

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été étudiés comme agents potentiels de lutte biologique contre la fusariose du pois. Ces bactéries doivent avant tout coloniser la rhizosphère concernée. Cette colonisation implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption des microorganismes sur les racines, et enfin une compétition pour les substrats nutritifs présents. Cette seule colonisation peut entraîner une occupation de sites suffisante pour empêcher la croissance d'autres microorganismes, dont le pathogène responsable de la fusariose du pois [26].

## CONCLUSION

Le biocontrôle a permis de réduire la sévérité de la maladie, avec une conséquence positive directe sur la diminution des valeurs de l'AUDPC enregistrées dans les traitements bactérisés. En effet, les essais *in vitro*, ont montré un effet antagoniste notable sur la croissance mycélienne et la germination conidienne du pathogène. L'application *in situ* confirme davantage les actions antagonistes des deux souches de *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 vis-à-vis de l'agent fusarien Fop en interaction avec les quatre génotypes de pois. Par ces résultats, nous constatons un rôle protecteur des deux souches bactériennes antagonistes envers les plantes de pois vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*. Les pressions sociales en vue de diminuer l'utilisation des pesticides en agriculture accentuent la demande pour des produits biologiques aptes à réduire l'action des agents phytopathogènes. Il devient donc important de développer les différentes méthodes de lutte biologique par l'utilisation d'organismes antagonistes, afin de réduire les effets des phytopathogènes et de favoriser la croissance et la santé des plantes. L'utilisation des PGPR, permet de réduire l'effet des agents phytopathogènes, et permet ainsi de diminuer l'utilisation des pesticides, ce qui devrait encourager les efforts des recherches dans ce domaine.

Afin de mieux maîtriser la complexité de ces interactions, il faut développer des études permettant, d'une part, de mesurer, dans un même système plante/micro-organismes, l'importance de chacun des mécanismes d'action des *Pseudomonas*, d'autre part, analyser le comportement d'une souche donnée dans différentes rhizosphères. Ces travaux permettront de relier l'ensemble des mécanismes (colonisation, antibiose, métabolites) dont l'intégration pourrait améliorer l'efficacité des agents de lutte biologique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Agrios G.N. (1988).** "Plant Pathology", 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York, 803p.
- [2]. **Bani M. Rubiales D. and Rispaïl N. (2012).** "A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection". *Plant Pathology*, 61: 532 - 542.
- [3]. **Becker J.O. and Cook R.J. (1988).** "Role of siderophores in suppression of *Pithium* species and production of increased-growth response of wheat by *Pseudomonas* spp. fluorescent". *Phytopathology*, 78 : 82-778.
- [4]. **Benchabane M. (2005).** "Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. Fluorescents", Thèse de Doctorat d'Etat, FSB-UTHB, Alger, 235p.
- [5]. **Puga C.H., Dahdouh E., San Jose C. and Orgaz B. (2018).** *Listeria monocytogenes* Colonizes *Pseudomonas fluorescens* Biofilms and Induces Matrix Over-Production. *Front Microbiol.* 9: 1706.
- [6]. **Chet I. (1987).** "Trichoderma - application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi", in: Innovative Approaches to Plant Disease Control, Chet I., (ed.), Wiley J. & Sons: New York, 137-160.
- [7]. **Curll E.A. (1982).** "The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease". *Plant Disease*, 66: 624-630.
- [8]. **Dagnelie P. (1975).** "Principes d'expérimentation : planification des expériences et analyse de leurs résultats". Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 413 p.
- [9]. **Digat B. (1983).** "Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes", in: les antagonismes microbiens, Modes d'action et applications à la lutte biologique contre les maladies des plantes, 24<sup>ème</sup> Coll. Soc. Fr. Phytopathol. Bordeaux, 360p

- [10]. Fuchs J.G., Moenne-Loccoz Y. and Défago G. (1997). "Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO47 induces resistances to fusarium wilt in tomato". *Plant Disease*, 81:492-496.
- [11]. Haas D., Keel C., Laville J., Maurhofer M., Oberhansli T., Schnider U., Voisard C., Wuthrich B. and Defago G. (1991). "Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in the suppression of root diseases", in: Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interaction, Vol. I. H. Hennecke and D.P.S. Verma eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 450-456
- [12]. Haglund W.A. (1989). "A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*". *Plant Disease*, 73 (6), 457 – 458.
- [13]. Kahlon J.G., Jacobsen H.J., Chatterton S., Hassan F., Bowness R. and Hall L.M. (2018). Lack of efficacy of transgenic pea (*Pisum sativum* L.) stably expressing antifungal genes against *Fusarium* spp. in three years of confined field trials. *J. GM Crops & Food*, 9(2):90-108
- [14]. Lebeda A., Svabova L. and Dostalova R. (2010). Screening of peas for resistance to *Fusarium* wilt and root rot (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*) In: Mass Screening Techniques for selecting Crops Resistant to Diseases. FAO/IAEA, Vienna, pp. 189-196.
- [15]. Lemanceau P. (1992). "Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: exemples des *Pseudomonas fluorescens* ». *Agronomie*, 12 : 413-437.
- [16]. Mekhaldi D. (2016). "Etude du pathosystème *Pisum sativum*- *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ", Thèse de Magister. Univ. Blida 1, 109p.
- [17]. Merzoug A., Belabid L., Benkada M.Y., Benfreha F. and Bayaa B. (2014), "Pea *Fusarium* Wilt Races in Western Algeria". *Plant Protect Sci.*, 50(2): 70–77.
- [18]. Neumann S. and Xue A.G. (2003). "Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*". *Canadian Journal of Plant Science*, 83: 377-379.
- [19]. Xiang N., Lawrence K.S. and Donald P.A. (2018). Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. *Journal of Phytopathology*, 166:449–458
- [20]. Ouserir, S., (2009). "Etude des effets de la co-inoculation des rhizobactéries *Pseudomonas* spp. fluorescents et *rhizobiums* pp. Sur la phytostimulation et la nodulation chez la fève", Thèse de Magister, Univ. Blida 1, 138p.
- [21]. Pavlova A.S., Leontieva M.R., Smirnova T.A., Kolomeitseva G.L., Netrusov A.I. and Tsavkelova E.A. (2017). Colonization strategy of the endophytic plant growth-promoting strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Klebsiella oxytoca* on the seeds, seedlings and roots of the epiphytic orchid, *Dendrobium nobile* Lindl. *J. Appl. Microbiol.*, 123(1): 217-232
- [22]. Rubiales D., Ambrose M.J., Domoney C. and Burstin J. (2012). Pea (*Pisum sativum* L.). In: Perez de la Vega, M., Cubero, J.L., Torres, A.M., *Genetics, genomics and breeding of cool season grain legumes*. CRC Press, Boca Raton, Science Publishers, Enfiled. 1-49.
- [23]. Pournalibaba H.R., Rubiales D. and Fondevilla S. (2015). Identification of resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in Spanish lentil germplasm. *European Journal of Plant Pathology*, 143:399–405
- [24]. Toua D., Benchabane M., Bensaid F. and Bakour R. (2013). "Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax". *African Journal Microbiology Research*, 7(48):5449-5458,
- [25]. Weller D.M. and Thomashow L.S., (1993). "Microbial metabolites with biological activity against plant pathogens", in: Pest Management: Biologically Based Technologies, Lumsden, R.D., et Vaughn, J.L. eds., American Chemical Society, Washington DC, 173-180.
- [26]. Yala A. (2016). «Essai de biocontrol de la fusariose vasculaire du petit pois». Mémoire Magister. Univ. Blida 1, 122p.