



MODÉLISATION DE L'EXTENSION LINÉAIRE DE *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. (*MONILIACEAE*) DANS LE SOL EN FONCTION DES EXSUDATS RACINAIRES DE L'AUBERGINE

DEGAÏCHIA Hoceme^{1,2*}, BOUCHENAK Fatima¹, BENRIMA Atika¹ et ARMENGOL FORTI Josep².

1. Université de Blida1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Biotechnologies, Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, B.P. 270, route de Soumaa, Blida, Algérie

2. Université Polytechnique de Valence, Institut Agroforestier Méditerranée, Groupe de Recherche en Champignons Phytopathogènes, Valence, Espagne.

Reçu le 28/05/2019, Révisé le 19/06/2019, Accepté le 29/06/2019

Résumé

Description du sujet : Ce travail s'intéresse aux rôles que jouent les exsudats racinaires de l'aubergine sur la l'extension linéaire et la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb.

Objectifs : La modélisation statistique de la vitesse de déplacement de ce pathogène en conditions expérimentales. La qualité de ces exsudats est éperonnée par les sucres solubles totaux et les acides aminés.

Méthodes : Les exsudats racinaires de l'aubergine sont extrait à deux stades par la méthode de Minh *et al.* (2004). Le dosage des sucres solubles totaux a été réalisé par la méthode de Dubois *et al.* (1956) ; celui des acides aminées par la méthode de Naidu (1998). Le tube d'Evans a été aussi utilisé pour notre travail, et la modélisation statistique c'est effectuée avec le logiciel SPSS © 20.0.0

Résultats : La vitesse de *Verticillium dahliae* Kleb. en présence d'exsudat racinaires au stade «fleurs épanouies» est nettement supérieure comparée à celle du stade «1^{er} bouton floral» et au substrat témoin. Il existe une différence statistiquement significative ; le test de Tukey place ces trois facteurs en trois groupes distincts. La teneur en sucres solubles totaux et acides aminés des exsudats racinaires au stade « 1^{er} bouton floral » est inférieur à celle du Stade «fleurs épanouies»

Conclusion : Il existe une étroite corrélation proportionnelle entre les teneurs en sucres, en acides aminés et la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. De ce fait trois modèles statistiques ont pu être générés afin de modéliser la vitesse de ce champignon dans les conditions de l'expérimentation

Mots clés: Modélisation ; Dynamique ; *Verticillium dahliae* Kleb.; Aubergine ; Exsudats racinaires

MODELING OF THE LINEAR EXTENSION OF *Verticillium dahliae* Kleb. (*Moniliaceae*) IN SOIL BASED ON EGGPLANT ROOT EXUDATES

Abstract

Description of the subject: This work investigates the roles of root exudates of eggplant on the linear extension and rate of dynamic of *Verticillium dahlia* Kleb.

Objective: The statistical modeling of the speed of displacement of this pathogen in experimental conditions. The quality of these exudates is spurred by total soluble sugars and amino acids.

Methods: The root exudates of eggplant are extracted at two phenological stages by the method of Minh *et al.* (2004). The determination of total soluble sugars was carried out by the method of Dubois *et al.* (1956); that of amino acids by the method of Naidu (1998). The Evans tube was used, and the statistical modeling of the velocity of the *Verticillium dahliae* Kleb. movement is done with the SPSS © 20.0.0 software.

Results: The velocity of *Verticillium dahliae* Kleb. in the substrate plus root exudates of eggplant in stage "Open flowers" is significantly higher compared to that of stage "1st flower bud" and the control substrate. The analysis of the variance indicates that there is a statistically significant difference ; the Tukey test places these three factors into three distinct homogeneous groups. The total soluble sugar and amino acid content in root exudates in stage "1st flower bud" is lower than that those of stage "Opens flowers"

Conclusion: The statistical analysis confirms the close correlation between the sugar content, the amino acid content and the speed of *Verticillium dahliae* Kleb. displacement. As a result, three statistical models are generated to model the velocity of this fungus in experimental conditions.

Keywords: Modeling; Dynamic; *Verticillium dahliae* Kleb.; Eggplant; Root exudates

* Auteur correspondant: DEGAÏCHIA Hoceme, E-mail : deho1@doctor.upv.es

INTRODUCTION

La verticilliose, causée par *Verticillium dahliae* Kleb. est l'une des maladies vasculaires les plus importantes rapportée sur des plantes appartenant à 45 familles botaniques [1]. En Algérie, la verticilliose est considérée comme un sérieux problème de l'olivier, néanmoins mal connu pour les cultures maraîchères [2].

Cet agent pathogène survit dans le sol sous forme de microsclérotés fortement persistants. Ces microsclérotés restent inactifs jusqu'à ce que les exsudats racinaires d'une plante hôte induisent leur germination, [3]. Les exsudats racinaires, composés de molécules de plus petite taille comme des sucres simples, des acides aminés, des acides organiques, des enzymes, des phénols, des stérols ou encore des vitamines, favorisent également le déplacement de ce champignon tellurique [4].

La quantité et la qualité des exsudats racinaires dépendent de l'espèce, du cultivar, du stade de développement de la plante et des facteurs environnementaux. Ces derniers favorisent la stimulation de la flore pathogène tellurique [5]. C'est dans ce contexte que notre travail vise à comprendre la dynamique de *Verticillium dahliae* Kleb. dans un substrat inoculé artificiellement en fonction de la composition chimique des exsudats racinaires et du stade phénologique de l'aubergine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel fongique

Verticillium dahliae Kleb. a été isolé à partir d'une culture d'aubergine présentant des symptômes de flétrissement et de brunissement vasculaire au niveau du collet, caractéristiques de la verticilliose. L'identification est faite sur la base des structures morphologiques et microscopiques du champignon retrouvé sur le milieu de culture, et la clé de détermination de Rieuf [6]. La souche a été conservée à 25°C à l'obscurité sur milieu de culture PDAS (200g. L⁻¹ Pomme de terre ; 20g. L⁻¹ Dextrose ; 0,5 g.L⁻¹ Streptomycine ; 18 g. L⁻¹ Agar ; pH 6,8)

2. Matériel végétal

2.1. Préparation des plants

Les graines de la variété d'aubergine blanche (*Solanum ovigerum*) ont été obtenues auprès de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) de Staoueli (Alger). Après la germination des graines dans les alvéoles ; les plantules sont

transplantées dans des pots contenant un mélange de tourbe et de sol (v:v). Les pots sont mis dans une serre en polyéthylène à une température de 27°C (±2°C). Suivant la capacité de rétention du substrat qui a été mesurée par un Thermo-contrôle, l'arrosage s'est effectué à un intervalle de 48h.

2.2. Extraction des exsudats racinaires

Pour déterminer le stade de prélèvement optimal pour les exsudats racinaires chez l'aubergine nous avons eu recours aux travaux d'Etang [7]. Nous avons choisie deux stades : Stade A (1^{er} bouton floral) deux mois écoulés après transplantation et Stade B (fleurs épanouies) auquel correspond la fourniture la plus abondante des exsudats racinaires et une bonne croissance de la plante.

La perméabilisation des racines consiste à les plonger dans un erlenmeyer stérile de 250ml contenant 200 ml d'eau distillée stérile. Les erlenmeyers sont mis dans une chambre de culture à l'obscurité à 25°C sous agitation (120rpm). Après 24h, le contenu de chaque flacon est récupéré. La suspension est ensuite stérilisée à froid [8].

2.3. Mesure de la teneur en sucres solubles totaux

Le dosage des sucres totaux solubles (SST) a été réalisé par la méthode spectrophotométrique décrite par Dubois *et al.* [9]. La densité optique est mesurée à 490 nm. Un étalon a été construit grâce à une gamme (0 à 20 µg/ml) de concentration d'une solution de glucose. Les résultats des densités optiques ont été rapportés sur la courbe étalon des sucres solubles exprimée µg/g Matière Fraîche.

2.4. Mesure de la teneur en acides aminés

Les racines ont été conservés en deçà de -15°C avant analyse. L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Naidu [10]. L'absorbance des échantillons a été déterminée à 570nm. Une courbe étalon de référence a été réalisé à partir d'une solution mère de Leucine pour des valeurs comprises entre 0 et 200 µmoles. Les résultats ont été exprimés en µmoles d'équivalents Leucine/g Matière Fraîche.

3. Installation de l'essai

L'essai est conduit dans le tube d'Evans qui est un tube de 42,5 cm de long, portant 04 orifices. Entre le premier orifice de prélèvement et l'orifice d'inoculation on trouve la distance de 5 cm et entre les orifices de prélèvement 11,5 cm. (Fig. 1).

À chaque stade de prélèvement, les plants d'aubergines sont déposés et leur substrat est introduit dans le tube puis stérilisé [11].

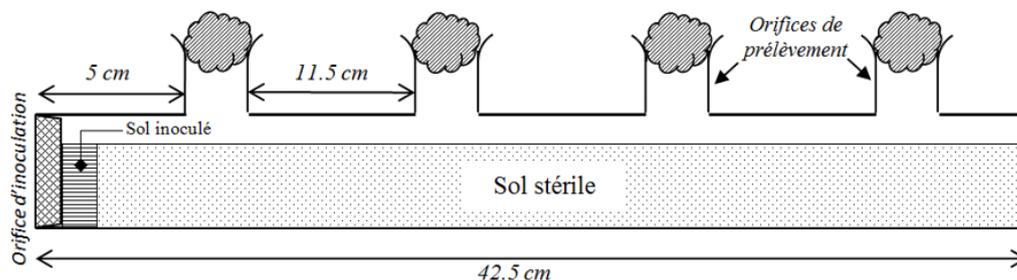


Figure 1 : Présentation du tube d'Evans pour l'étude de l'extension linéaire de *Verticillium dahliae* Kleb [11]

3.1. Préparation de l'inoculum fongique

La suspension mono-sporale de *Verticillium dahliae* Kleb. est obtenue à partir d'une culture âgée de 15 jours sur milieu PDA. La concentration en spores de la suspension est déterminée à l'aide d'une cellule de Malassez. Une dilution au $10^{\text{ème}}$ est nécessaire pour un comptage correct. La suspension est ajustée à 10^6 spores/ml avec de l'eau distillée stérile [12].

3.2. Inoculation du tube d'Evans

En conditions axéniques, 5 ml de la solution d'exsudat racinaire stérile est introduite par les orifices de prélèvement. Le tube est incubé 24h à l'étuve à 27°C avant d'inoculer *Verticillium dahliae* Kleb. Après incubation, 5 ml de la suspension fongique (10^6 spores/ml) sont inoculés par l'orifice d'inoculation. Le tube est ainsi incubé à 27°C durant 7 jours [11].

4. Prélèvement des échantillons du substrat

Après incubation et en conditions stériles, le 1^{er} orifice de prélèvement est ouvert et 1 g du substrat est prélevé avec un emporte-pièce stérile. L'échantillon est mis dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile. On procède pareillement pour le 2^{ème}, 3^{ème} et le 4^{ème} orifice de prélèvement.

Prélever 1 ml de la dilution 10^{-1} (solution mère) la mettre dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDAS. Les boîtes sont incubées à 27°C durant 7 jours. L'identification du *Verticillium dahliae* Kleb. isolé à partir du substrat inoculé est effectuée on se basant sur les caractères morphologiques microscopiques des hyphes (cloisonnement,

coloration), des formes reproductrices (formes et couleurs des spores) et la présence des micro-sclérotés [6].

5. Évaluation de la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* Kleb.

La vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. en fonctions de la qualité des exsudats racinaires est exprimée par la formule suivante : $V(\text{cm/h}) = \text{Distance (cm)} / \text{Temps (h)}$. Cette étape vise à faire des prélèvements chaque 24h pour saisir la présence de champignon et de calculer le temps de son déplacement dans tous les orifices en fonction du stade de prélèvement des exsudats racinaires de l'aubergine.

6. Exploitation statistique des données

L'analyse statistique des résultats obtenus a été réalisée par le logiciel SPSS© version 20.0.0 pour Windows™. Les expériences ont été répétées cinq fois et les résultats montrent les mêmes tendances. Un test de *t* de Student au seuil 5% pour comparer les différences entre les teneurs en sucres solubles totaux et en acides aminés aux deux stades A et B. Une analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% est réalisée pour déterminer l'existence de différences statistiquement significatives entre la vitesse du *Verticillium dahliae* Kleb. dans le sol avec les exsudats du stade A et B. Les groupes homogènes sont obtenus grâce au test post-hoc de Tukey. Un test de Corrélation (la corrélation de Pearson au seuil 1%) : pour scorer l'association entre la vitesse, la teneur en Sucres Solubles Totaux et en Acides aminés.

Un test de Régression Linéaire simple a été réalisée dans le but est de Modéliser la vitesse de déplacement du champignon dans les conditions de l'expérimentation.

RÉSULTATS

1. Teneur en sucres solubles totaux et en acides aminés des racines de l'aubergine

L'expérimentation révéla que les teneurs en sucres solubles totaux et en acides aminés sont nettement plus élevées au stade fleurs épanouies (Stade B). En effet la teneur en acides aminés au stade A est de l'ordre de 151,44 $\mu\text{mol d'eq.}$

Leucine / g MF. Cette teneur est doublée au stade B (322,46 $\mu\text{mol d'eq.}$ Leucine / g MF). Les teneurs en sucres solubles totaux sont faibles au stade A (7,36 $\mu\text{g/g MF}$) par rapport au Stade B (45,25 $\mu\text{g/g MF}$) (Fig. 2).

Le test t de Student révèle qu'il existe une différence statistiquement significative entre les teneurs en sucres solubles totaux ($p=0,0003$) et en acides aminés ($p=0,01$) pour deux stades. La corrélation de Pearson indique qu'il existe une corrélation ($p=0,003$) proportionnelle de très forte intensité ($r=+0,949$) entre la teneur en sucres solubles totaux et en acides aminés on dépit des stades phénologiques.

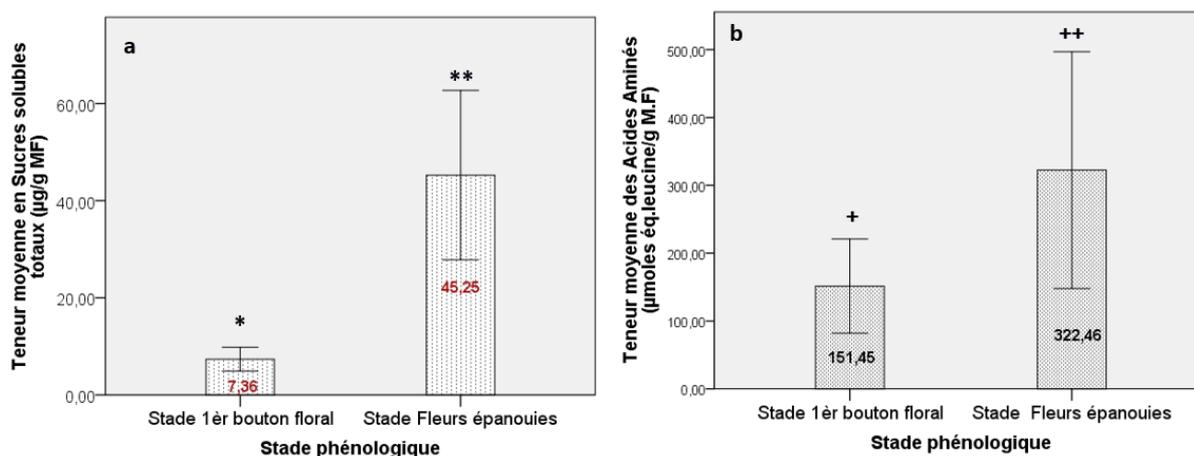


Figure 2 : Teneur des racines de l'aubergine en Sucres solubles totaux (a) et en acides aminés (b) aux deux stades phénologiques

2. Vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. in vitro

Après 24h de l'incubation du tube d'Evans avec *Verticillium dahliae* Kleb., on note que la distance parcourue de ce dernier est de 5 cm chez le témoin et atteint la distance de 29,5 cm après 120 h. La distance augmente avec le temps de manières différentes selon les stades dont les exsudats ont été extraits. En effet, la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* Kleb. diffère selon la présence ou l'absence des exsudats racinaires. Pour le Stade «1^{er} bouton floral», après 24h d'incubation on enregistre une distance de 5cm. On note une augmentation progressivement croissante qui atteint une valeur de 28 cm à la fin de l'expérimentation (après 168h). Concernant le Stade «fleurs épanouies», la détection du *Verticillium dahliae* Kleb. a été faite après 72h d'inoculation, donc une distance de 16,5cm et atteint 39,5 cm après 120h.

La vitesse de déplacement de ce champignon tellurique augmente en fonction de la qualité des exsudats racinaires (teneurs en sucres solubles totaux et acides aminés) (Fig. 3).

L'analyse de la variance (ANOVA) indique que la variation des stades influence sur la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. ($p=0,03$). Le test de Tukey regroupe la vitesse de déplacement du champignon en trois sous-groupes homogènes. Ainsi on retrouve la vitesse en absences (témoin) et en présence des exsudats racinaires de l'aubergine au Stade A et au Stade B dans trois groupes distincts. La corrélation de Pearson indique l'existence d'une corrélation très forte et proportionnelle entre la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. et la teneur en acides aminés ($p=0,011$; $r=+0,91$), d'une part, et celle en sucres solubles totaux ($p=0,02$; $r=+0,87$) d'autre part.

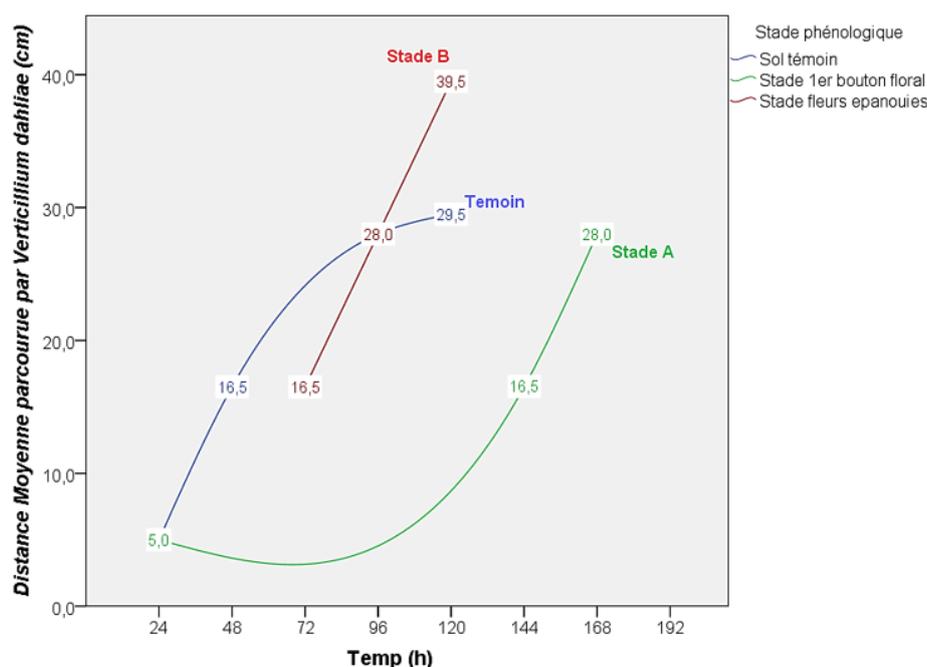


Figure 3 : Distance de translation (cm) du *Verticillium dahliae* Kleb. en fonction des stades phénologiques de l'aubergine (Stade A : Stade 1^{er} bouton floral ; Stade B : fleurs épanouies)

3. Modélisation de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. (Évaluation de la pertinence du modèle de régression)

3.1. Analyse de variance

Le calcul de la valeur de F se fait automatiquement et le degré de signification associé est consigné dans la dernière colonne du tableau 1.

La valeur de F est de 210,27 (témoin), 60,25 (Stade 1^{er} bouton floral) et 132,594 (Stade

fleurs épanouies) ; elle est significative à $p < 0,0005$. Ceci signifie que les probabilités d'obtenir une valeur F de cette taille par hasard sont de moins de 0,05 %. Dans ce cas, on rejette l'hypothèse nulle. Il y a donc une relation statistiquement significative entre le temps et la distance parcourue par *Verticillium dahliae* Kleb. et cela au niveau des 03 essais.

Tableau 1 : Analyse de variance pour le modèle de régression

ANOVA ^{a,b}						
Stade	Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
Témoin	Régression	1924,05	1,00	1924,05	210,27	0,001 ^c
	Résidu	27,45	3,00	9,15		
	Total	1951,500 ^d	4,00			
1 ^{er} bouton floral	Régression	1046,51	1,00	1046,51	60,25	0,016 ^c
	Résidu	34,74	2,00	17,37		
	Total	1081,250 ^d	3,00			
Fleurs épanouies	Régression	2577,620	1	2577,620	132,594	0,007 ^c
	Résidu	38,880	2	19,440		
	Total	2616,500 ^d	3			

a. Variable dépendante : Distance (cm), b. Régression linéaire à l'origine, c. Valeurs prédites : Temps (h)
d. Ce total des carrés n'est pas corrigé pour la constante car celle-ci vaut zéro pour la régression à l'origine

3.2. Évaluation de la variabilité expliquée par le modèle de régression

3.2.1. Les paramètres du modèle

Le tableau 2 nous donne les paramètres de l'équation du modèle de régression. Les coefficients non standardisés nous permettent de reconstituer l'équation de la droite de régression, qui sera de type : $y = (\alpha \cdot x)$. Sachant que : α (témoin) = 0,27 ; α (stade A) = 0,145 ; α (stade B) = 0,299

La colonne des coefficients standardisés indique la valeur du coefficient de corrélation (β). Elle apporte toutefois une nouvelle information: la valence de cette valeur. Donc le sens de la relation entre la distance parcourue par le *Verticillium dahliae* Kleb. (y) et le temps (x) est proportionnel peut import le stade.

Tableau 2 : Paramètres de l'équation du modèle de régression

Coefficients a,b						
Stade	Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	T	Sig.
		α	Erreur standard	β		
Témoin	Temps_h	0,27	0,02	+ 0,99	14,50	0,000
Stade A	Temps_h	0,145	0,02	+ 0,98	7,76	0,019
Stade B	Temps_h	0,299	0,026	+ 0,993	11,515	0,007

a. Variable dépendante : Distance (cm), b. Régression linéaire à l'origine

3.2.2. Détermination de l'équation de régression

Le précédent tableau nous indique que les équations de régression sont les suivantes :

$$y_{\text{témoin}} = (0,27 \cdot x) \dots\dots (1)$$

$$y_{\text{stade A}} = (0,145 \cdot x) \dots\dots (2)$$

$$y_{\text{stade B}} = (0,299 \cdot x) \dots\dots (3)$$

Où, y : valeur *prédite* de la distance (cm) ; x : le Temps (h).

En se basant sur les équations (1), (2) et (3) nous modélisons la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. dans les conditions de l'expérimentation ce qui se représente graphiquement par la figure 4.

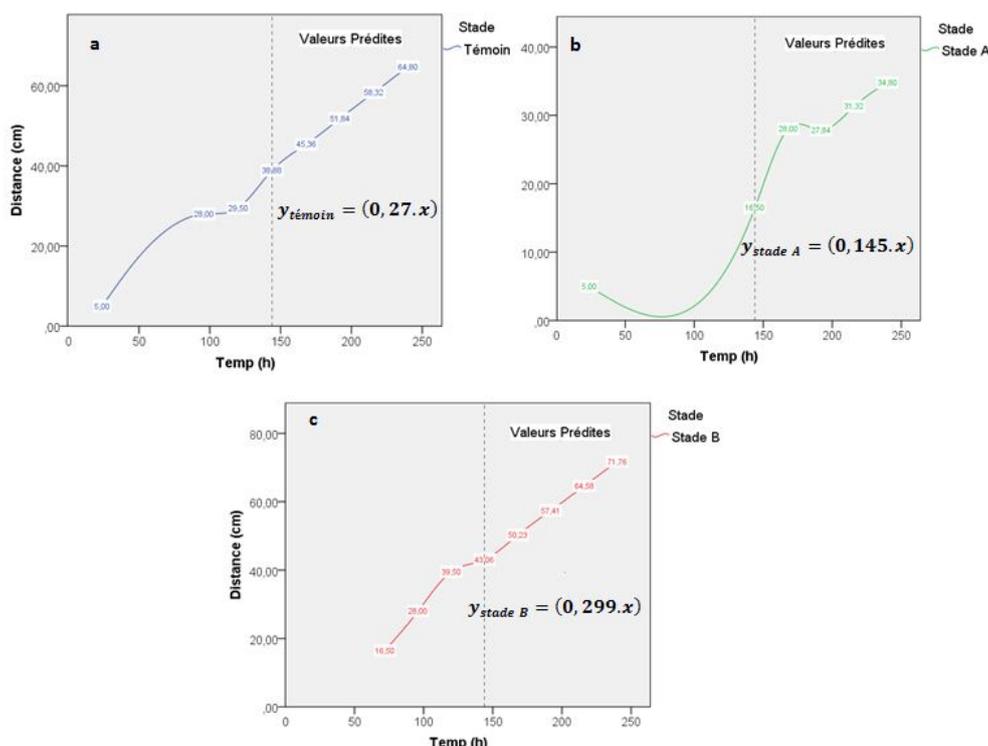


Figure 4 : Effet prédictif *in-silico* du temps (h) sur vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. basé sur le modèle de la régression linéaire simple (a : sol témoin ; b : en présence d'exsudats racinaires du stade A ; c : en présence d'exsudats racinaires du stade B)

DISCUSSION

Les exsudats racinaires sont constitués de deux fractions majeures, en plus des cellules exfoliées de la coiffe : Les mucilages qui sont composés à 95 %, de sucres (polysaccharides) et à 5 % de protéines. Les exsudats solubles, également issus du processus de photosynthèse, composés de molécules de plus petite taille comme des sucres simples, des acides aminés, des acides organiques, des enzymes, des phénols, des stérols ou encore des vitamines. Les exsudats stimulent le développement des micro-organismes, en retour, ceux-ci stimulent l'exsudation racinaire [4].

La quantité et la qualité des exsudats racinaires dépendent de l'espèce, du cultivar, du stade de développement de la plante et des facteurs environnementaux. Ces derniers favorisent la stimulation des agents pathogènes telluriques les plus redoutables et leurs dynamiques dans le sol [5].

La quantité de sucres solubles et des acides aminés stimule la qualité des exsudats racinaire. On constate que la présence des exsudats racinaire stimule la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* Kleb. Par contre, certains exsudats repoussent les agresseurs et les maintient à distance dans le cas de relation plante résistante-pathogène [13].

Les exsudats jouent un rôle important à cause de leurs composants. L'extension de *Verticillium dahliae* Kleb. varie selon la quantité de sucres solubles et des acides aminés. Ce qui implique qu'à l'augmentation de ces deux composants dans les exsudats racinaire la vitesse de *Verticillium dahliae* Kleb. augmente.

Les exsudats de l'aubergine, qui est une plante hôte pour le *Verticillium dahliae* Kleb., sont riches en acides aminés et en sucres qui augmentent la vitesse de déplacement des agents pathogènes virulents [14]. L'aubergine libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées azotées : polysaccharides, acides organique et protéines. Ces exsudats favorisent le développement de la microflore qui lui est pathogène. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter [15].

CONCLUSION

Ce travail s'inscrit dans un programme de recherche destiné à la caractérisation du *Verticillium dahliae* Kleb. en Algérie. Il a pour objectif d'évaluer *in vitro* et *in silico* l'effet des exsudats racinaires et des stades phénologiques de l'aubergine sur la dynamique du *Verticillium dahliae* Kleb. et de modéliser la vitesse de déplacement de ce pathogène.

Les résultats obtenus démontrent que la qualité des exsudats et la quantité des sucres et des acides aminés étudiés dans les deux stades phénologiques de l'aubergine influencent sur la vitesse du déplacement de *Verticillium dahliae* Kleb. dans le sol. La vitesse est plus élevée au stade B (fleurs épanouies) par rapport au stade A (1^{er} bouton florale). Ceci est en étroite relation proportionnelle avec la quantité en sucres solubles totaux et en acides aminés des racines.

La détermination *in-silico* de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* Kleb. par une méthode de modélisation prévisionnelle (la régression linéaire simple) nous a permis de ressortir trois (03) formules mathématiques qui modélisent l'extension linéaire de ce champignons dans les conditions de l'expérimentation afin d'appréhender son développement pour une lutte d'appoint.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Harrington M.A. and Dobinson K.F. (2000). Influences of cropping practices on *Verticillium dahliae* populations in commercial processing tomato fields in Ontario. *Phytopathol.*, 90: 1011-1017.
- [2]. Bellahcen M., Fortas Z., Geiger J.P., Matallah A. and Henni D. (2000). *Verticillium* wilt in olive in Algeria: Geographical distribution and extent of the disease. *Olivae*, 82:41-43.
- [3]. Bejarano J., Alcazar A., Termorshuizen J. and Jimenez-Diaz R.M. (1999). Single-Site Root Inoculations on Eggplant with *Microsclerotia* of *Verticillium dahliae*. *Phytoparasitica*, 27(4):279-289
- [4]. Waligora C. (2010). *Racines et sol : un monde de communications et d'équilibres*, TCS n°57
- [5]. Xiao-gang Li. (2013). The Composition of Root Exudates from Two Different Resistant Peanut Cultivars and Their Effects on the Growth of Soil-Borne Pathogen. *International Journal of Biological Sciences*, 9(2):164-173.

- [6]. **Rieuf P. (1985).** *Clé d'identification des champignons rencontrés sur les plantes maraichères.* INRA, ISBN: 978-2-85340-710-6
- [7]. **Etang M. (2012).** Effet de différents paramètres de l'environnement sur le déterminisme biochimique d'exsudats racinaires de *Crotalaria* spp. : Application à la nématoregulation en production végétale. Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, 129 p.
- [8]. **Minh T.T.L., Mignard B., Vinter E., Ayala O., Hồng P.V.C., Tuyén B.C., Dechaux C., Lanoue A., Boitel-Conti M. and Bourgaud F. (2004).** Etude de la production d'alcaloïdes tropaniques chez *Datura innoxia* Mill. cultivé en hydroponie; Evaluation d'un procédé générique de production de métabolites végétaux à usage thérapeutique et/ou cosmétique. *International Journal of Biological Sciences*, 2(2):145-164
- [9]. **Dubois M.K.A., Gilles Y.K. and Hamilton P.A. (1956).** Colometric Method For Determination Of Sugars And Related Substance. *Anal And Chem. Jour*, 28: 350-356
- [10]. **Naidu B.P., Cameron D.F. and Konduri S.V. (1998).** Improving drought tolerance of cotton by glycine betaine application and selection .Proceedings of the Australian Agronomy Conference. July 20-23, The Australian society of Agronomy, Australia.
- [11]. **Rapilly F. (1968).** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann Epiphyt*, 19 : (n° HS).
- [12]. **Toueni M. (2014).** Étude de l'interaction entre *Verticillium alfalfae* et *Medicago truncatula*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), 391 p.
- [13]. **Baetz U. and Martinoia E. (2013).** Root exudates: the hidden part of plant defense. *Trends in Plant Science*, 10(1120): 1-9.
- [14]. **Mench M. (1985).** *Influence des exsudats racinaires solubles sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs, Zea mays L.* Ed GRENOBLE, 109 p.
- [15]. **Hildenbrand S. (1964).** Influence of plant exudates on root infecting fungi. *Ann. Rev. Phytopatol*, 2:101-132.