

# RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

*Union – Discipline – Travail*

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Institut National Polytechnique  
Félix HOUPHOUËT-BOIGNY



École Doctorale Polytechnique

## THÈSE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE FÉLIX HOUPHOUËT-BOIGNY

Mention : Sciences Agronomiques et Génie Rural

Spécialité : Phytopathologie et Biotechnologie Microbienne

Thème :

**INTERACTIONS ENTRE PLANTE, RHIZOBACTÉRIE SYMBIOTIQUE  
ET/OU CHAMPIGNON MYCORHIZIEN ARBUSCULAIRE :  
APPLICATIONS POUR LA GESTION DE STRESS BIOTIQUES OU  
ABIOTIQUES DU MAÏS, DE LA TOMATE ET DE L'HÉVÉA**

Présentée et soutenue publiquement le 24 juillet 2020 par

**TIÉNÉBO Eric-Olivier**

**JURY :**

M. ASSIDJO Nogbou Emmanuel.....	Professeur Titulaire, INP-HB.....	Président
M. KOUAKOU Tanoh Hilaire.....	Professeur Titulaire, UNA.....	Rapporteur
M. BOMISSO Edson Lézin.....	Maître de Conférences, UFHB.....	Rapporteur
M. KOUAMÉ Konan Didier.....	Maître de Conférences, UFHB.....	Examinateur
M. ABO Kouabenan.....	Maître de Conférences, INP-HB....	Directeur de thèse

## DÉDICACE

§

§

*À feu mon très admirable père **Doué Paul**, et à feu ma très affectueuse mère **Rohon Jeannette**.*

*À feu ma très adorable et chère fille **Jaine-Serayah**.*

*À mon affectionnée et très noble épouse **Estelle-Claudine**, et à mon notable et très cher fils **Jarod-Ariel Scott**.*

*Et ... à mon Seigneur et Sauveur **Jésus-Christ**.*

§

§

## REMERCIEMENTS

Ce manuscrit de thèse consigne les principaux résultats de travaux de recherche qui n'auraient pu être menés sans le concours de personnes physiques et morales à qui je voudrais exprimer ma profonde gratitude.

En premier lieu, je tiens à remercier Docteur KOFFI N'Guessan, Directeur Général de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) pour m'avoir permis de m'inscrire en années de thèse à l'École Doctorale Polytechnique (EDP) de ce prestigieux institut.

Je remercie infiniment Professeur PIERSON Elizabeth, Professeur Titulaire à Texas A&M University (Texas, USA), pour son soutien inestimable durant ces années de recherche. Vous m'avez introduit dans le microbiome végétal avec des instructions pertinentes pour l'investigation et la communication scientifiques.

Je remercie Professeur YAO Kouassi Benjamin, Professeur Titulaire et Directeur de l'EDP ainsi que ses collaborateurs, Docteur SORO Doudjo, Maître de Conférences et Directeur des études, Docteur ABRO Koutouan Désiré-Martial, Attaché de recherche et Docteur BROU Yao Casimir, Maître de Conférences et Directeur de l'Unité Mixte de Recherche et d'Innovation en Sciences Agronomiques et Génie Rural pour cette formation doctorale de qualité.

Je suis également très honoré par les membres de mon jury de thèse à qui j'exprime toute ma gratitude. Je tiens à remercier :

- Professeur ASSIDJO Nougou Emmanuel, Professeur Titulaire à l'INP-HB, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider mon jury de thèse ;
- Professeur KOUAKOU Tanoh Hilaire, Professeur Titulaire à l'Université Nangui Abrogoua (UNA), pour avoir accepté la qualité de rapporteur de mon travail, pour le temps consacré à la lecture de cette thèse, ainsi que pour les suggestions et les remarques judicieuses que vous m'avez indiquées ;
- Docteur BOMISSO Edson Lézin, Maître de Conférences à l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), pour votre participation à mon jury de thèse, en qualité de rapporteur, et pour le temps consacré à la lecture de cette thèse ainsi que pour toutes les observations avisées que vous m'avez suggérées ;
- Docteur KOUAMÉ Konan Didier, Maître de Conférences à l'UFHB, pour l'intérêt que vous avez manifesté en acceptant de prendre part à ce jury en qualité d'examineur.

- Je remercie énormément Docteur ABO Kouabenan, Maître de Conférences à l'INP-HB et mon Directeur de thèse, qui a bien voulu me faire confiance en acceptant de me recevoir dans son équipe de recherche. Vos orientations, vos avis, votre rigueur dans le travail m'ont permis de cerner la portée de ce sujet de thèse. Je vous suis éternellement reconnaissant pour tous ces précieux conseils de la vie que je reçois de vous depuis mes années d'études d'élève-ingénieur, depuis 2001.

J'adresse ma gratitude au Fulbright Program du Département Américain des affaires étrangères et à "Institute of International Education" pour les fonds de recherche et de formation aux USA.

Je remercie également Professeur PIERSON III S. Leland, Professeur Titulaire et Directeur du "Department of Plant Pathology and Microbiology" et Docteur LÉVY G. Julien, Chercheur à Texas A&M University pour leurs précieuses orientations durant ces années académiques et de recherche. J'associe à ces remerciements Docteur KOLOMIETS Michael, Docteur TAMBORINDEGUY Cécilia, Docteur YU Muyong Jun, Docteur MASTOURI Fatmeh et Mme MENDOZA-HERRERA Azucena, chercheurs à Texas A&M University pour les rectifications significatives dans la conduite de mes travaux.

J'exprime ma reconnaissance à M. BAYALA Jacques et la Compagnie Hévécicole de Priko pour les plants du clone IRCA 331 et l'achat de l'inoculum mycorhizien.

Je n'oublie pas les conseils, les protocoles, le matériel et la mise à disposition de locaux, sans lesquels aucun travail à l'INP-HB n'aurait pu être fait. Je remercie à cet effet, Docteur KOUAKOU Kouadio Paul-Martial, Directeur du Département Agriculture et Ressources Animales, Docteur POHÉ Jean, Docteur AGNÉROH née Atcham Thérèse, Professeur ZÉZÉ Adolphe, Docteur DANHO Mathias, Docteur KOUAKOU Ngoran David Vincent. Je remercie spécialement Docteur ADIMAN Augustin, Docteur NIAMKÉ Bobélé Florence, et Docteur YAO Jean-Claude pour le travail sur les polyphénols totaux.

Je pense tout particulièrement à Docteur KOUADIO Kouakou Théodore, Maître de Conférences et Docteur FOSSOU Kouakou Romain à l'INP-HB, pour les nombreuses heures consacrées à la critique de ce manuscrit et aux restitutions des travaux. Je vous suis éternellement reconnaissant.

Je reconnais les précieuses aides tout le long de ces années de dur labeur de mes collègues et amis. Je pense particulièrement au Docteur ADJA Nahoulé, Docteur AKMEL Djedjro Clément, M. KOUAMÉ Jérémie et famille, Mme KOUADIO Justine et famille, Docteur KOUASSI Anicet et famille, Mme KOUADIA Marie-



## Remerciements

Joséphine, Mme AKE Marie-Laure, Mme ABLO Adéline, Mme KOUASSI Véronique, M. DOSSO Mominé, M. AMOAKON Alexandre, M. COULIBALY Jean, M. KOUADIO Alain et M. NGAH Benson.

Je tiens à remercier le Pasteur KOFFI Koffi Albert, le Pasteur KONAN Kouakou Innocent et le Pasteur TAPÉ Gnonka Clémert de l'Église des Assemblées de Dieu de Côte d'Ivoire et leurs familles respectives, pour l'encouragement à produire le meilleur de moi en tout temps et en particulier dans ces travaux de thèse.

Je suis très reconnaissant envers ma famille, particulièrement envers LOBA Eyi Mireille, ZAÏ Guehassa Pacôme, GNAGNE Jean-Jonathan, LOBA Marie-Josée Epse TRAORÉ et KOUASSI Simon-Alexandre, "ma fille" NGUESSAN Rosalie, pour tout le support matériel, financier et moral qu'ils m'ont apportés.

Enfin, merci infiniment à ma tendre épouse Estelle-Claudine, à mes précieux enfants, Jarod-Ariel et Ébenezzer, pour leur amour, patience, soutien et conseils indéfectibles.

## RÉSUMÉ

Les plantes peuvent établir avec leur rhizobiome des interactions symbiotiques qui sont utilisées aujourd'hui en agroécologie comme moyens de lutte biologique. Toutefois, cette utilisation connaît des succès divers. La manipulation correcte des gènes et des partenaires impliqués dans ces interactions peut permettre de mieux exploiter ces interactions à des fins de gestion de stress, d'amélioration végétale ou de transgénèse. Si la régulation de la transduction des signaux intervenant dans les interactions plante - microsymbiote - pathogène par les lipoxygénases 13-LOX est bien documentée, celle des lipoxygénases 9-LOX n'est pas élucidée. Par ailleurs, le mécanisme de l'interaction entre champignon mycorhizien arbusculaire (CMA) et *Pseudomonas* promotrice de la croissance des plantes (PGPP) ou racines végétales, sécrétant des substances antifongiques telles que les phénazines ou l'hévéine, n'a pas été étudié. En outre, une interaction quadripartite plante - microsymbiote - pathogène vivant - vecteur de pathogène n'a été que rarement étudiée. Au moyen de différents plans factoriels, les effets de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX12* et/ou *9-ZmLOX3* et les effets de la préinoculation de PGPP et/ou de CMA sur les réponses du maïs à l'antracnose foliaire (ALB) et au stress hydrique ont été analysés. Cette étude a également analysé l'interaction entre CMA et PGPP ou exsudats racinaires d'hévéine dans la rhizosphère respectivement du maïs et de l'hévéa. Les effets de la prémycorhization sur les réponses de la tomate à la bactériose causée par les haplotypes A et B de "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" (LsoA et LsoB) et sur la reproduction du psylle vecteur ont aussi été étudiés. L'étude a ainsi mis en évidence une résistance systémique induite vis-à-vis de l'antracnose foliaire du maïs. Les phénazines ont été des inducteurs de résistance systémique dans les lignées sensibles mais de susceptibilité dans les lignées résistantes à l'ALB. L'induction de résistance par le CMA est indépendante du gène *9-ZmLOX12* alors que celle par le PGPP ne l'est pas. En outre, le CMA est capable de réduire la production et/ou la sécrétion de phénazines du PGPP. Le CMA possède également un mécanisme de résistance aux exsudats racinaires antifongique du type hévéine. Par ailleurs, les indices de tolérance (STI) au stress hydrique des mutants *9-zmlox3* et *9-zmlox12* étaient respectivement au moins 2,0 fois et 1,2 fois plus élevés que ceux du type sauvage B73. Les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* semblent donc être des facteurs génétiques de susceptibilité au stress hydrique. La mycorhization a amélioré les STI de toutes les lignées à l'exception du mutant *9-zmlox12*. L'inactivation du gène *9-ZmLOX3* a accru la résistance induite par la mycorhization au stress hydrique. Par ailleurs, la mycorhization a réduit l'incidence de la bactériose à Lso, l'oviposition et la survie des nymphes issues des psylles vecteurs de LsoA mais pas celles des psylles vecteurs de LsoB. En somme, cette étude montre que la compréhension des mécanismes moléculaires des interactions permet une meilleure gestion des stress.

**Mots clés :** interactions plante - microbe et microbe - microbe, gènes *9-LOX*, résistance systémique induite, stress biotiques et abiotiques.

## ABSTRACT

Plants can establish with their rhizobiome, symbiotic interactions that are used today in agroecology as biocontrol tools. However, this approach is experiencing inconsistent successes. Proper manipulation of the involved genes and partners can though lead to better use of these interactions for stress management, plant breeding, or transgenesis. While signal transduction regulation of plant-microsymbiont pathogen interactions by 13-LOX lipoxygenases is well documented, regulation by 9-LOX lipoxygenases is not well understood. Furthermore, the mechanism of interaction between Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting *Pseudomonas* (PGPP) or plant roots, releasing antifungal substances such as phenazine or hevein, respectively, has not yet been investigated. Besides, a four-way plant - microsymbiont – living pathogen - pathogen vector interaction has been poorly explored. Using different factorial designs, the effects of *9-ZmLOX12* and/or *9-ZmLOX3* genes' silencing and the effects of PGPP and/or AMF preinoculation on maize responses to anthracnose leaf blight (ALB) and water stress were investigated. This study also analyzed the interaction between AMF and PGPP or hevein root exudates in the rhizosphere of maize and rubber tree respectively. The effects of premycorrhization on tomato responses to bacterial infection by the haplotypes A and B of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' (LsoA and LsoB) and on the reproduction of the psyllid vector were also studied. The study thus demonstrated an induced systemic resistance against anthracnose leaf blight in maize. Phenazines induced systemic resistance in susceptible lines but induced susceptibility in ALB-resistant lines. The induction of resistance by AMF was independent of the *9-ZmLOX12* gene while induction by PGPP was not. Also, AMF was able to reduce the production and/or secretion of PGPP phenazines. AMF also appeared to have a mechanism of resistance to hevein-like root exudates. In addition, the tolerance indices (STI) to water stress in the *9-zmlox3* and *9-zmlox12* mutants were at least 2.0 and 1.2 times higher, respectively, than those of the wild type B73. Thus, the *9-ZmLOX3* and *9-ZmLOX12* genes appeared to be susceptibility genetic factors towards water stress. Mycorrhization improved STIs in all genotypes except the *9-zmlox12* mutant. Inactivation of the *9-ZmLOX3* gene increased mycorrhization-induced resistance to water stress. Besides, mycorrhization reduced the incidence of Lso-induced disease, oviposition, and survival of nymphs from LsoA vector psyllids but not those from LsoB vector psyllids. In sum, this study confirms that understanding of the molecular mechanisms of interactions, provides basis for enhanced management of various stresses.

**Keywords:** plant-microbe and microbe-microbe interactions, induced systemic resistance, *9-LOX* genes, abiotic and biotic stresses.

## TABLE DES MATIÈRES

	Page
DÉDICACE .....	ii
REMERCIEMENTS .....	iii
RÉSUMÉ .....	vi
ABSTRACT .....	vii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xvi
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xvii
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	8
INTRODUCTION .....	9
CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LE MAÏS, LA TOMATE ET L'HÉVÉA .....	9
1.1. Généralités sur le maïs.....	9
1.1.1. Origine et aires de culture du maïs.....	9
1.1.2. Classification taxonomique du maïs .....	10
1.1.3. Importance du maïs .....	10
1.1.4. Morphologie d'un pied de maïs .....	11
1.1.5. Conditions édaphoclimatiques pour la culture du maïs .....	11
1.1.6. Bioagresseurs du maïs.....	11
1.1.7. Stress abiotiques du maïs .....	12
1.2. Généralités sur la tomate .....	12
1.2.1. Origine et aires de culture de la tomate.....	12
1.2.2. Classification taxonomique de la tomate .....	12
1.2.3. Importance de la culture de tomate .....	12
1.2.4. Morphologie d'un pied de tomate .....	13
1.2.5. Conditions édaphoclimatiques pour la culture de tomate .....	14
1.2.6. Bioagresseurs de la tomate.....	14
1.2.7. Stress abiotiques de la tomate .....	15
1.3. Généralités sur l'hévéa .....	16
1.3.1. Origine et aires de culture de l'hévéa.....	16
1.3.2. Classification taxonomique de l'hévéa .....	16
1.3.3. Importance de l'hévéa .....	16
1.3.4. Morphologie d'un pied d'hévéa.....	17
1.3.5. Conditions édaphoclimatiques de l'hévéaculture.....	18
1.3.6. Bioagresseurs de l'hévéa.....	18

1.3.7. Stress abiotiques de l'hévéa .....	19
<b>CHAPITRE 2 : RHIZOBACTÉRIES ET CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS PROMOTEURS DE LA CROISSANCE DES PLANTES .....</b>	<b>21</b>
2.1. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes .....	21
2.1.1. <i>Pseudomonas</i> promotrices de la croissance des plantes .....	22
2.1.2. Phénazines.....	22
2.2. Champignons endomycorhiziens.....	25
2.2.1. Systématique des champignons mycorhiziens arbusculaires.....	26
2.2.2. Biologie des champignons mycorhiziens arbusculaires et cycle de développement .....	26
2.2.3. Rôle et importance des endomycorhizes arbusculaires.....	28
<b>CHAPITRE 3 : LIPOXYGÉNASES, OXYLIPINES ET RÉPONSES AUX STRESS .....</b>	<b>33</b>
3.1. Description des lipoxygénases et des oxylipines.....	33
3.2. Voie métabolique des lipoxygénases.....	34
3.3. Rôle des oxylipines dans les mécanismes de défense .....	35
3.4. Interactions entre les oxylipines et les champignons mycorhiziens arbusculaires .....	39
<b>CHAPITRE 4 : ANTHRACNOSE FOLIAIRE DU MAÏS .....</b>	<b>44</b>
4.1. L'agent causal de l'anthracnose foliaire.....	44
4.2. Lutte contre l'anthracnose foliaire.....	44
4.3. Gestion potentielle de l'anthracnose foliaire par les microsymbiotes.....	45
4.4. Résistance systémique induite par coinoculation de microsymbiotes.....	45
<b>CHAPITRE 5 : BACTÉRIOSE DE LA TOMATE DUE À <i>CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM</i> .....</b>	<b>47</b>
5.1. Description de l'agent causal.....	47
5.2. Symptomatologie causée par les haplotypes A et B de l'agent causal sur la tomate .....	48
5.3. Potentielle gestion de la bactériose par les champignons mycorhiziens arbusculaires .....	49
<b>CHAPITRE 6 : STRESS LIÉ AU DÉFICIT HYDRIQUE.....</b>	<b>51</b>
6.1. Définition du stress hydrique.....	51
6.2. Effets du stress hydrique sur les plantes.....	51
6.3. Réponses d'acclimatation des plantes au stress hydrique .....	56
6.4. Mécanismes d'adaptation au stress hydrique .....	57
<b>CONCLUSION PARTIELLE.....</b>	<b>61</b>
<b>DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>	<b>62</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>63</b>
<b>CHAPITRE 7 : DÉTERMINATION DU RÔLE DU GÈNE <i>9-ZmLOX12</i> ET DES PHÉNAZINES DANS L'INTERACTION MAÏS - MICROSymbIOTES (CMA ET PGPP) - AGENT CAUSAL DE L'ANTHRACNOSE FOLIAIRE (ALB) .....</b>	<b>63</b>

7.1	Introduction .....	63
7.2	Prétraitement du matériel végétal et du substrat de culture.....	63
7.3	Obtention des mutants de <i>Pseudomonas chlororaphis</i> 30-84 .....	64
7.4	Inoculation de <i>Rhizophagus irregularis</i> et des souches dérivées de <i>Pseudomonas chlororaphis</i> ....	66
7.5	Inoculation foliaire de <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	66
7.6	Application du régime hydrique et de la fertilisation .....	67
7.7	Évaluation des effets des microsymbiotes sur l'antracnose foliaire.....	67
7.8	Évaluation de la colonisation racinaire.....	71
7.9	Évaluation du rôle inducteur de résistance systémique des phénazines .....	71
7.10	Évaluation des effets de <i>Rhizophagus irregularis</i> sur la production de phénazines .....	72
7.11	Évaluation de l'interaction <i>via planta</i> entre les microsymbiotes dans un split-root system .....	72
7.12	Inhibition <i>in vitro</i> de la croissance du pathogène par la bactérie symbiotique.....	74
7.13	Analyses statistiques.....	74

## CHAPITRE 8 : DÉTERMINATION DU RÔLE DES GÈNES 9-ZmLOX3 ET 9-ZmLOX12 DANS L'INTERACTION TRIPARTITE MAÏS - CMA - STRESS HYDRIQUE .....

8.1.	Introduction .....	75
8.2.	Matériel biologique.....	75
8.3.	Sol.....	75
8.4.	Plan d'expérimentation .....	76
8.5.	Inoculation du champignon mycorhizien arbusculaire.....	77
8.6.	Conditions de culture.....	78
8.7.	Paramètres mesurés .....	78
8.7.1.	Température foliaire.....	78
8.7.2.	Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles .....	78
8.7.3.	Dépendance mycorhizienne .....	78
8.7.4.	Efficiéce agronomique de l'utilisation de l'eau .....	79
8.7.5.	Extraction et dosage spectrophotométrique de polyphénols totaux.....	79
8.7.6.	Détermination du potentiel antioxydant des polyphénols par la méthode ABTS .....	79
8.7.7.	Indice de tolérance au stress.....	80
8.7.8.	Estimation de la colonisation mycorhizienne .....	80
8.7.9.	Densité sporale du sol .....	82
8.8.	Analyses statistiques.....	82

## CHAPITRE 9 : ANALYSE DE L'INTERACTION TOMATE - CMA - LSO - PSYLLE VECTEUR *BACTERICERA COCKERELLI*.....

9.1.	Introduction .....	83
9.2.	Prétraitement du matériel végétal .....	83
9.3.	Inoculation du champignon mycorhizien .....	83
9.4.	Application des colonies d'insectes.....	84
9.5.	Dispositif expérimental.....	84
9.6.	Évaluation des effets de l'inoculation sur la maladie et la croissance des plants.....	84
9.7.	Analyse de la translocation <i>in planta</i> du pathogène par PCR .....	85
9.8.	Évaluation de l'effet de l'inoculation sur la ponte d'œufs et la survie des nymphes.....	86
9.9.	Analyses statistiques.....	86

CHAPITRE 10 : ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE INDUITE PAR LA MYCORHIZATION DE L'HÉVÉA AU STRESS HYDRIQUE.....	87
10.1. Introduction .....	87
10.2. Matériel biologique et substrat de culture .....	87
10.3. Aspects particuliers de l'étude.....	88
10.4. Facteurs étudiés et traitements des essais .....	88
10.5. Conduite de l'expérimentation .....	89
10.6. Paramètres mesurés du test de l'effet anti-mycorhization des exsudats racinaires .....	89
10.7. Paramètres mesurés lors du test de la résistance au stress hydrique .....	90
10.7.1. Humidité du sol.....	90
10.7.2. Mensurations de la tige issue du greffon .....	90
10.7.3. Température foliaire.....	90
10.7.4. Indice de la teneur en chlorophylle .....	90
10.7.5. Indice de réflectance photochimique .....	90
10.7.6. Développement et surface foliaire .....	90
10.7.7. Fuite d'électrolytes des cellules foliaires .....	91
10.7.8. Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles .....	91
10.8. Analyses statistiques.....	91
CONCLUSION PARTIELLE.....	91
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS.....	92
INTRODUCTION .....	93
CHAPITRE 11 : EFFETS DE L'INACTIVATION DU GÈNE <i>9-ZmLOX12</i> ET DE L'INOCULATION DE MICROSymbIOTES SUR L'ANTHRACNOSE FOLIAIRE DU MAÏS .....	93
11.1. Niveaux de colonisation microbienne et interaction directe dans le système racinaire entier .....	93
11.2. Effets de l'inoculation des microsymbiotes sur l'antracnose foliaire .....	95
11.3. Effets de l'inoculation des microsymbiotes sur la croissance <i>in vivo</i> du pathogène.....	101
11.4. Effets différentiels des teneurs en phénazines sur lignées sensibles et résistantes.....	104
11.5. Effets de <i>Rhizophagus irregularis</i> sur la production de phénazines .....	104
11.6. Interaction indirecte entre les microsymbiotes <i>via</i> planta dans un split-root system .....	106
11.7. Inhibition <i>in vitro</i> de la croissance de <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	109
CHAPITRE 12 : EFFETS DE L'INACTIVATION DES GÈNES <i>9-ZmLOX3</i> ET <i>9-ZmLOX12</i> ET DE L'INOCULATION DE CHAMPIGNON MYCORHIZIEN SUR LA RÉSISTANCE DU MAÏS AU STRESS HYDRIQUE.....	110
12.1. Température foliaire .....	110
12.2. Biomasse sèche et la teneur relative en eau caulinaires.....	113
12.2.1. Biomasse sèche caulinaires.....	113
12.2.2. Teneur relative en eau caulinaires .....	116
12.3. Biomasses sèche et teneur relatives en eau des racines.....	119
12.3.1. Biomasses sèche des racines .....	119
12.3.2. Teneur relative en eau des racines .....	122
12.4. Efficience agronomique de l'utilisation de l'eau .....	125

12.5. Dépendance mycorhizienne sous stress hydrique .....	128
12.6. Teneur foliaire en polyphénols totaux sous stress hydrique .....	129
12.7. Teneur racinaire en polyphénols totaux sous stress hydrique .....	132
12.8. Potentiel antioxydant des polyphénols totaux foliaires sous stress hydrique .....	134
12.9. Indice de tolérance au stress hydrique .....	136
12.10. Estimation de la colonisation mycorhizienne sous stress hydrique .....	138
12.11. Densité de spores mycorhiziennes viables sous stress hydrique .....	140
<b>CHAPITRE 13 : EFFETS DE LA MYCORHIZATION DE LA TOMATE SUR LA BACTÉRIOSE DUE À <i>CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM</i> ET SON PSYLLE VECTEUR .....</b>	<b>141</b>
13.1. Estimation de la colonisation racinaire des plants de tomate .....	141
13.2. Effets de la mycorhization sur le développement des symptômes et sur la croissance des plants ..	141
13.3. Effets de la mycorhization et de l'haplotype bactérien sur le développement des nymphes .....	146
<b>CHAPITRE 14 : MITIGATION DES EFFETS DU STRESS HYDRIQUE DE L'HÉVÉA PAR LA MYCORHIZATION ARBUSCULAIRE .....</b>	<b>147</b>
14.1. Invalidation de l'hypothèse de l'effet anti-mycorhizien des exsudats racinaires de l'hévéa .....	147
14.2. Aspect des plants du clone d'hévéa IRCA 331 sous stress hydrique .....	151
14.3. Humidité du substrat de culture .....	153
14.4. Indice de réflectance photochimique .....	155
14.5. Température foliaire des plants d'hévéa .....	156
14.6. Évolution de la longueur et du diamètre de la tige issue du greffon .....	157
14.7. Nombre de feuilles vertes et surfaces foliaires des plants d'hévéa .....	159
14.8. Indice de la teneur en chlorophylle et intégrité membranaire des cellules foliaires d'hévéa .....	161
14.9. Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles de plants d'hévéa .....	163
<b>CONCLUSION PARTIELLE .....</b>	<b>164</b>
<b>QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION .....</b>	<b>165</b>
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>177</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>181</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>229</b>
Annexe 1. Préparation des stocks de la solution hydroponique Hoagland 0,5 N .....	230
Annexe 2. Illustrations du gridline intersect .....	231
Annexe 3. Illustrations du split-root system avec des conetainers .....	232
Annexe 4. Illustrations des travaux en pots d'un litre de capacité .....	232
Annexe 5. Illustrations des travaux dans les cages insect-proof .....	233
Annexe 6. Illustrations des travaux en pots de 15 litres de capacité .....	234
Annexe 7. Index des taxons spécifiques cités .....	235
Annexe 8. Articles et communications issus des travaux de la thèse .....	237



## LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1. Biosynthèse et phénotypes des dérivés de l'acide phénazine-1-carboxylique .....	25
Figure 2. Cycle de développement des champignons mycorhiziens arbusculaires .....	27
Figure 3. Mécanismes impliqués par la symbiose mycorhizienne arbusculaire dans l'amélioration de la tolérance des plantes aux stress abiotiques.....	32
Figure 4. Synthèse d'oxylipines et transport intracellulaire .....	34
Figure 5. Quelques effets du déficit hydrique sur les plantes .....	52
Figure 6: Schéma du dispositif expérimental en randomisation totale de l'essai sur l'antracnose foliaire.....	68
Figure 7. Schéma du dispositif de split-root system .....	73
Figure 8. Schéma partiel du dispositif expérimental en blocs complets randomisés.....	77
Figure 9. Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne.....	81
Figure 10. Colonisation du système racinaire entier par <i>Pseudomonas chlororaphis</i> 30-84.....	94
Figure 11. Colonisation du système racinaire entier par <i>Rhizophagus irregularis</i> DAOM 197198.....	95
Figure 12. Réponses systémiques induites à l'infection foliaire par <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	97
Figure 13. Lésions nécrotiques dues à une infection foliaire par <i>Colletotrichum graminicola</i> .....	98
Figure 14. Effets des préinoculations sur la croissance de <i>Colletotrichum graminicola</i> dans les feuilles	103
Figure 15. Réponses de lignées prebactérisées par des souches différant par la teneur produite en phénazines .....	104
Figure 16. Influence de <i>Rhizophagus irregularis</i> sur l'expression de l'opéron phénazine .....	105
Figure 17. Régulation de la bactérisation <i>via planta</i> par la prémycorhization dans un split-root system .	106
Figure 18. Régulation de la mycorhization <i>via planta</i> par la prébactérisation dans un split-root system .	107
Figure 19. Réponses systémiques induites contre <i>Colletotrichum graminicola</i> dans le split-root system	108
Figure 20. Inhibition <i>in vitro</i> du pathogène par les souches déficientes en phénazines et le type sauvage .....	109
Figure 21. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la température foliaire.....	112

Figure 22. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse caulinare.....	115
Figure 23. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur relative en eau caulinare .....	118
Figure 24. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse racinaire de lignées de maïs.....	121
Figure 25. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur relative en eau racinaire .....	124
Figure 26. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'efficacité de l'utilisation de l'eau .....	127
Figure 27. Dépendance mycorhizienne de lignées de maïs sous stress hydrique .....	128
Figure 28. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur foliaire en polyphénols totaux	131
Figure 29. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur racinaire en polyphénols totaux .....	133
Figure 30. Activité antioxydante des polyphénols totaux des feuilles des lignées de maïs.....	135
Figure 31. Effets de la mycorhization sur l'indice de tolérance au stress hydrique des lignées de maïs...	137
Figure 32. Effets du stress hydrique sur deux paramètres de mycorhization de <i>Rhizophagus irregularis</i>	139
Figure 33. Effets du stress hydrique sur la densité sporale de <i>Rhizophagus irregularis</i> dans le substrat..	140
Figure 34. Effets de la mycorhization sur les symptômes de la maladie six semaines après infestation ..	142
Figure 35. Détection par PCR et translocation de Lso dans les plants de tomate.....	143
Figure 36. Influence de la mycorhization et de l'infection à Lso sur des plants de tomate .....	145
Figure 37. Racines mycorhizées de tomates issues de substrat contenant aussi des pieds d'hévéa .....	147
Figure 38. Racines mycorhizées de pieds d'hévéa issues de substrat contenant aussi de la tomate.....	148
Figure 39. Infectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331 .....	149
Figure 40. Effectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331 .....	150
Figure 41. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 cultivés sans stress hydrique .....	151
Figure 42. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 soumis à un stress hydrique modéré .....	152
Figure 43. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 soumis à un stress hydrique sévère .....	153
Figure 44. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'humidité du substrat.....	154
Figure 45. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'indice de réflectance photochimique...	155
Figure 46. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la température foliaire d'hévéa.....	156

Figure 47. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'élongation des plants d'hévéa .....	157
Figure 48. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur le diamètre de la tige issue du greffon...	158
Figure 49. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur le développement foliaire .....	159
Figure 50. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la surface foliaire de plants d'hévéa .....	160
Figure 51. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en chlorophylle de plants d'hévéa .....	161
Figure 52. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la fuite d'électrolytes des cellules foliaires .....	162
Figure 53. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse sèche des feuilles .....	163
Figure 54. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en eau des feuilles d'hévéa .....	164

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1. Processus dépendants de l'acide jasmonique (JA) et impliquant des composants de signalisation/facteurs de transcription .....	36
Tableau 2. Traitements pour l'évaluation de l'antagonisme de <i>Rhizophagus irregularis</i> DAOM 197198 et de souches de <i>Pseudomonas chlororaphis</i> 30-84 vis-à-vis de <i>Colletotrichum graminicola</i> M1.001.....	68
Tableau 3. Échelle descriptive de la réaction des feuilles de maïs à l'antracnose en serre .....	69
Tableau 4. Traitements de l'essai pour l'évaluation de l'interaction entre <i>Rhizophagus irregularis</i> DAOM 197198 et <i>Pseudomonas chlororaphis</i> 30-84 dans un split-root system.....	73
Tableau 5. Caractéristiques chimiques du substrat de culture .....	76
Tableau 6. Échelle de notation de la sévérité de la maladie à <i>Ca. Liberibacter solanacearum</i> sur tomate..	85
Tableau 7. Analyse des lésions nécrotiques selon l'échelle descriptive de da Costa <i>et al.</i> (2014) .....	99
Tableau 8. Incidence de la maladie et effets de l'inoculation microbienne chez les trois lignées.....	101
Tableau 9. Incidence et sévérité de la maladie due à <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> .....	142
Tableau 10. Effet de la mycorhization sur le cycle de vie des psylles.....	146

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

<b>ABA</b> :	Abscisic Acid (Acide abscissique)
<b>ADN</b> :	Acide désoxyribonucléique
<b>ALB</b> :	Anthracnose Leaf Blight (Anthracnose foliaire)
<b>ANOVA</b> :	Analyse de la Variance
<b>AOC</b> :	Allène Oxide Cyclase
<b>AOS</b> :	Allène Oxide Synthase
<b>ARN</b> :	Acide ribonucléique
<b>ASR</b> :	Anthracnose Stalk Rot (Anthracnose caulinaire ou pourriture de la tige)
<b>CFU</b> :	Colony-Forming Unit (Unité formant colonie)
<b>CMA</b> :	Champignon Mycorhizien Arbusculaire
<b>DW</b> :	Biomasse sèche
<b>FACS</b> :	Fluorescence-activated Cells System (cellules activées par fluorescence)
<b>FW</b> :	Biomasse fraîche
<b>GFP</b> :	Green Fluorescent Protein (Protéine fluorescente verte)
<b>GLMM</b> :	General Linear Mixte Model (Modèle linéaire mixte généralisé)
<b>HSP</b> :	Heat Shock Proteins (Protéines de choc thermique)
<b>INP-HB</b> :	Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny
<b>IP</b> :	Inhibiteurs de Protéinase
<b>ISR</b> :	Induced Systemic Resistance (Résistance systémique induite)
<b>JA</b> :	Jasmonic Acid (Acide jasmonique)
<b>JAS</b> :	Jour Après Semis
<b>JPI</b> :	Jour Post Infestation
<b>KMB</b> :	King Medium B
<b>LB</b> :	Lysogeny Broth Medium (Milieu de culture lysogène)
<b>LEA</b> :	Late Embryogenesis Abundant (Abondantes en phase embryogénèse tardive)
<b>LOX</b> :	Lipoxygénase
<b>Lso</b> :	<i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>
<b>LsoA</b> :	Lso haplotype A
<b>LsoB</b> :	Lso haplotype B
<b>MANOVA</b> :	Analyse multivariée de la Variance
<b>MD</b> :	Dépendance mycorhizienne
<b>MeJA</b> :	Méthyl-Jasmonate
<b>MIR</b> :	Mycorrhiza-Induced Resistance (Résistance induite par mycorrhize)

**MULE** : Mutator-Like Element (Élément de type mutateur)

**OHPZ** : Hydroxy-Phénazine

**OPDA** : Acide 12-oxo-phytodiène

**Opéron Phz** : Opéron Phénazine

**PAL** : Phénylalanine Ammoniac Lyase

**PBS** : Phosphate Buffer Saline

**PCA** : Phenazine -1- Carboxylic Acid (Acide phénazine-1-carboxylique)

**PCN** : Phenazine-1-carboxamide

**PCR** : Polymerase Chain Reaction (Amplification en chaîne par polymérase)

**PDA** : Potato Dextrose Agar (Pomme de terre gélosée)

**PGPF** : Plant Growth-Promoting Fungi (Champignons promoteurs de la croissance des plantes)

**PGPM** : Plant Growth-Promoting Microbe (Microorganisme promoteur de la croissance des plantes)

**PGPP** : Plant Growth-Promoting *Pseudomonas* (*Pseudomonas* promoteur de la croissance des plantes)

**PGPR** : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Rhizobactérie promotrice de la croissance des plantes)

**pH** : potentiel d'Hydrogène

**PPM** : Pigment Production Medium (Milieu de production de pigments)

**PPMD** : Pigment Production Medium-D (Milieu de production de pigments modifié -D)

**PYO** : Pyocyanine

**qPCR** : quantitative PCR (PCR quantitative)

**ROS** : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène)

**RWC** : Teneur relative en eau

**SA** : Salicylic Acid (Acide salicylique)

**SAI** : Semaine Après Infestation

**SAR** : Systemic Acquired Resistance (Résistance systémique acquise)

**SAS** : Semaine Après Semis

**Stade V1** : Stade végétatif une feuille

**Stade V3** : Stade végétatif trois feuilles

**STI** : Stress Tolerance Index (Indice de tolérance au stress)

**SVD** : Singular Value Decomposition (Décomposition multivariée en valeurs singulières)

**TW** : Masse turgescence

**UFHB** : Université Félix Houphouët-Boigny

**UNA** : Université Nangui-Abrogoua

**WUE** : Efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

Les plantes hébergent un rhizobiome très diversifié (Mueller et Sachs, 2015). Dans ce rhizobiome, les microorganismes promoteurs de la croissance des plantes (PGPM) font partie des principaux groupes microbiens d'importance économique et scientifique (Mueller et Sachs, 2015). Parmi les PGPM, les rhizobactéries, du genre *Pseudomonas*, promotrices de la croissance des plantes (PGPP) et les Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA) sont bien connus pour contribuer à des fonctions hôtes essentielles ainsi qu'à des rôles écosystémiques (Goh *et al.*, 2013). Ces PGPM modulent l'architecture racinaire et la plasticité phénotypique des plantes en réponse à des environnements instables et hostiles (Goh *et al.*, 2013).

Le genre *Pseudomonas* contient des espèces rhizosphériques capables de coloniser une grande variété de plantes y compris le maïs et le blé, où elles agissent comme biofertilisants, photostimulateurs et agents de lutte biologique (Ryu *et al.*, 2004 ; Audrain *et al.*, 2015 ; Sharifi et Ryu, 2016). Des espèces comme *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. chlororaphis* peuvent directement stimuler la ramification des racines pour une meilleure exploration du sol grâce à la production d'auxines et de cytokinines (Ryu *et al.*, 2004 ; Audrain *et al.*, 2015 ; Sharifi et Ryu, 2016). Elles sont capables par la production de phénazines d'antagoniser directement des microorganismes phytopathogènes (Maddula *et al.*, 2008), assurant ainsi leur compétence rhizosphérique (Ramos *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2016). Les phénazines induisent aussi l'activation de réponses de défense dans la plante grâce à la voie de signalisation d'oxylipines jasmonates (Ryu *et al.*, 2004 ; Audrain *et al.*, 2015 ; Sharifi et Ryu, 2016).

Quant au CMA modèle *Rhizophagus irregularis*, l'étude de son génome révèle qu'il a perdu toutes les enzymes permettant de dégrader la lignine et la cellulose déposées dans le sol. Il dépend donc totalement de sa plante-hôte pour subvenir à ses besoins en sucres et en énergie : c'est un symbiote obligatoire (Malbreil, 2014). En contrepartie, il possède un système très efficace d'absorption et de transport des éléments minéraux. Il dispose également d'un grand répertoire de gènes de communication et de signalisation, commun avec les rhizobactéries, et utilisé pour établir une symbiose fonctionnelle avec ses plantes hôtes (Calonne *et al.*, 2014 ; Malbreil, 2014 ; Genre & Russo, 2016). L'acide jasmonique (JA), une oxylipine, joue aussi un rôle dans le maintien et le fonctionnement de cette endosymbiose (Liu *et al.*, 2007 ; Foo *et al.*, 2013 ; Tisserant *et al.*, 2013 ; Laparre *et al.*, 2014). Cette oxylipine est également un signal d'activation de mécanismes de défense de croissance et de développement des plantes (Wasternack et Feussner, 2018). Le génotype de la plante sélectionne activement parmi les PGPM et détermine la nature de l'interaction résultante (Blanke *et al.*, 2005 ; An *et al.*, 2010 ; Goh *et al.*, 2013 ; Smith et Smith, 2015). Les plantes manipulent les PGPM et améliorent les interactions qui les aident à faire face à des environnements stressants (Goh *et al.*, 2013). Les plantes établissent donc avec un rhizobiome diversifié



des interactions symbiotiques qui sont utilisées aujourd'hui en agroécologie comme engrais verts (Calonne *et al.*, 2014) et agents de lutte biologique (Yu, 2016).

Cependant cette utilisation agroécologique ne semble pas exploiter suffisamment le potentiel de ces interactions dans bien des cas (Smith et Goodman, 1999 ; Goh *et al.*, 2013 ; Goh *et al.*, 2018). Le maintien de la productivité des cultures dans des conditions de stress demeure une importante problématique qui menace la production alimentaire mondiale (Daryanto *et al.*, 2016 ; Fahad *et al.*, 2017). Les stress d'origine biotique des plantes constituent l'une des limitations les plus chroniques de la production alimentaire mondiale. Étant donné l'augmentation de la population et le dérèglement climatique, il est essentiel de pouvoir nourrir le monde de manière sûre, écologique, fiable et rentable (Yu, 2016). Le recours aux pesticides de synthèse reste la méthode de lutte la plus largement utilisée, malgré les préoccupations croissantes concernant leurs nuisances chroniques et cumulatives sur la santé publique et l'environnement. Les stratégies de gestion durable des nuisibles exigent le développement de solutions alternatives pour compléter et réduire notre utilisation de pesticides de synthèse. Les approches de lutte biologique qui utilisent des micro-organismes bénéfiques associés aux plantes pour lutter contre les maladies sont extrêmement prometteuses (Yu, 2016). Les stress d'origine abiotique sont aussi aggravés par le changement climatique qui entraîne leur apparition beaucoup plus rapidement. Ceci est particulièrement vrai pour le déficit hydrique (Trenberth *et al.*, 2014 ; Fischer et Knutti, 2015). Il est donc important d'améliorer la capacité des plantes à résister à des stress de déficit hydrique prolongés, à s'y adapter et à s'en remettre rapidement. Cependant, les plantes ne font pas face au stress hydrique de manière isolée. Les communautés microbiennes associées aux plantes peuvent améliorer la tolérance des plantes, et par conséquent, la productivité des cultures dans des conditions de sécheresse.

À ce jour, de nombreuses méthodes de lutte biologique ont été étudiées et certaines sont disponibles dans le commerce (Yu, 2016). Toutefois, de nombreux microorganismes qui présentent un grand potentiel en termes d'efficacité comme agents de lutte biologique dans des conditions de laboratoire ou de serre, n'ont pas toujours une performance constante dans les essais au champ (Thomashow, 1996 ; Compant *et al.*, 2005). C'est pourquoi la compréhension des mécanismes d'interaction avec les hôtes et le développement de protocoles d'application efficaces restent des domaines à explorer afin de concrétiser les promesses de la lutte biologique. En effet, dans le souci d'améliorer la disponibilité, la cohérence et la performance de la lutte biologique, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires d'interaction plante - microbe est nécessaire. Cette compréhension peut contribuer à la gestion des maladies d'origine biotique et des désordres physiologiques. La manipulation correcte des gènes et des partenaires impliqués dans ces

interactions peut permettre de mieux les exploiter à des fins de gestion efficiente de stress, d'amélioration végétale ou de transgénèse.

Il est maintenant bien établi que les lipoxygénases (13-LOX et 9-LOX), composants régulateurs clés des voies de synthèse et de signalisation des oxylipines chez les plantes, affectent les interactions avec d'importants microorganismes de la rhizosphère (Wasternack et Feussner, 2018). Si la régulation de la transduction des signaux oxylipines intervenant dans les interactions plante - microsymbiote - pathogène par les lipoxygénases 13-LOX est bien documentée (Feussner et Wasternack, 2002 ; Delker *et al.*, 2006 ; Hause *et al.*, 2009 ; Wasternack, 2014 ; Wasternack et Feussner, 2018), celle des lipoxygénases 9-LOX n'est pas élucidée. Il importe de noter que la mutation de gènes intervenant dans la voie 9-ZmLOX de synthèse des oxylipines chez le maïs, affecte différemment l'architecture racinaire et les interactions allélopathiques racine – racine. Elle affecte également les interactions avec le champignon symbiotique *Trichoderma virens* et la tolérance aux stress comme la sécheresse, la maladie parasitaire et l'herbivorie (Blée, 2002 ; Delker *et al.*, 2006 ; Gao *et al.*, 2007 ; Djonović *et al.*, 2007 ; Gao *et al.*, 2008 ; Gao *et al.*, 2009 ; Hause *et al.*, 2009 ; Constantino *et al.*, 2013 ; Christensen *et al.*, 2014 ; Christensen *et al.*, 2016). Ainsi, différents mutants *9-zmlox* du maïs produisent différents phénotypes écologiques (Gao *et al.*, 2008). Les mutations peuvent donc être responsables de la sensibilité ou de la résistance des lignées à divers stress. Les travaux de la présente étude portent, en partie, sur l'analyse fonctionnelle de *9-ZmLOX3-4* et *9-ZmLOX12-1*, deux gènes *9-LOX* du maïs, impliqués dans la synthèse d'oxylipines dérivés de la voie 9-LOX et aussi de JA. En effet, l'effet des inactivations des gènes *9-ZmLOX* sur la colonisation racinaire par les CMA et les PGPP et le contrôle par ces PGPM de maladies parasitaires et du stress hydrique n'ont jamais été étudiés alors que des connaissances résultant de tels sujets d'étude peuvent permettre de proposer de nouvelles solutions de lutte intégrée. Le choix du maïs comme plante d'étude se justifie par le fait qu'il constitue une plante modèle d'intérêt agronomique et économique mondial, y compris en Côte d'Ivoire, et que l'accès à ses mutants *9-zmlox* est garanti au sein du Department of Plant Pathology and Microbiology (Texas A&M University, USA).

Par ailleurs, le mécanisme de l'interaction entre champignon mycorhizien arbusculaire (CMA) et *Pseudomonas* promotrice de la croissance des plantes (PGPP) ou racines végétales, sécrétant des substances antifongiques telles que les phénazines ou l'hévéine (Koo *et al.*, 2002 ; Sosa Rodriguez *et al.*, 2013 ; Noonan *et al.*, 2017) a très peu été étudié. En d'autres termes, dans la perspective d'une coinoculation, comment le CMA *R. irregularis* survit-il en présence d'un PGPP excréteur de phénazines comme *P. chlororaphis* ? La même interrogation se pose aussi dans le cadre d'une interaction entre CMA et les

exsudations racinaires antifongiques du type hévéine de certaines plantes comme l'hévéa. Les travaux de la présente étude sont menés pour répondre également à ces questions de recherche et à l'induction de résistance par les CMA contre le stress de déficit hydrique chez l'hévéa, principal facteur limitant de la promotion de l'hévéaculture au centre de la Côte d'Ivoire.

Il a aussi été démontré que la prémycorhization a systématiquement empêché ou réduit une colonisation ultérieure des racines de la luzerne par des rhizobiums et vice versa (Catford *et al.*, 2003). Il est clair qu'il existe un mécanisme de régulation *via planta* des interactions entre microbes symbiotiques à étudier entre CMA et PGPP dans le cadre de cette étude. En outre, une interaction quadripartite plante - microsymbiote - pathogène - vecteur de pathogène a rarement été étudiée. La maladie émergente sur tomate due à *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) transmise par le psylle *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Callaway, 2008 ; Wang *et al.*, 2017) paraît donc un cas d'étude bien indiqué qui sera par ailleurs abordé lors de ce travail. Cette maladie est une menace mondiale y compris en Côte d'Ivoire pour l'industrie de cultures de grand intérêt économique et scientifique (en tant que plante modèle) comme la tomate et la pomme de terre (Callaway, 2008 ; Wang *et al.*, 2017).

Quatre principales questions de recherche portant sur les interactions plante - microbe mutualiste - agents vecteurs et/ou agents de stress ont donc été abordées au cours de cette thèse de doctorat. En premier lieu, l'effet de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* sur la résistance du maïs à l'antracnose foliaire et au stress de déficit hydrique a été analysé. L'antracnose foliaire et le stress de déficit hydrique sont parmi les importants facteurs limitants de la productivité du maïs dans le monde y compris en Côte d'Ivoire. En outre, l'agent causal de l'antracnose est un organisme modèle pour les pathogènes fongiques hémibiotrophes. Parallèlement à cette investigation, l'effet de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* sur la colonisation racinaire du maïs et sur la résistance systémique induite par les CMA et/ou les PGPP vis-à-vis des stress biotique et abiotique susmentionnés a été aussi analysé en second lieu. Il y avait également de savoir si les antibiotiques phénazines produites par le PGPP étaient inducteurs de résistance systémique. En troisième lieu, le type d'interaction rhizosphérique qui existerait entre le CMA d'une part et le PGPP ou les racines de végétaux exsudant des substances antifongiques d'autre part a été aussi examiné. Enfin, l'effet de la prémycorhization de la tomate sur l'incidence et la sévérité de la bactériose causée par les haplotypes A et B de Lso (LsoA et LsoB respectivement) et sur l'oviposition et le développement de nymphes issues de l'haplotype "Nord-Ouest" du psylle vecteur a été étudié.

Six hypothèses ont fait l'objet de vérification au cours de cette étude :

1. Les gènes *9-ZmLOX3* et/ou *9-ZmLOX12* sont des facteurs génétiques de susceptibilité vis à vis du stress de déficit hydrique ou de l'antracnose foliaire du maïs.
2. Les gènes *9-ZmLOX3* et/ou *9-ZmLOX12* impactent négativement la résistance induite par le CMA et le PGPP vis-à-vis du stress hydrique ou de l'antracnose foliaire du maïs.
3. Les phénazines produites par *P. chlororaphis* 30-84 sont (i) responsables de l'antagonisme direct contre l'agent causal de l'antracnose foliaire et (ii) inducteurs de résistance systémique chez les lignées sensibles mais de susceptibilité chez les lignées résistantes à l'antracnose foliaire.
4. Le CMA *R. irregularis* (i) a un mécanisme de résistance aux phénazines produites par le PGPP et aux exsudats racinaires antifongiques de type hévéine et (ii) induit une résistance contre le stress hydrique chez l'hévéa.
5. La prémycorhization impacte différenciellement l'oviposition et le taux de survie des nymphes issues de psylles vecteur de LsoA ou LsoB.
6. La prémycorhization réduit l'incidence de la bactériose de la tomate en fonction des haplotypes Lso mais n'affecte ni la sévérité de la maladie, ni la translocation du pathogène dans la plante.

La démarche méthodologique au moyen de plans factoriels est d'une part de la génétique inverse (avec types sauvages et mutants *9-zmlox*) et d'autre part une analyse comparative des réponses d'espèces de plants à l'inoculation de microsymbiotes et aux effets des stress susmentionnés.

L'objectif global de cette étude consiste dans un premier volet en une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires des interactions plantes - microbes - agents de stress à des fins de gestion efficiente de ces stress et de création variétale. Dans un second volet, il consiste en la promotion des microsymbiotes comme agents de lutte biologique et solution alternative à la lutte chimique.

Les objectifs spécifiques du premier volet de l'objectif global sont la caractérisation des effets de l'inactivation des deux gènes lipoxygénases *9-ZmLOX* dans les interactions multipartites du maïs avec des microorganismes bénéfiques et des microorganismes pathogènes ou avec un facteur de stress abiotique. Ils visent également la mise en évidence de mécanisme de résistance des CMA à certaines substances antifongiques. Les objectifs spécifiques du second volet de l'objectif global visent la caractérisation du potentiel des CMA et des PGPP à contrôler des entités pathogènes et leurs vecteurs.

La suite de ce présent manuscrit est divisée en quatre parties. La première partie est une revue bibliographique sur le maïs, la tomate et l'hévéa, la description des microsymbiotes de l'étude, l'état des connaissances sur les lipoxygénases, l'anthracnose foliaire du maïs et la bactériose à Lso. Cette partie s'achève avec les effets du stress hydrique sur les plantes et leurs réponses. La deuxième partie du manuscrit porte sur la méthodologie pour confirmer ou infirmer les hypothèses de recherche. La troisième et la quatrième partie présentent respectivement les résultats obtenus et leurs discussions. Le manuscrit se termine par une conclusion et des perspectives de recherche.

**PREMIÈRE PARTIE :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION

Toute étude sur l'interaction entre plantes et microorganismes symbiotiques en vue de gérer des maladies parasitaires ou non parasitaires doit reposer sur une bonne connaissance des entités impliquées dans la symbiose et dans les pathosystèmes. La présente revue de littérature, qui fait l'état des lieux de ces connaissances, est articulée en six (06) chapitres :

- le chapitre 1 présente des généralités sur l'origine, l'aire de culture, la systématique, la morphologie, l'écologie, l'importance socio-économique et les facteurs de stress du maïs, de la tomate et de l'hévéa ;
- dans le chapitre 2, sont consignées des généralités sur la biologie et le fonctionnement des microsymbiotes rhizobactéries du genre *Pseudomonas* promotrices de la croissance des plantes et des champignons mycorhiziens arbusculaires ;
- dans le chapitre 3, sont présentées des généralités sur les régulateurs lipoxygénases des signaux oxylipiques intervenant dans les interactions symbiotiques et les pathosystèmes ;
- les chapitres 4, 5 et 6, respectivement, font l'état de l'art sur les pathosystèmes de l'antracnose foliaire du maïs, de la bactériose de la tomate due à *Candidatus Liberibacter solanacearum* et le stress généré par le déficit hydrique.

## CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LE MAÏS, LA TOMATE ET L'HÉVÉA

### 1.1. Généralités sur le maïs

#### 1.1.1. Origine et aires de culture du maïs

Originnaire de l'Amérique centrale, le maïs est la seule plante cultivée d'importance alimentaire et économique dont l'ancêtre n'ait été connu avec certitude qu'en 2002 (Matsuoka *et al.*, 2002 ; Katz, 2006). Domesticqué dans la région centre-sud du Mexique (Rio Balsas, Oaxaca) à partir de téosinte locale (Benz, 2001 ; Eubanks, 2001 ; Smith, 2001 ; Matsuoka *et al.*, 2002 ; Hastorf, 2009 ; Ranere *et al.*, 2009), la culture du maïs s'est ensuite propagée sur l'ensemble du continent Américain, des Andes au Canada, puis à partir du XVI<sup>ème</sup> siècle sur tous les continents en zone tropicale comme en zone tempérée. Il serait arrivé en Afrique au XVII<sup>e</sup> siècle (Doebley et Iltis, 1980).

### 1.1.2. Classification taxonomique du maïs

De nombreux noms vernaculaires ont été attribués à cette céréale, notamment « blé indien », « blé de Turquie » et « blé de Barbarie » (Anzala, 2006). Son nom scientifique lui a été attribué par Linné en 1753. La taxonomie du maïs établie par Cronquist en 1981 se présente comme suit (Anzala, 2006) :

<b>Règne :</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement :</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe :</b>	<i>Liliopsida</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Poales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Poaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Zea</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Zea mays</i> L.

### 1.1.3. Importance du maïs

Le maïs est l'une des céréales les plus cultivées dans le monde. Il est utilisé dans divers domaines, notamment dans les industries et dans la nutrition où il constitue l'un des aliments de base de nombreux pays tropicaux (Scott et Emery, 2016). Dans les industries agro-alimentaires, il intervient dans la fabrication de boissons alcoolisées, d'amidon, d'huile, etc. Le maïs intervient également dans la production de colle, d'édulcorant, de produits pharmaceutiques, etc. Dans l'alimentation humaine quotidienne, il est consommé sous forme de farine, semoule et de grains (Scott et Emery, 2016). En Afrique Subsaharienne, le maïs est produit principalement pour l'alimentation humaine, soit frais ou en produit transformé. En outre, le maïs sert à l'alimentation animale et a des utilisations industrielles sous forme d'amidon, de farine, d'éthanol, de sirop de cuisson et croustillante (Siene *et al.*, 2020). En Côte d'Ivoire, le maïs est la deuxième céréale la plus cultivée après le riz (*Oryza* spp.). Sa production est passée de 661 285 tonnes en 2013 à 1 025 000 tonnes en 2017 et cette culture fait ainsi, l'objet d'une spéculation agricole (Kouakou *et al.*, 2010 ; Noufé *et al.*, 2011 ; N'da *et al.*, 2013 ; Akanza et N'da, 2018 ; Siene *et al.*, 2020). Cependant, la majorité de la production nationale est réalisée par des petits producteurs agricoles, dont la plupart produit 1 à 2 tonnes par campagne agricole (Siene *et al.*, 2020). En Côte d'Ivoire, le maïs joue un rôle prépondérant comme culture de subsistance, commerciale et à caractère socioculturel. Il est présent dans toutes les zones rurales. Sa production est destinée à l'alimentation humaine sous forme d'épi frais en zone côtière et sous forme de semoule au nord du pays où il fait partie des aliments de base pour les populations. Il est également utilisé dans l'alimentation animale et dans l'élevage moderne (Kouakou *et al.*, 2010 ; N'da *et al.*, 2013 ; Akanza et N'da, 2018 ; Siene *et al.*, 2020).



#### 1.1.4. Morphologie d'un pied de maïs

Le maïs est une herbacée annuelle dont la hauteur à maturité varie entre 2 et 4 m selon les variétés. Cette plante possède une tige constituée d'un empilement de nœuds et d'entrenœuds (Song *et al.*, 2016). Selon les variétés, la plante mature porte entre 15 et 20 feuilles, de grandes tailles (jusqu'à 10 cm de large et 1 m de long) et à phyllotaxie opposée distique (Song *et al.*, 2016). L'inflorescence mâle est une panicule et l'inflorescence femelle, un épi (Hoopen et Maïga, 2012). Le maïs est une plante monoïque dicline dont la fécondation est beaucoup plus une allogamie qu'une autogamie (Scott et Emery, 2016). Le cycle végétatif du maïs dure de 90 jours (variétés précoces) à 120 jours (variétés tardives) (Hoopen et Maïga, 2012). Son développement végétatif est conditionné par des facteurs édaphoclimatiques qui assurent un bon développement lorsqu'ils sont à leur optimum (Hoopen et Maïga, 2012 ; Scott et Emery, 2016).

#### 1.1.5. Conditions édaphoclimatiques pour la culture du maïs

Le maïs, pour une meilleure croissance et un bon développement, requiert des sols de type limon sableux, profonds, bien structurés et riches en éléments nutritifs (Manzeke *et al.*, 2012 ; Uzoh *et al.*, 2019). De plus, le sol doit être régulièrement approvisionné en eau et le pH doit être compris entre 6 et 7,5. Le plant de maïs se développe bien dans les zones tropicales. Il peut être cultivé dans plusieurs types de végétation. Cependant la zone propice à sa culture est la savane avec une pluviométrie allant de 800 à 1 200 mm et un ensoleillement important qui réduit le parasitisme. La température optimale pour la culture se situe entre 15 et 19 °C (Hoopen et Maïga, 2012).

#### 1.1.6. Bioagresseurs du maïs

Les insectes ravageurs du maïs causent d'énormes dégâts sur les pieds au champ et sur les grains en stock. Les principaux insectes ravageurs sont *Sesamia calamistis*, *Eldana saccharina*, *Ostrinia nubilalis* et *Busseola fusca* (Moyal, 1998 ; Oloyede-kamiyo *et al.*, 2012). La production du maïs est également menacée par une plante parasite, *Striga hermonthica* (Kim *et al.*, 2002). Les principales maladies parasitaires du maïs sont : la striure du maïs, la mosaïque virale du maïs, la fonte des semis due à *Pythium* spp., les helminthosporioses dues à des espèces ascomycètes de la famille des *Pleosporaceae* (*Cochliobolus carbonum*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Setosphaeria turcica*), l'antracnose foliaire et la pourriture de la tige causées par *Colletotrichum graminicola*, la fusariose des épis par *Fusarium verticillioides* et la rouille due à *Puccinia polysora* (Sharma *et al.*, 1993 ; Juroszek et Tiedemann, 2013 ; Redinbaugh et Zambrano, 2014 ; Subedi, 2015).

### 1.1.7. Stress abiotiques du maïs

Le stress abiotique est causé par un déficit ou un excès d'un facteur environnemental (Leclerc, 1999 ; Calatayud *et al.*, 2013) :

- le stress lié à l'eau qui est le fait d'un déficit ou d'un excès en eau (Calatayud *et al.*, 2013) ;
- le stress thermique qui est induit par des températures extrêmes (chaudes et froides) pour le maïs (Calatayud *et al.*, 2013) ;
- le stress salin résulte d'une concentration excessive en sel dans le milieu de culture, principalement en ions Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> (Calatayud *et al.*, 2013) ;
- Aux stress susmentionnés s'ajoutent les stress dus aux fortes ou faibles intensités lumineuses, à la pollution de l'air, au vent et aux métaux lourds (Calatayud *et al.*, 2013).

## 1.2. Généralités sur la tomate

### 1.2.1. Origine et aires de culture de la tomate

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) est une espèce de la famille des *Solanaceae*. Cette plante est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et au Moyen-Orient (Naika *et al.*, 2005).

### 1.2.2. Classification taxonomique de la tomate

La classification taxonomique proposée par Heuvelink (2005) est comme suit :

<b>Règne :</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous règne :</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Embranchement :</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe :</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe :</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Solanales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Solanaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Solanum</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Solanum lycopersicum</i> L.

### 1.2.3. Importance de la culture de tomate

La tomate est l'une des cultures les plus répandues à travers le monde. Elle devient de plus en plus importante avec une production mondiale actuelle qui s'élève à environ 182 millions de tonnes (Coulibaly *et al.*, 2019) et une superficie cultivée à 4 millions d'hectares (Coulibaly *et al.*, 2019). En Côte d'Ivoire, la

tomate est le "légume" le plus consommé et représente un important complément alimentaire pour la population ivoirienne (Coulibaly *et al.*, 2019). Cette culture occupe une place très importante dans la vie socio-économique de la population ivoirienne car source importante de revenus pour les producteurs. Elle est beaucoup pratiquée dans les zones urbaines et périurbaines et sa production au niveau nationale varie entre 22 000 et 35 000 tonnes (Coulibaly *et al.*, 2019).

#### **1.2.4. Morphologie d'un pied de tomate**

La tomate est dotée d'une forte racine pivotante qui croît jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. Cette racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventives (Naika *et al.*, 2005).

La tige croît jusqu'à une longueur de 2 à 4 m. La tige est pleine, fortement duveteuse et glandulaire (Naika *et al.*, 2005). Le port de croissance érigé ou prostré, peut-être de type indéterminé ou déterminé. Les plants de tomate à port indéterminé nécessitent des tailles pour limiter la croissance et provoquer de nouvelles floraisons et qui demandent souvent un tuteurage. La plante produit sept à dix feuilles et une inflorescence puis trois feuilles et une seconde inflorescence, ceci indéfiniment (Atherton et Rudich, 1986). Les plants à port déterminé ont un développement de type buissonnant et ne nécessitent ni taille ni bouturage. La plante arrête son développement après deux à cinq inflorescences. Les pousses latérales stoppent leur développement après une à trois inflorescences (Heuvelink, 2018). Les fleurs sont bisexuées, régulières et ont entre 1,5 et 2 cm de diamètre. Le tube du calice est court et duveté. Les sépales sont persistants. En général, il y a six pétales qui peuvent atteindre 1 cm de longueur. Ils sont jaunes et courbés lorsqu'ils sont épanouis. La plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu. Les abeilles et les bourdons sont les principaux pollinisateurs (Naika *et al.*, 2005).

Les feuilles sont disposées en spirale. Elles mesurent 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont couvertes de poils glandulaires. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm (Heuvelink, 2018).

Le fruit est une baie, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre entre 2 et 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et duveteux. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers (Heuvelink, 2018).

Les graines sont nombreuses et sont réniformes ou piriformes. Elles sont duveteuses, beiges et mesurent 3 à 5 mm de long pour 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. Le poids de mille graines vaut approximativement 2,5 à 3,5 g (Naika *et al.*, 2005).

### 1.2.5. Conditions édaphoclimatiques pour la culture de tomate

La culture de la tomate exige un climat relativement frais pour fournir une bonne récolte. La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 10 à 15 °C en pépinière et 21 et 24 °C au champ. En dessous de 10°C et au-dessus de 38°C, les tissus des plantes sont endommagés (Atherton et Rudich, 1986). Une pluviométrie de l'ordre de 1500 mm, régulièrement répartie pendant le cycle cultural est idéale pour la culture de tomate. Du semis à la floraison, les besoins en eau sont de 5 mm par jour en moyenne. Ces besoins doublent pratiquement à la floraison (Courchinoux, 2008). La tomate exige des sols profonds, bien drainés et riches en matière organique. Elle tolère aussi des sols légers, légèrement humides mais bien drainés (Heuvelink, 2018).

### 1.2.6. Bioagresseurs de la tomate

La tomate est sujette à de nombreux bioagresseurs animaux (Naika *et al.*, 2005). Le genre le plus fréquent des nématodes phytoparasites est *Meloidogyne*. Il cause des galles sur les racines. Dans ces conditions, la croissance de la plante est ralentie, son feuillage jaunit et elle devient très sensible à la sécheresse. Environ 30 % de la récolte des pays tropicaux est perdu à cause des nématodes (Reddy, 1985 ; Roberts, 1986 ; Siddiqui et Shaukat, 2002). *Helicoverpa armigera* est un lépidoptère de la famille des *Noctuidae* dont les chenilles arpeuteuses consomment les jeunes feuilles de tomate. C'est au deuxième stade larvaire que la chenille pénètre dans les fruits et les perce de galeries, les rendant ainsi non commercialisables (Mandaokar *et al.*, 2000 ; Talekar *et al.*, 2006 ; Bhonwong *et al.*, 2009). Les attaques peuvent entraîner la destruction des boutons floraux, la chute des jeunes fruits et la dépréciation des fruits. Des cas d'infestation de parcelles à 100 % sont fréquents (Srinivasan *et al.*, 1994 ; Mandaokar *et al.*, 2000 ; Talekar *et al.*, 2006 ; Bhonwong *et al.*, 2009). Les aleurodes des serres (*Trialeurodes vaporariorum*), dont les adultes sont communément appelés mouches blanches, sucent essentiellement les feuilles. Ils produisent du miellat qui favorise l'apparition de fumagine (Duffus *et al.*, 1996 ; Puthoff *et al.*, 2010). Un autre ravageur, *Bemisia tabaci*, est rencontré fréquemment dans les champs de tomate. Cet insecte piqueur-suceur favorise également la transmission de virus, et provoque des pertes importantes de rendement (Heinz et Zalom, 1995 ; Puthoff *et al.*, 2010).

Outre les bioagresseurs animaux, il y a les pathogènes microbiens. Le flétrissement bactérien est provoqué par *Ralstonia solanacearum*. Il débute au sommet de la plante, suivi 2 à 3 jours après d'un flétrissement entier soudain et permanent sans jaunissement. Par la suite on observe un ramollissement et noircissement de la tige suivis de la mort de la plante (Hasegawa *et al.*, 2019 ; Madrid, 2019 ; Pontes *et al.*, 2019). La maladie provoque des pertes de rendement élevées avec des incidences allant jusqu'à 50 % de perte

(Hasegawa *et al.*, 2019 ; Madrid, 2019 ; Pontes *et al.*, 2019). Une autre pathologie de la tomate est le chancre bactérien dont l'agent causal est *Clavibacter michiganense*. C'est une maladie qui sévit dans le monde entier. L'agent pathogène est disséminé par le biais de graines infectées ou de substrat de culture contaminée. Les feuilles des plantes infectées jaunissent, flétrissent puis se dessèchent. Dans la plante, les tissus vasculaires des tiges montrent des stries dont la couleur varie du jaune clair au brun (Gautam *et al.*, 2019 ; Khalid *et al.*, 2019). Les mycoses sont fréquentes sur la tomate. L'alternariose est une maladie causée par *Alternaria dauci* f. sp. *solani*. Ce champignon s'attaque aux feuilles de la tomate. L'agent pathogène est disséminé par le biais de graines infectées, du vent, de la pluie, etc. Il demeure aussi dans les débris de culture infectés laissés dans les champs. Des taches rondes et brunes avec des cercles concentriques apparaissent sur les feuilles (Ayad *et al.*, 2019 ; Poudel *et al.*, 2019 ; Roy *et al.*, 2019). Le mildiou est une autre maladie fongique provoquée par *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. En général, l'agent pathogène se propage par le biais des restes de culture. De légères taches foncées avec un point jaune en leur centre sont visibles sur les feuilles. Sur le côté inférieur des feuilles, les taches sont blanches. Les tiges et les fruits peuvent également être contaminés (Naika *et al.*, 2005).

### **1.2.7. Stress abiotiques de la tomate**

La tomate est cultivée dans diverses zones climatiques (Chaudhary *et al.*, 2019). La productivité et le rendement des cultures sont gravement affectés par les conditions environnementales changeantes. Par conséquent, les grandes zones de culture de tomate ont adopté la culture sous serre pour maintenir un approvisionnement ininterrompu tout au long de l'année (Chaudhary *et al.*, 2019). Non seulement le coût de production est plus élevé dans la culture sous serre, mais une accumulation rapide de nitrates, de phosphates et une salinité élevée dans le sol sont observés, entraînant finalement la dégradation du sol et la pollution des eaux souterraines ou de surface (Chaudhary *et al.*, 2019). Les conditions de stress abiotiques imposées par les régimes extrêmes d'eau et de température, le déséquilibre nutritionnel du substrat du sol, la toxicité élémentaire et la salinité élevée sont les principaux facteurs limitant la production de tomates (Chaudhary *et al.*, 2019 ; Guo *et al.*, 2019). Les stress abiotiques deviennent plus complexes dans des conditions de terrain où plus d'un facteur de stress coïncident généralement (Chaudhary *et al.*, 2019). Plus insidieusement, ces stress abiotiques peuvent aussi entraîner une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène, déclenchant des dommages induits par l'oxydation, comme l'oxydation des protéines, de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou des lipides, la destruction des pigments photosynthétiques et l'inactivation des enzymes photosynthétiques, mettant ainsi davantage en danger la viabilité cellulaire (Apel et Hirt, 2004 ; Bailey-Serres et Mittler, 2006 ; Kissoudis *et al.*, 2016 ; Bai *et al.*, 2018).

### 1.3. Généralités sur l'hévéa

#### 1.3.1. Origine et aires de culture de l'hévéa

Le genre *Hevea* est originaire d'Amérique du Sud où on le rencontre dans tout le bassin amazonien (Montoro *et al.*, 2010). Il a été introduit à la fin du XIV<sup>ème</sup> siècle en Extrême-Orient et plus récemment au XIX<sup>ème</sup> siècle en Afrique (Brindoumi, 2015). Actuellement, l'hévéa est cultivé de part et d'autre de l'équateur, dans une zone comprise entre le 20° Nord (sud de la Chine) et le 15° Sud (Montoro *et al.*, 2010).

#### 1.3.2. Classification taxonomique de l'hévéa

La taxonomie de l'hévéa est la suivante (Montoro *et al.*, 2010) :

<b>Règne :</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement :</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe :</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Malpighiales (Euphorbiales)</i>
<b>Famille :</b>	<i>Euphorbiaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Hevea</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Hevea brasiliensis</i> Müll. Arg. (1865)

#### 1.3.3. Importance de l'hévéa

L'hévéa est surtout cultivé pour son latex, un liquide blanc contenant des particules de caoutchouc. Ce liquide en présence d'air et mélangé à de l'eau se coagule. Ces coagulas sont appelés fonds de tasses. Le latex est utilisé dans la fabrication de caoutchouc léger tel que les sachets et les tétines (Brindoumi, 2015). Les fonds de tasses sont quant à eux nécessaires pour la confection de caoutchouc lourd comme les pneus. À la fin de la période d'exploitation, son bois peut également être utilisé comme bois d'œuvre et bois de chauffe (Roux et Pagès, 1994). Les clones d'hévéa les plus cultivés en Côte d'Ivoire sont IRCA 331, IRCA 111, IRCA 109, IRCA 130, IRCA 18, GT 1, PR 107 (Kouadio *et al.*, 2017). La production mondiale en 2015 de caoutchouc naturel sec s'est établie à 11 900 000 tonnes. L'Afrique a fourni 595 000 tonnes soit 5 % de cette production. La Côte d'Ivoire se situe au 1<sup>er</sup> rang des producteurs africains de caoutchouc naturel et au 8<sup>ème</sup> rang mondial (Kouadio *et al.*, 2017). Au niveau de l'Afrique, la Côte d'Ivoire est le seul pays dont la production a augmenté de façon constante entre 2002 et 2012. Toutefois, le potentiel de l'hévéaculture ivoirienne est considérablement limité par d'importantes maladies d'ordre physiologiques et parasitaires (Kouadio *et al.*, 2017).

#### 1.3.4. Morphologie d'un pied d'hévéa

*Hevea brasiliensis* Müll. Arg. est un arbre de forêt pouvant atteindre 40 à 50 m de hauteur (Montoro *et al.*, 2010). Il a un tronc d'un à trois mètres de circonférence et peut vivre plus de 100 ans. Son bois est homogène et tendre (Brindoumi, 2015). En plantation, sa durée de vie économique est de 30 à 35 ans, voire 40 ans dont une période immature de 5 à 6 ans selon les clones (Roux et Pagès, 1994). L'hévéa a un cycle annuel de végétation avec une défoliation en saison sèche (Montoro *et al.*, 2010). La fonction laticifère est le fait de cellules spécialisées (les vaisseaux laticifères) localisées dans l'écorce et dans la totalité des tissus non ligneux (Brindoumi, 2015). Ces cellules constituent un réseau communicant, assurant ainsi un écoulement prolongé du latex après la saignée (Roux et Pagès, 1994).

Les feuilles sont composées de quatre à cinq folioles disposées à l'extrémité d'un long pétiole (Montoro *et al.*, 2010). Ces folioles sont longues, pédonculées, glabres et acuminées. Le diamètre de la feuille adulte est de 15 à 20 cm (Gébelin, 2006).

L'hévéa possède des fleurs unisexuées sur le même pied : c'est un arbre monoïque dicline. Les fleurs sont regroupées en inflorescence conique appelée racème (Roux et Pagès, 1994).

Le fruit de l'hévéa est une capsule déhiscente à trois ou cinq loges, contenant chacune une graine oléagineuse. L'enveloppe du fruit, d'abord verte et riche en latex, sèche puis jaunit (Brindoumi, 2015).

Les graines d'hévéa, d'une taille de 2 à 3 cm dans leur plus grande dimension, sont généralement oblongues, lisses et assez brillantes. Elles sont revêtues d'un tégument coriace, brun, brillant, décoré de tâches blanchâtres (Montoro *et al.*, 2010). Le nombre de graines par capsule, leur forme, leurs dimensions et l'intensité des colorations sont des caractères d'identification variétale (Gébelin, 2006).

De forme conique, le tronc de l'hévéa est constitué de bois, partie centrale dure, et de liber ou écorce (Montoro *et al.*, 2010). Le bois est un matériau résistant qui conserve sa structure fondamentale. Le liber est un tissu complexe composé de vaisseaux lactifères, du tube et des cellules compagnes des éléments parenchymateux (Brindoumi, 2015).

L'écorce est la partie la plus importante pour le planteur ; car c'est elle qui est exploitée. Elle est verte grisâtre et constituée de deux parties principales (Gébelin, 2006) qui sont :

- ✓ L'écorce externe, dure qui contient principalement des anciens vaisseaux laticifères (inactifs) ;
- ✓ L'écorce interne, tendre qui contient principalement des jeunes vaisseaux laticifères (actifs) produisant du latex (Brindoumi, 2015).

Le système racinaire de l'hévéa est à la fois traçant et pivotant. Les racines pivotantes jouent un rôle d'ancrage et d'alimentation (Montoro *et al.*, 2010). La plus importante prolifération de radicelles a lieu dans l'horizon supérieur du sol et représente environ 60 % du total. Quant au système racinaire traçant, il se développe à partir de 10 à 15 racines latérales issues du pivot au-dessous du collet (Gébelin, 2006). Ces racines latérales peuvent atteindre 10 m et plus et se subdivisent en une chevelure plus ou moins dense de radicelles (Roux et Pagès, 1994).

### **1.3.5. Conditions édaphoclimatiques de l'hévéaculture**

La culture d'hévéa exige un climat de type forestier. L'hévéa ne prospère qu'en climat équatorial ou tropical humide. La température moyenne optimale recommandée est de 25 °C, en évitant des minima inférieurs à 15 °C (Montoro *et al.*, 2010). En tant que plante de lumière, l'hévéa exige un minimum de 1500 à 1800 heures d'ensoleillement par an. Les vents violents peuvent causer de gros dégâts dans les plantations d'hévéa par déracinement ou casse de troncs et de branches (Montoro *et al.*, 2010).

La pluviosité est un facteur très important pour la création d'une plantation d'hévéa. La hauteur d'eau recommandée varie entre 1500 et 3000 mm par an. Le manque d'eau peut provoquer un stress du plant et par la suite entraîner sa mort (Gébelin, 2006).

L'hévéa pour son développement demande des sols profonds en raison de l'importance de son système racinaire, plus particulièrement de son pivot (Brindoumi, 2015). En plus de sa profondeur, le sol doit avoir une bonne capacité de rétention en eau. C'est pourquoi les sols hydromorphes et superficiels sont à éviter. Le sol, dans sa structure, doit contenir au minimum 20 % d'argile près de la surface et 25 % à 50 cm de profondeur (Montoro *et al.*, 2010). La plantation d'hévéa peut être réalisée aussi bien sur terrain plat que sur terrain accidenté. Les terrains plats sont cependant préférés pour éviter les travaux antiérosifs qui sont très souvent coûteux (Montoro *et al.*, 2010).

### **1.3.6. Bioagresseurs de l'hévéa**

La pourriture des racines due au basidiomycète *Fomes lignosus* est la plus grave des maladies de l'hévéa en Côte d'Ivoire (Kouadio *et al.*, 2017). Ce champignon du sol, qui se développe sur les souches encore vivantes après abattage des arbres de forêt, se transmet d'arbre en arbre par les racines latérales (Wastie, 1975 ; Sniezko *et al.*, 2012 ; Manju *et al.*, 2015).

La maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa ou South American Leaf Blight (SALB) est une maladie provoquée par un champignon ascomycète, *Microcyclus ulei*. C'est la plus grave des maladies foliaires qui



affecte l'arbre à caoutchouc et qui empêche le développement de sa culture sur le continent américain (Wastie, 1975 ; Snieszko *et al.*, 2012 ; Manju *et al.*, 2015).

### 1.3.7. Stress abiotiques de l'hévéa

Selon les travaux de Gébelin *et al.* (2013), l'excès de radiation solaire et de température conduit à une chlorose des feuilles.

L'encoche sèche, ce syndrome qui se traduit par un arrêt total ou partiel de l'écoulement du latex, est devenue une priorité dans les programmes de recherche en hévéaculture (Wastie, 1975 ; Manju *et al.*, 2015). Il se produit un dysfonctionnement des cellules qui produisent le latex (cellules laticifères) et *in fine* la coagulation du latex. Ce phénomène est expliqué en partie par l'apparition d'un stress oxydatif correspondant à la production anormale d'espèces actives de l'oxygène capables de dégrader les membranes des lutoïdes (organites présents dans le latex) libérant des agents coagulants (hévéine) du latex.

La nécrose du phloème du tronc (TPN) est une contrainte majeure de l'hévéa découverte dans les années 1980 (Pellegrin *et al.*, 2007 ; de Faÿ, 2011 ; Kouadio *et al.*, 2017). Elle se distinguait de l'encoche sèche du panneau de saignée (TPD) de l'arbre à latex par ses symptômes macroscopiques et son origine biotique présumée (Pellegrin *et al.*, 2007 ; de Faÿ, 2011). Mais peu d'attention a été accordée à ses caractéristiques microscopiques. Il existe maintenant des preuves que les deux syndromes pourraient être liés à une altération du métabolisme du cyanure (de Faÿ, 2011). En effet, d'une part, aux fins de détecter un agent causal de la maladie, des études axées sur la caractérisation de pathogènes connus et transmis mécaniquement (p. ex. viroïdes, virus cryptiques ou phytoplasmes) ont été entreprises. Des brins d'Acide Ribonucléique (ARN) de faible poids moléculaire (200 - 400 et >500 pb) présentant des similitudes structurelles avec les viroïdes et les ARN double brin (ARNdb) viraux ont été observés dans divers échantillons testés. Cependant, les tentatives visant à démontrer le rôle potentiel de ces molécules d'ARN dans la propagation de la maladie ont échoué (Pellegrin *et al.*, 2007). Tout d'abord, il n'y avait pas de corrélation significative ou reproductible entre l'état de santé des arbres échantillonnés et ces molécules d'ARN (Pellegrin *et al.*, 2007). De plus, aucune homologie de séquence avec des pathogènes connus n'a pu être trouvée lorsque des fragments d'Acide Désoxyribonucléique complémentaires (ADNc) isolés d'arbres présentant les symptômes de la maladie et amplifiés au hasard ont été séquencés (Pellegrin *et al.*, 2007).

En conclusion, les investigations étiologiques, afin de démontrer la présence d'un pathogène responsable de la maladie TPN, ont été non concluantes ; ce qui tend à réfuter l'hypothèse d'un agent causal biotique (Pellegrin *et al.*, 2007). D'autre part, afin de caractériser le TPN et de le comparer microscopiquement au

TPD, le phloème interne des panneaux de saignée d'arbres sains et atteints de TPN a été analysé par microscopie photonique et électronique à transmission (de Faÿ, 2011). Le phloème affecté par le TPN présentait des caractéristiques structurales et ultrastructurales nombreuses et variées. Des signes de détérioration cellulaire ont été observés dans un grand nombre de cellules spécialisées, c'est-à-dire les laticifères et les tubes criblés, et dans des cellules peu spécialisées, c'est-à-dire les cellules parenchymateuses et les cellules compagnes (de Faÿ, 2011). On a également observé des signes de dédifférenciation cellulaire dans d'autres cellules parenchymateuses, par exemple en tylosoïdes et cellules hyperplasiques (de Faÿ, 2011). Ces cellules, dérivées de cellules parenchymateuses, engloutissaient des laticifères dans lesquels le latex coagulait. De nombreuses caractéristiques structurales de la TPN sont communes à la TPD, notamment les tylosoïdes associés au latex coagulé *in situ*, qui sont également connus pour être des marqueurs structurels précoces de la TPD et induits par du cyanure (de Faÿ, 2011). Il a donc été conclu que la TPN est identique ou est une variante de la TPD et qu'il s'agit d'une maladie dégénérative du phloème du tronc de l'arbre à caoutchouc qui ressemble, sous certains aspects, à la réponse au stress des plantes, à la mort cellulaire programmée et à la tumorigenèse des plantes (de Faÿ, 2011).

## CHAPITRE 2 : RHIZOBACTÉRIES ET CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS

### PROMOTEURS DE LA CROISSANCE DES PLANTES

#### 2.1. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), des bactéries bénéfiques pour les plantes qui vivent dans la rhizosphère végétale, ont le potentiel d'améliorer l'adaptation des plantes à la sécheresse, directement ou indirectement. Parmi les effets directs des PGPR, on peut citer la promotion de changements dans la croissance et le développement des plantes (en particulier l'architecture du système racinaire) pour améliorer l'absorption de l'eau et des nutriments, la modification de la régulation stomatique, la production de solutés compatibles, la médiation du stress redox, la synthèse ou le catabolisme de métabolites qui agissent comme des hormones végétales, la production de composés organiques volatils, ou l'exploitation d'autres voies de réponse au stress des plantes (Berendsen *et al.*, 2012 ; Farag *et al.*, 2013 ; Nadeem *et al.*, 2014 ; Ngumbi et Kloepper, 2016 ; Naylor et Coleman-Derr, 2018). En outre, le PGPR peut apporter d'importants avantages indirects à la croissance et au développement des plantes grâce à l'amélioration de la structure du sol et à l'augmentation de la rétention d'eau dans le sol (Chang *et al.*, 2007 ; Naseem et Bano, 2014 ; LeTourneau *et al.*, 2018). En outre, des éléments indiquent que les plantes recrutent des communautés microbiennes spécifiques dans leur rhizosphère (Bergsma-Vlami *et al.*, 2005 ; Haichar *et al.*, 2008 ; Mendes *et al.*, 2014 ; Yan *et al.*, 2017). Cela se produit principalement par des modifications des schémas de rhizodéposition, y compris les apports de carbone et d'azote (Rovira, 1959 ; Latour *et al.*, 1996). La rhizodéposition est une caractéristique variable dans le temps et dans l'espace influencée par le génotype de la plante (Rengel *et al.*, 1998 ; Miethling *et al.*, 2000 ; Berg *et al.*, 2002 ; Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2004 ; Mazzola *et al.*, 2004 ; Berg *et al.*, 2006 ; İnceoğlu *et al.*, 2012) et les conditions environnementales (Baudoin *et al.*, 2003 ; Henry *et al.*, 2007 ; Song *et al.*, 2012 ; Calvo *et al.*, 2017). En d'autres termes, les plantes peuvent recruter des populations plus importantes de microorganismes de la rhizosphère dans certaines conditions, et des éléments indiquent que cette sélection dépend fortement des capacités fonctionnelles plutôt que de la taxonomie de ces communautés (Mendes *et al.*, 2014 ; Yan *et al.*, 2017). La compréhension de l'influence des fonctionnalités microbiennes qui sont à la fois prévalentes et bénéfiques dans l'agriculture des zones stressantes permettra de tirer parti de ces interactions plantes-microbes pour améliorer la productivité des plantes dans l'agriculture des zones stressantes.

### 2.1.1. *Pseudomonas* promotrices de la croissance des plantes

Les *Pseudomonas* fluorescentes ont été largement étudiées pour des applications de lutte biologique en raison de leur large gamme d'hôtes et de leur antagonisme efficace contre de nombreux pathogènes du sol (Pierson et Pierson, 2010). La production de métabolites secondaires est souvent cruciale pour une suppression efficace des maladies (Haas et Défago, 2005). Les métabolites secondaires connus pour être produits par les *Pseudomonas* de lutte biologique comprennent le 2,4-diacétylphloroglucinol, les phénazines, la pyolutiorine, la pyrrolnitrine et le cyanure d'hydrogène, ainsi que des exoenzymes, dont la chitinase et les exoprotéases. De nombreuses études ont démontré qu'un ou plusieurs de ces traits sont essentiels pour le contrôle des agents phytopathogènes dans la rhizosphère (Budzikiewicz, 1993 ; Cook *et al.*, 1995 ; Raaijmakers *et al.*, 2002 ; Haas et Défago, 2005 ; Mercado-Blanco et Bakker, 2007 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009). Outre l'antagonisme direct de l'agent pathogène, il a été démontré que certains de ces métabolites et d'autres métabolites secondaires contribuent à la suppression de la maladie par le biais de la compétition écologique avec des agents pathogènes majeurs et mineurs, de la stimulation de la croissance des plantes et de l'induction de la résistance de l'hôte (Thomashow et Weller, 1988 ; Gardener et Fravel, 2002 ; Haas et Défago, 2005 ; Pal et Gardener, 2006 ; Timper *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2011).

L'une des souches de *Pseudomonas* fluorescentes servant comme modèle d'étude est *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. Elle est utilisée dans la lutte biologique. *P. chlororaphis* 30-84 a été sélectionnée à l'origine comme souche de lutte biologique ayant le potentiel pour contrôler la maladie du piétin échaudage du blé causée par *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt) (Pierson et Thomashow, 1992). Fait important, elle a été isolée dans la rhizosphère d'un champ de blé au Kansas où un déclin naturel de la maladie a été observé. Comme d'autres *Pseudomonas* agents de contrôle biologique, il possède un arsenal de métabolites secondaires qui peuvent contribuer à sa capacité à inhiber les pathogènes fongiques et à supprimer la maladie. Ces métabolites comprennent la production de phénazines, de pyrrolnitrine, de cyanure d'hydrogène et d'enzymes extracellulaires, par exemple les exoprotéases, les chitinases, les gélatinases et les lipases (Chancey *et al.*, 1999 ; Loper *et al.*, 2012). Des études ultérieures ont démontré que les phénazines représentent la majorité de la capacité de la souche à inhiber l'agent pathogène cible (Thomashow *et al.*, 1990). Comme décrit au point 2.1 de ce chapitre, il a également été démontré que les phénazines contribuent à d'autres aspects de l'aptitude bactérienne et des interactions plante-microbe.

### 2.1.2. Phénazines

Les phénazines sont une classe de composés hétérocycliques diffusibles qui diffèrent les uns des autres par la substitution de divers groupes fonctionnels sur le noyau de la structure cyclique de la phénazine (Mavrodi

*et al.*, 2001 ; Mavrodi *et al.*, 2006 ; Biessy et Filion, 2018). Les phénazines sont produites par divers genres de bactéries, dont *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Burkholderia*, *Vibrio*, *Brevibacterium* et *Erwinia* (Turner et Messenger, 1986 ; Mavrodi *et al.*, 2006 ; Mentel *et al.*, 2009 ; Mavrodi *et al.*, 2010 ; Pierson et Pierson, 2010). Parmi les souches de PGPR, il a été démontré que la production de phénazines contribue à l'inhibition de divers agents pathogènes des plantes et à la suppression des maladies des plantes qu'ils provoquent (Thomashow et Weller, 1988 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2001 ; Mavrodi *et al.*, 2006 ; Pierson et Pierson, 2010 ; Cezairliyan *et al.*, 2013 ; Zhou *et al.*, 2016), ainsi qu'à la compétence rhizosphérique des producteurs (Mazzola *et al.*, 1992 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003). Les phénazines contribuent également à la formation et à l'architecture des biofilms et améliorent la production de la matrice extracellulaire (Price-Whelan *et al.*, 2006 ; Maddula *et al.*, 2006 ; Maddula *et al.*, 2008 ; Das *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2016). Les phénazines sont des métabolites actifs d'oxydoréduction qui ont été largement étudiés chez les pathogènes humains, en grande partie en raison de leur capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) nuisibles pour l'hôte (Mavrodi *et al.*, 2001 ; Price-Whelan *et al.*, 2006 ; Pierson et Pierson, 2010). Les composés de phénazines produits par les espèces de *Pseudomonas* sont des métabolites biologiquement actifs qui fonctionnent dans la compétitivité microbienne (Mazzola *et al.*, 1992 ; Beifuss et Tietze, 2005 ; Pierson et Pierson, 2010), le transport d'électrons (Price-Whelan *et al.*, 2007 ; Wang et Newman, 2008 ; Wang *et al.*, 2016), et comme signaux d'activation de gènes (Dietrich *et al.*, 2006, Wang *et al.*, 2016).

Il a été signalé que les bactéries productrices de phénazines sont répandues dans les rhizosphères du blé cultivé en milieu aride. Par exemple, Mavrodi *et al.* (2012) ont rapporté qu'à Washington, aux États-Unis, des *Pseudomonas* indigènes ayant des gènes biosynthétiques de phénazines ont été détectées à des fréquences plus élevées et en plus grand nombre sur les racines du blé d'hiver cultivé en production aride par rapport à la production irriguée. Ces études ont porté sur la présence de souches de *Pseudomonas* possédant les gènes de production de métabolites secondaires bactériens liés à la suppression des maladies des plantes, en particulier les phénazines ou le 2,4-diacétylphloroglucinol. Il a également été signalé que la fréquence des systèmes racinaires de blé colonisés par des *Pseudomonas* ayant des gènes de biosynthèse de phénazines était inversement liée aux précipitations annuelles, ce qui suggère que les *Pseudomonas* productrices de phénazines se portent mieux dans les rhizosphères de blé connaissant une faible humidité du sol (Mavrodi *et al.*, 2012). Plus récemment, Mavrodi *et al.* (2018) ont démontré que trois années d'irrigation aérienne appliquées à un site de production en zone aride dans l'État de Washington réduisaient de manière significative la fréquence et la taille des populations de rhizosphère de blé de *Pseudomonas* indigènes ayant des gènes biosynthétiques de phénazines par rapport aux parcelles adjacentes non irriguées.

Au Texas, Ries (2017) a signalé que les populations de *Pseudomonas* ayant des gènes de biosynthèse de phénazines étaient généralement plus élevées dans les rhizosphères des cultivars de blé TAM 111 et TAM 112 tolérants à la sécheresse, par rapport au cultivar TAM 304 sensible à la sécheresse. Cette tendance était plus prononcée lorsque les cultivars étaient cultivés dans un sol prélevé sur un site de production en zone sèche à long terme, par rapport à un sol prélevé sur un site de production irrigué à long terme adjacent. Ces résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle le blé et les Poacées pourraient sélectionner cette fonctionnalité bactérienne, la production de phénazines, dans des conditions de faible humidité du sol.

La plupart des souches de *Pseudomonas* productrices de phénazine produisent plus d'un dérivé de phénazine, mais il existe des souches telles que *P. fluorescens* 2-79 qui ne produisent qu'une seule phénazine, l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA) (Mavrodi *et al.*, 2006 ; Pierson et Pierson, 2010). La production de phénazines nécessite un opéron *Phz* à sept gènes conservés qui codent les enzymes de synthèse du PCA, comme phénazine de base. Chez *P. chlororaphis* 30-84, les gènes de l'opéron biosynthétique sont désignés par *phzXYFABCD* selon la nomenclature originale, ce qui correspond à *phzABCDEFG* selon la nomenclature de *P. fluorescens* (Pierson *et al.*, 1995 ; Mavrodi *et al.*, 2006). Le noyau de la phénazine PCA peut être modifié en d'autres dérivés de la phénazine par des enzymes modificateurs spécifiques, souvent appelées enzymes modificateurs terminaux (Figure 1). Par exemple, *P. chlororaphis* 30-84 produit un mélange de dérivés de phénazine comprenant du PCA et une petite quantité (~10 %) d'acide 2-hydroxy-phénazine-carboxylique (2OHPCA) et de 2-hydroxy-phénazine (2OHPZ) (Pierson et Thomashow, 1992 ; Pierson *et al.*, 1995). Le gène modificateur terminal *phzO*, qui est situé immédiatement en aval de l'opéron *Phz*, code une monooxygénase aromatique bactérienne (Delaney *et al.*, 2001). Il est responsable de la conversion d'une petite quantité de PCA en 2OHPCA, et la 2OHPZ est générée à partir du 2OHPCA par la perte spontanée de l'acide carboxylique (Pierson *et al.*, 1995 ; Delaney *et al.*, 2001) (Figure 1). En plus de la souche 30-84, une autre souche de biocontrôle de *P. chlororaphis* PCL1931 contient du *phzH* au lieu de *phzO*. Ce gène modificateur terminal code une transamidase présumée responsable de la conversion d'une part de PCA en phénazine-1-carboxamide (PCN) (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998) (Figure 1).

L'analyse bio-informatique et biochimique des *Pseudomonas* productrices de phénazines montre qu'elles contiennent une diversité d'enzymes de modification terminale et que de nombreuses souches utilisent de multiples enzymes ou des combinaisons de ces enzymes pour produire de multiples dérivés structurels de la phénazine (Mavrodi *et al.*, 2006 ; Mavrodi *et al.*, 2010 ; Pierson et Pierson, 2010). Par exemple, *P. aeruginosa* utilise plusieurs gènes différents, seuls ou en combinaison, dont *phzH*, *phzM*, *phzS* et

*phzM/phzS*, pour produire respectivement le phénazine-1-carboxamide (PCN), l'acide 5-méthoxy-phénazine-1-carboxylique (5MPCA), la 1-hydroxy-phénazine (1OHPZ) et la pyocyanine (PYO) (Figure 1).

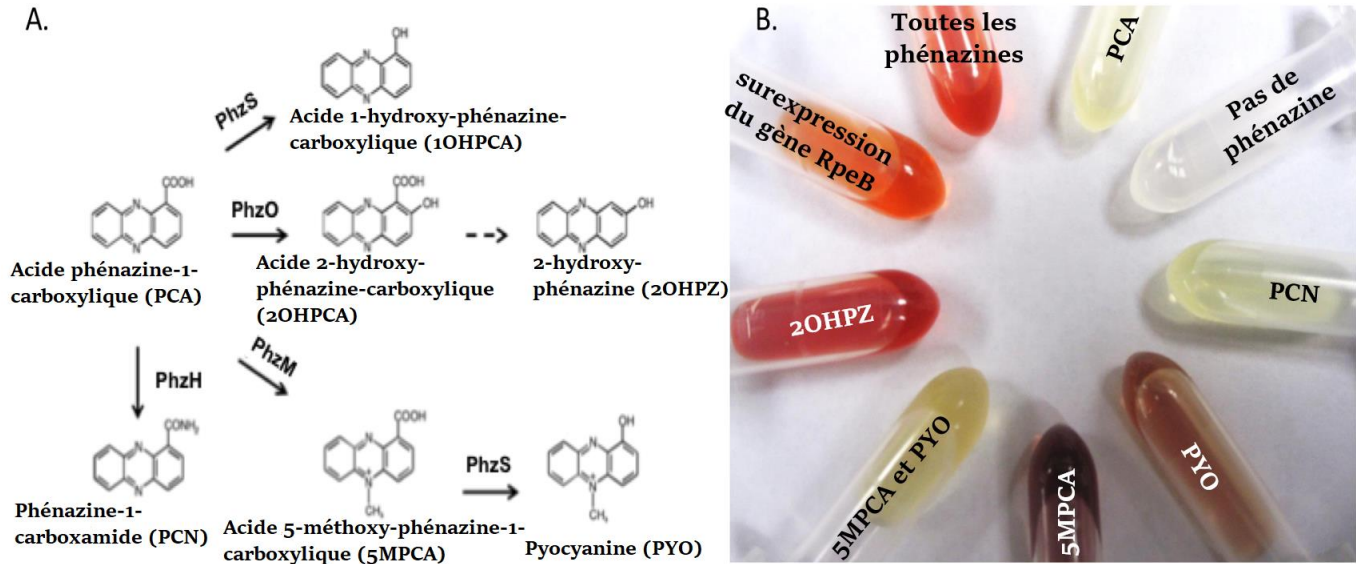


Figure 1. Biosynthèse et phénotypes des dérivés de l'acide phénazine-1-carboxylique

**A.** Biosynthèse de l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA) à partir de l'acide chorismique via l'opéron *phz* et conversion en ses dérivés de phénazine par différentes enzymes de modification terminale. Cette figure a été modifiée d'après Chin-A-Woeng *et al.* (2003).

**B.** Phénazines extraites de dérivés isogéniques de la souche 30-84 qui produisent différents types de phénazines. Ces dérivés se présentent dans le sens horaire à partir de 1 heure : PCA, absence de phénazines (mutant spontané *gacA*), PCN, PYO, 5MPCA, mélange 5MPCA et PYO, 2OHPZ, Phénazines avec surexpression du gène *RpeB*, toutes les phénazines du type sauvage 30-84.

La production de phénazines est gouvernée par l'opéron *Phz* et est sous le contrôle de systèmes conservés de transduction de signaux à deux composants dont le "regulation global system GacS / GacA" (Driscoll *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2013) et le "quorum sensing system PhzR / PhzI" (Wood et Pierson, 1996 ; Maddula *et al.*, 2006). Les phénazines régulent aussi l'expression de gènes assurant la compétence rhizosphérique de *P. chlororaphis* et *P. aeruginosa* (Ramos *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2016). Elles induisent aussi l'activation de voies de défense dans la plante. Ces voies de défense peuvent être amorcées et régulées par la voie de signalisation d'oxylipines jasmonates (Ryu *et al.*, 2004 ; Audrain *et al.*, 2015 ; Sharifi et Ryu, 2016).

## 2.2. Champignons endomycorhiziens

Les plantes par leurs racines peuvent s'associer avec un champignon mycorhizien (Bonfante, 2001 ; Bianciotto et Bonfante, 2002 ; Bonfante et Genre, 2008 ; Bonfante et Genre, 2010 ; Fiorilli *et al.*, 2018 ; Bonfante, 2018) dans une relation de mutualisme nommée mycorhize (Parniske, 2008). Il existe trois principaux types de mycorhizes en fonction de la plante hôte, du champignon impliqué et des structures particulières formées : les ectomycorhizes, les ectendomycorhizes et les endomycorhizes (Smith et Read, 2008). La particularité des endomycorhizes est la présence de structures fongiques à l'intérieur des cellules

corticales de la plante hôte. On en distingue deux types en fonction de la morphologie de l'appareil fongique intracellulaire : les mycorhizes à pelotons et les mycorhizes à arbuscules (Smith et Read, 2008).

Chez les mycorhizes à pelotons, il se forme très rarement un réseau intercellulaire et l'infection se propage directement d'une cellule à l'autre. L'hyphe pénètre à l'intérieur de la cellule du cortex racinaire et s'enroule sur lui-même pour former un peloton (Smith et Read, 2008).

Dans l'autre type d'endomycorhizes, l'hyphe se ramifie plusieurs fois à l'intérieur des cellules pour former une structure rappelant celle d'un petit arbre : l'arbuscule. Les mycorhizes à arbuscules, aussi appelées endomycorhizes arbusculaires, sont les plus répandues au monde, et font l'objet d'une revue détaillée au paragraphe 2.2.1 ci-après. Les plantes endomycorhizées peuvent être des végétaux herbacés ou ligneux (Smith et Read, 2008). Dans certains cas, des hyphes se dilatent à leurs extrémités pour former des sortes d'ampoules inter- ou intracellulaires appelées vésicules (Smith et Read, 2008).

### **2.2.1. Systématique des champignons mycorhiziens arbusculaires**

La première classification des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) était basée principalement sur la morphologie des spores et les CMA étaient considérés comme des Zygomycètes (ordre des *Glomales*). Cependant, le développement d'outils moléculaires, ces dernières années, a fait évoluer cette classification (Redecker et Raab, 2006). Elle est maintenant basée principalement sur l'analyse et la comparaison de séquences du gène codant pour l'ARN ribosomique 18S (ADNr 18S) qui est l'un des principaux constituants de la petite sous-unité des ribosomes fongiques. Sur la base des séquences de l'ADNr 18S, les CMA sont aujourd'hui regroupés dans le phylum des *Glomeromycota* (Hibbett *et al.*, 2007). La première espèce qui a été décrite est *Glomus microcarpum*, et elle est considérée comme l'espèce type du nouveau phylum. Au total, plus de 200 espèces sont décrites et réparties en quatre ordres différents : *Archaeosporales*, *Paraglomerales*, *Diversisporales* et *Glomerales* (Schüßler *et al.*, 2001). Une phylogénie a pu être établie, revue et actualisée par (Redecker *et al.*, 2013). Toutes les espèces décrites dans le phylum des *Glomeromycota* vivent en interaction symbiotique avec les racines de plantes terrestres sauf une, *Geosiphon pyriformis*, qui forme une endosymbiose avec une cyanobactérie photosynthétique et fixatrice d'azote du genre *Nostoc* (Gehrig *et al.*, 1996).

### **2.2.2. Biologie des champignons mycorhiziens arbusculaires et cycle de développement**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) sont des symbiotes obligatoires. Ils obtiennent l'essentiel de leurs ressources en carbone de leur partenaire phototrophe. Ils sont incapables de compléter leur cycle de vie en absence de relation symbiotique (Bonfante et Perotto, 1995). Ces champignons sont



cœnocytiqes, les spores comme les autres organes sont donc polynucléées (Pawlowska et Taylor, 2004). Hormis l'observation de zygospores chez *Gigaspora decipiens*, les Gloméromycètes ne présentent qu'une reproduction asexuée.

Le développement des CMA se divise en trois phases : la germination des spores, la pénétration dans la plante hôte suivie du développement d'hyphes intra-radiculaires et le développement d'un mycélium extraradulaire (Pawlowska et Taylor, 2004). La mise en place de la symbiose est simplifiée en trois étapes (Figure 2) :

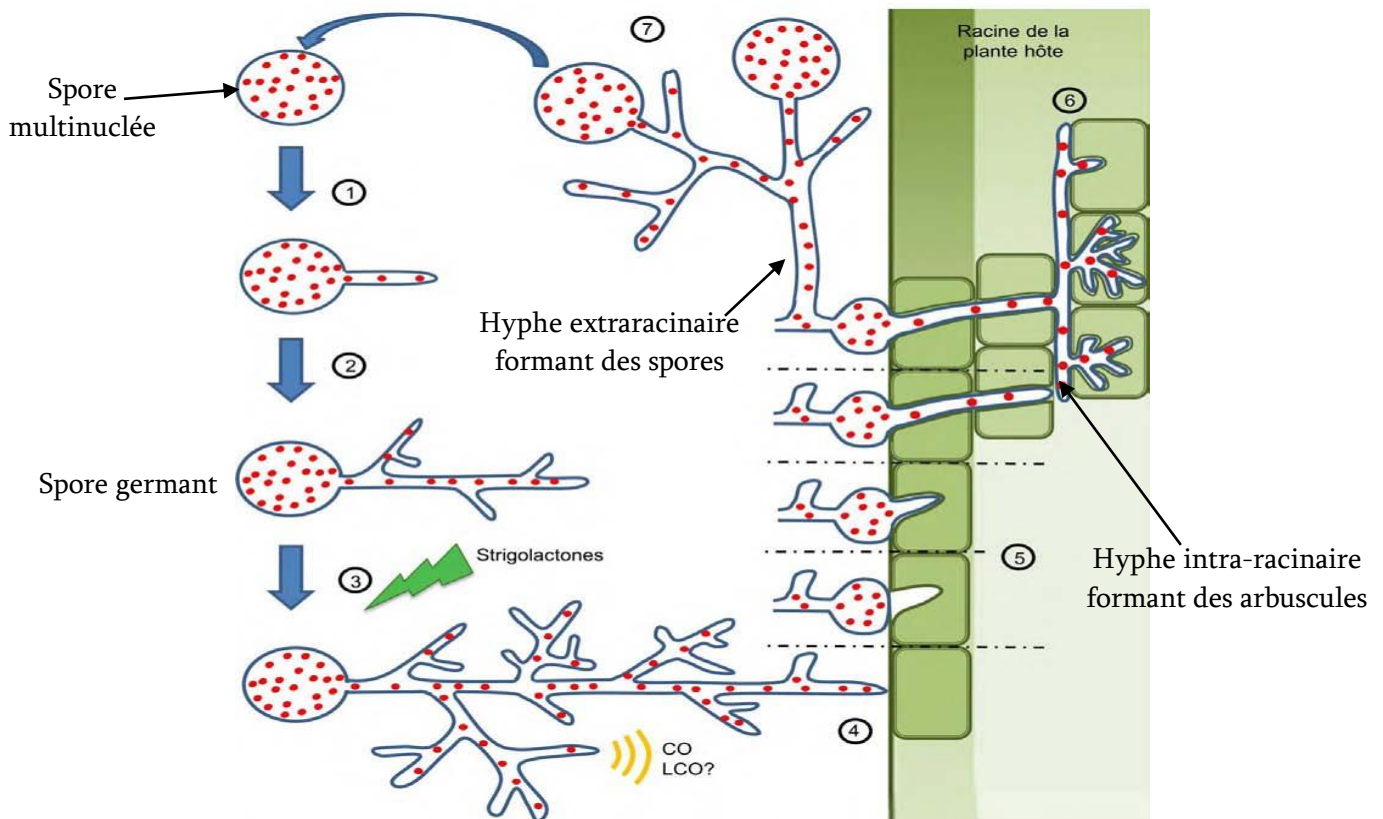


Figure 2. Cycle de développement des champignons mycorhiziens arbusculaires

Légende expliquée ci-dessous d'après Malbreil (2014).

- **Une phase asymbiotique.** Lorsque les conditions sont favorables, (1) les spores germent de manière autonome formant des hyphes cœnocytiqes ; (2) en absence d'hôte à proximité, la croissance est faible, le processus s'arrête, le cytoplasme se rétracte pour des germinations ultérieures (Malbreil, 2014).
- **Une phase pré-symbiotique.** Au voisinage d'une plante, les deux partenaires vont produire des signaux susceptibles d'établir la symbiose. Des exsudats racinaires de strigolactones (branching factor) et oxylipines entre autres induisent la germination des spores, la croissance et la ramification de l'hyphe, (3) la perception des strigolactones émises par les racines active la croissance fongique et stimule la

production de molécules signaux, les CO (Chito-oligosaccharide) ou de LCO (lipo-chito-oligosaccharide) et la ramification des hyphes jusqu'à ce que ; (4) l'hyphes atteigne la racine (Gillard *et al.*, 2013 ; Malbreil, 2014 ; Limpens et Geurts, 2014 ; Malkov *et al.*, 2016 ; Rasmussen *et al.*, 2016).

- **Une phase symbiotique.** En cas de contact avec la racine, (5) les cellules végétales initient un programme d'accueil du champignon. Cela se traduit par l'invagination du plasmalemme en un système membranaire de pénétration que suit le champignon pour entrer (6) dans les cellules corticales racinaires. Ses hyphes intraracinaires forment alors des structures très ramifiées, les arbuscules, sites préférentiels d'échanges trophiques entre les deux partenaires. (7) Les hyphes extraracinaires se développent dans le sol. Ils puisent sels minéraux et eau qui sont transférés à la plante et ils forment de nouvelles spores complétant ainsi le cycle de vie (Malbreil, 2014).

### 2.2.3. Rôle et importance des endomycorhizes arbusculaires

#### 2.2.3.1. Biostabilisation du sol

Les champignons mycorrhiziens arbusculaires (CMA) ont un effet bénéfique sur la structure du sol. Les hyphes des CMA, présents en quantité importante dans les sols, possèdent la propriété d'agir sur la macroaggrégation des constituants du sol et donc sur sa stabilité (Bedini *et al.*, 2010 ; Wu *et al.*, 2014 ; Ferreira *et al.*, 2018). En effet, ces hyphes produisent une glycoprotéine extracellulaire, la glomaline (Cayenne et Scott, 2011), à laquelle des microaggrégats (d'un diamètre inférieur à 250  $\mu\text{m}$ ) s'attachent pour former des macroaggrégats stables (supérieur à 250  $\mu\text{m}$ ) (Sahraoui, 2013). Cette stabilité du sol permet de lutter contre l'érosion, la perte de nutriments et de la matière organique par lixiviation, entraînant ainsi une augmentation de la pénétration de l'air et de l'eau dans le sol et une hausse dans la productivité (Bedini *et al.*, 2010 ; Wu *et al.*, 2014 ; Ferreira *et al.*, 2018).

#### 2.2.3.2. Effets morphologiques et anatomiques

La colonisation des CMA entraîne une ramification accrue du système racinaire et surtout, une modification de l'architecture racinaire (Hamza, 2014). En effet, chez certaines plantes, une intensification de la prolifération des racines fines au détriment des racines pivotantes a été observée après mycorhization (Dalpé *et al.*, 2005). En plus, les hyphes extraracinaires du champignon, directement connectés sur le système racinaire de la plante, peuvent être considérés comme une extension de ce système racinaire. Ainsi la plante peut explorer un plus grand volume de sol (Garbaye, 2013).

### 2.2.3.3. Effets biochimiques et moléculaires

Les plantes mycorhizées produisent davantage d'éthylène, méthylent plus efficacement l'ADN (le préservant ainsi des dégradations) et synthétisent davantage d'arginine dans leurs racines (Garbaye, 2013). Toutes ces modifications sont les signes d'une hausse d'activités métaboliques et d'une protection indirecte des plantes contre les pathogènes (Garbaye, 2013). Cette protection indirecte se traduit au niveau cellulaire par des modifications anatomiques, métaboliques et physiologiques, ainsi que par l'induction de divers mécanismes de défense liés aux phytoalexines, phénols, peroxydases, chitinases,  $\beta$ -glucanases, à la lignification, à la déposition de callose et diverses autres protéines liées à la pathogénèse (protéines PR) (Garbaye, 2013). En outre, chez certaines plantes mycorhizées, une augmentation du taux de lignification des parois cellulaires de l'endoderme et des tissus vasculaires, et un dépôt de callose ont été notés. Ceci entraîne la restriction des propagules mycorhiziennes uniquement au cortex racinaire et s'accompagne d'une accumulation de composés phénoliques suivie d'une activité chitinolytique qui altère les parois de certains parasites fongiques (Garbaye, 2013).

### 2.2.3.4. Effets physiologiques et biofertilisation

Le rôle majeur des CMA est l'amélioration de la nutrition hydrique et minérale de la plante grâce à des transferts de l'eau et des éléments minéraux, en particulier le phosphore et l'azote, du CMA vers la plante hôte. Il en résulte une amélioration de la croissance des plantes mycorhizées (Sahraoui, 2013). En effet, l'élongation des hyphes extraracinaires augmente la surface de contact entre les minéraux du sol et la racine. Ceci permet l'exploration de zones non accessibles aux plantes non mycorhizées pour y prélever eau et nutriments et les transférer à la plante hôte (Khalvati *et al.*, 2005).

Les CMA sont capables d'hydrolyser les éléments minéraux sous la forme organique en inorganique pour les rendre disponibles dans le sol à la plante ou encore les transférer directement à la plante hôte à travers l'interface sol - hyphes extraracinaires (Feng *et al.*, 2002). Il est également connu que le CMA permet une meilleure absorption d'oligo-éléments peu mobiles tels que le cobalt, le cuivre, le fer, le manganèse et le zinc dans les sols et améliore la nutrition en ces éléments chez le soja et la luzerne (Malcová *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003 ; Chalk *et al.*, 2006 ; Estaún *et al.*, 2010 ; Wilson *et al.*, 2012 ; Garbaye, 2013 ; Sahraoui, 2013 ; Tamayo *et al.*, 2014 ; Nadeem *et al.*, 2014 ; Pozo *et al.*, 2015 ; Bi *et al.*, 2019).

Par ailleurs, lors de ses travaux sur la pastèque (*Citrullus lanatus*), Hamza (2014) a observé une mobilisation plus importante de P, K, Ca et Mg chez les plantes mycorhizées que chez les plantes non mycorhizées. Ces oligo-éléments jouent des rôles importants dans des activités enzymatiques impliquées dans la photosynthèse, la respiration oxydative, la protection contre les radicaux libres, ou encore, dans la

biosynthèse des lipides (Benhamdi, 2014). Les CMA ont donc cette propriété biofertilisante et biostimulante. Cela a été démontré chez la pomme de terre (Niemira *et al.*, 1995), de même que chez d'autres espèces végétales telles que chez le maïs, le niébé, le sésame et le soja (Neumann et George, 2009 ; Berta *et al.*, 2014 ; Oliveira *et al.*, 2017 ; Ghorchiani *et al.*, 2018 ; Hosseini *et al.*, 2018). Les CMA peuvent donc améliorer le rendement agricole et la qualité des productions végétales (Neumann et George, 2009 ; Berta *et al.*, 2014 ; Oliveira *et al.*, 2017 ; Ghorchiani *et al.*, 2018 ; Hosseini *et al.*, 2018).

#### **2.2.3.5. Amélioration du rendement agricole**

Plusieurs études ont rapporté que les CMA ont augmenté jusqu'à deux fois la productivité des plantes dans les prairies (Sahraoui, 2013). Selon Rajasekaran et Nagarajan (2005), l'apport d'inoculum mycorhizien en plein champ a amélioré la croissance de plusieurs espèces de légumineuses fourragères et la qualité de leur fourrage. Cette meilleure qualité du fourrage s'explique par l'amélioration de la nutrition minérale. En l'occurrence, les CMA contribuent à hauteur de 90 % dans l'absorption du phosphate (Sahraoui, 2013). Des données suggèrent que la mycorhization a non seulement un effet positif sur les différents paramètres de croissance et les rendements des plantes, mais peut aussi affecter la qualité des productions végétales (Berta *et al.*, 2014). Les CMA interviennent également dans la bioprotection des plantes.

#### **2.2.3.6. Induction de résistance systémique aux stress biotiques**

La lutte basée sur l'utilisation d'organismes antagonistes des agents phytopathogènes est une lutte biologique. Une des stratégies préventives de cette lutte consiste à stimuler les défenses naturelles des plantes par la mycorhization (Dalpé, 2005). En effet, il est reconnu que les dommages causés par certains parasites (bactéries, champignons ou nématodes) peuvent être atténués chez les plantes mycorhizées (Whipps, 2004). Le champignon utilise les exsudats racinaires pour ses propres besoins nutritionnels, réduisant la teneur en substrats carbonés simples du milieu rhizosphérique. Cette réduction nuit indirectement au développement des microorganismes phytopathogènes du sol (Sahraoui, 2013).

St-Arnaud *et al.* (1995) et Whipps (2004) ont affirmé que les CMA réduisent l'incidence et/ou la sévérité des maladies causées par certains champignons racinaires et foliaires, bactéries, et nématodes en déclenchant le "MIR" (Mycorrhiza-Induced Resistance) ou en synthétisant des inhibiteurs au développement de pathogènes tels que *Candidatus Phytoplasma asteris*, *Colletotrichum graminicola*, *Rhizoctonia praticola*, *Phytophthora cinnamoni*, *Pythium*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Verticillium*, *Aphanomyces*, *Rotylenchus*, *Pratylenchus* et *Meloidogyne*. La protection conférée par les CMA est non seulement locale mais également systémique résultant de la combinaison de plusieurs mécanismes d'actions (Sahraoui, 2013). Par ailleurs, les CMA confèrent aussi une résistance aux stress abiotiques.

### 2.2.3.7. Induction de résistance systémique aux stress abiotiques

La symbiose mycorhizienne améliore le développement des plantes en condition de stress abiotiques (salinité, sécheresse, et température élevée) en impliquant des mécanismes physiologiques et moléculaires peu connus (Augé, 2001 ; Ruiz-Lozano *et al.*, 2016 ; Sangay-Tucto, 2018). Le principal mécanisme consiste en l'amélioration de la nutrition minérale de la plante hôte et en la modification de la balance  $K^+/Na^+$ . Cet effet positif conduit à l'amélioration du statut nutritionnel (P, N, Mg et Ca) et à l'ajustement osmotique de la plante par l'accumulation des solutés compatibles (Augé, 2001 ; Ruiz-Lozano *et al.*, 2016 ; Sangay-Tucto, 2018). Plusieurs expériences portant sur les plantes vivrières ou fourragères, comme le blé, le maïs, l'oignon, le poivron, le soja ou le trèfle démontrent que les plantes mycorhizées ont une meilleure résistance au stress hydrique (Dalpé, 2005).

La colonisation mycorhizienne améliore également la croissance des plantes sous l'effet de la sécheresse par exemple, indirectement, en affectant la rétention de l'humidité du sol grâce à l'effet de la glomaline sur les agrégats hydrosolubles du sol (Wu *et al.*, 2008). En outre, la symbiose mycorhizienne arbusculaire améliore l'utilisation de l'eau et l'activité photosynthétique par la plante hôte (Sangay-Tucto, 2018). Elle augmente aussi l'activité des enzymes antioxydantes vis-à-vis des espèces réactives de l'oxygène, ROS, générées par les stress hydrique, salin et thermique (Sangay-Tucto, 2018).

Au niveau moléculaire, la symbiose mycorhizienne arbusculaire régule l'expression des gènes de la plante hôte impliqués dans la biosynthèse des solutés compatibles ou osmolytes. Par ailleurs, la symbiose régule positivement des gènes codant pour des aquaporines et des gènes codant des protéines LEA. La régulation de ces gènes permet aux plantes mycorhizées de maintenir le statut hydrique de leurs tissus (Sangay-Tucto, 2018). Ces études suggèrent que la symbiose mycorhizienne arbusculaire améliore la tolérance des plantes aux stress abiotiques par la combinaison d'effets biochimiques, nutritionnels, moléculaires et physiologiques résumés dans la Figure 3.

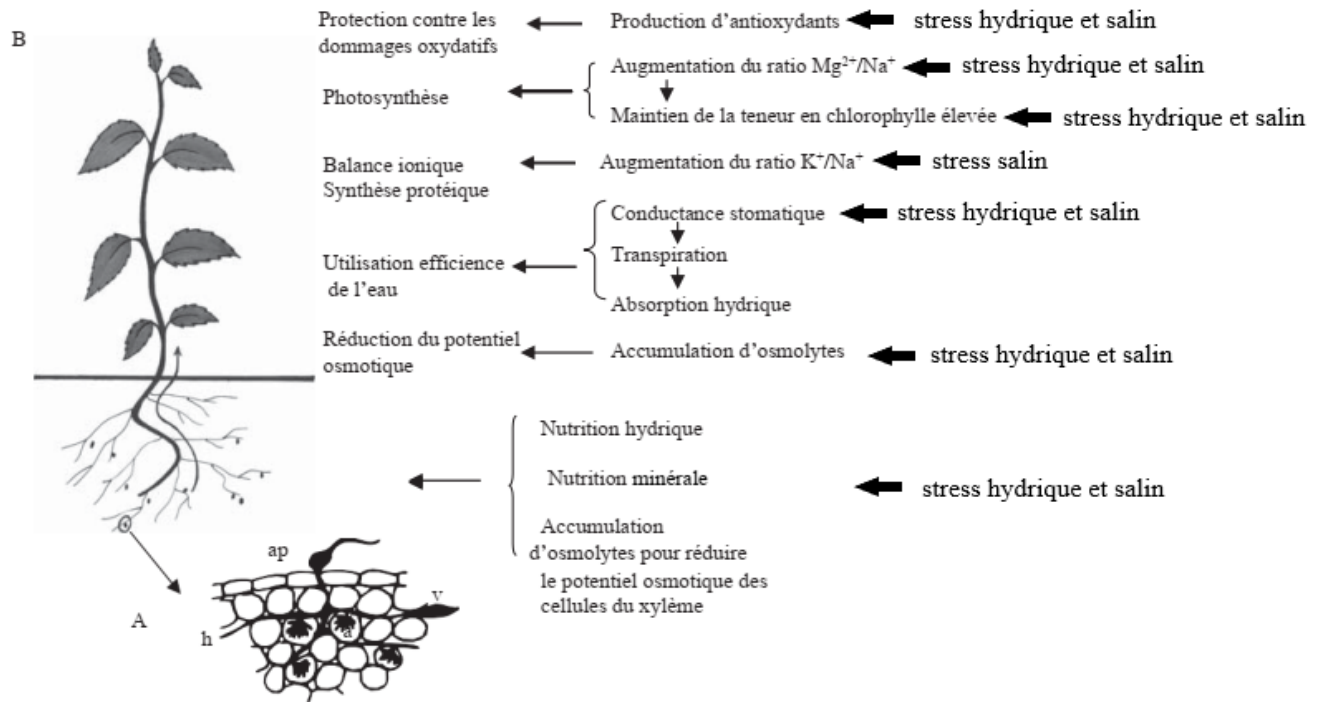


Figure 3. Mécanismes impliqués par la symbiose mycorhizienne arbusculaire dans l'amélioration de la tolérance des plantes aux stress abiotiques

Schéma modifié de Sangay-Tucto (2018). **A.** partie souterraine. **B.** partie aérienne. h : hyphes, v: vésicules. Dans la symbiose mycorhizienne arbusculaire, le champignon forme un appressorium (ap) à la surface de la racine et pénètre dans le cortex racinaire en étendant ses hyphes (h). Les hyphes forment des arbuscules (a) et des vésicules (v) dans le cortex.

## CHAPITRE 3 : LIPOXYGÉNASES, OXYLIPINES ET RÉPONSES AUX STRESS

### 3.1. Description des lipoxygénases et des oxylipines

Les lipoxygénases (LOX, EC 1.13.11.58 et EC 1.13.11.12) sont des dioxygénases non hémiques contenant du fer qui initient la biosynthèse d'hydroperoxydes d'acides gras (les oxylipines) à partir de substrats polyinsaturés (Wasternack et Feussner, 2018). Elles sont présentes dans les plantes, les animaux (Siedow, 2003), les champignons (Hamberg *et al.*, 1998), et chez certaines bactéries (Vance *et al.* 2004). Elles sont constituées d'une seule chaîne polypeptidique dont la masse molaire oscille entre 94 et 104 kDa (Brash, 1999). Les LOXs végétales ont un pH optimal compris entre 5,5 et 9,0 (Vick et Zimmerman, 1987).

Les gènes *LOX* sont les gènes qui codent pour les lipoxygénases (Feussner et Wasternack, 2002 ; Wasternack et Feussner, 2018). Les LOXs catalysent principalement deux types de réactions via la voie LOX : la dioxygénation des lipides (Feussner et Wasternack, 2002) et la conversion secondaire des hydroperoxydes (Feussner et Kühn, 1995). Les LOXs initient donc la synthèse des oxylipines, dérivés d'hydroperoxydes (Siedow, 2003). On retrouve les oxylipines dans le cytoplasme, dans les membranes et le stroma des chloroplastes et les mitochondries (Palmieri-Thiers, 2008). Un certain nombre d'oxylipines biologiquement actives sont formées de manière non-enzymatique par l'action d'espèces réactives de l'oxygène qui s'accumulent également en réponse à une infection pathogène, à une absorption de métaux lourds et à d'autres types de stress (Wasternack, 2007). Les oxylipines formées de façon non-enzymatique, y compris les hydroxy-acides gras et les phytoprostanes, jouent un rôle important dans la transduction des signaux d'activation de mécanismes de résistance aux stress (Wasternack, 2014).

Il existe de nombreuses isoformes de LOXs qui sont regroupés principalement en deux classes en fonction de la régiospécificité de leur action : les 9-LOX et les 13-LOX selon que l'oxygénation se produise à la position du carbone 9 ou 13 dans la chaîne carbonée des acides linoléiques (18 : 2) et linoléiques (18 : 3) (Isakeit *et al.*, 2007). Le génome nucléaire du maïs contient au moins 12 gènes LOX dont *ZmLOX3*, *ZmLOX10*, *ZmLOX11* et *ZmLOX12*. Les gènes *ZmLOX10* et *ZmLOX11* par exemple codent pour des 13-LOX, tandis que *ZmLOX12* et *ZmLOX3* codent pour des 9-LOX (Nemchenko *et al.*, 2006). Les *zmlox* sont des mutants obtenus à partir de la modification de l'ADN génomique de la lignée parentale de B73. Le mutant *zmlox12* par exemple est obtenu par insertion d'un transposon MULE (Mutator-Like Element) dans l'exon 6 de la séquence codante de l'allèle du gène 9-*LOX12* (Isakeit *et al.*, 2007).

### 3.2. Voie métabolique des lipoxygénases

La voie des LOX est activée dans la plante en réponse à un stress biotique ou abiotique ou durant certaines étapes du développement de la plante (Palmieri-Thiers, 2008). La voie LOX est divisée en deux branches : la branche 9-LOX et la branche 13-LOX (Howe et Schillmiller, 2002) comme illustrée à la Figure 4 d'après Wasternack et Feussner (2018). Dans le cas de la branche 9-LOX, seuls les dérivés d'acides gras libres ont été décrits, ce qui suggère une réaction d'acyle-lipide hydrolase ou de thiolase (des lipases) qui libèrent les lipides de la membrane des plastes antérieurement à la formation d'oxylipines (Wasternack et Feussner, 2018). Les exemples de substrats les plus importants sont les galactolipides contenant l'OPDA (acide 12-oxo-phytyldiène), connus aussi sous le nom d'arabidopsides (Wasternack et Feussner, 2018). En revanche, pour la branche 13-LOX, les acides gras estérifiés ou libres peuvent servir de substrats (Palmieri-Thiers, 2008). Le seul exemple ici d'une acyle-lipide hydrolase spécifique est le DAD1 présent dans les stylets d'étamines d'*Arabidopsis* (Wasternack et Feussner, 2018). Toutefois, les premières étapes du métabolisme peuvent avoir lieu dans les lipides membranaires, et les oxylipines générées sont libérées à des stades ultérieurs des membranes par des lipases spécialisées (Wasternack et Feussner, 2018).

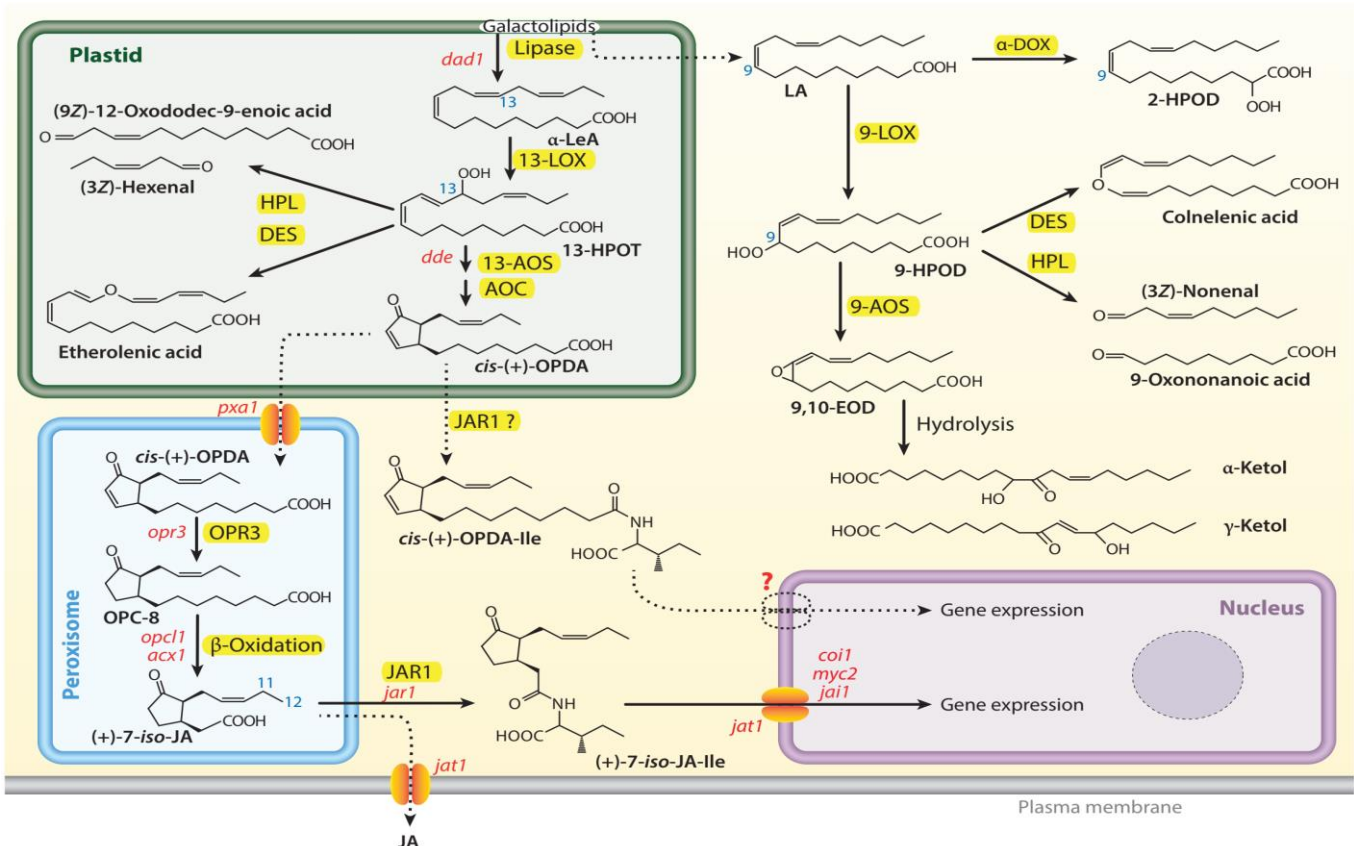


Figure 4. Synthèse d'oxylipines et transport intracellulaire

Les mutants connus pour *Arabidopsis* et tomate sont indiqués en rouge et les enzymes sont surlignés en jaune. Abréviations pour les composés : α-LeA, α-acide linoléique ; HPOD, acide hydroperoxy octadécadiénoïque ; 13-HPOT, acide (13S)-hydroperoxy



octadécatriénoïque ; cis-(+)-OPDA, acide cis-(+)-12-oxo-phytodiène ; cis-(+)-OPDA-Ile, l'acide cis-(+)-12-oxo-phytodiène conjugué d'isoleucine ; JA, acide jasmonique ; JA-Ile, l'acide jasmonique conjugué d'isoleucine ; OPC-8, Acide 3-oxo-2-(2-pentényl)-cyclopentane-1-octanoïque. Abréviations pour enzymes/protéines/mutants :  $\alpha$ -DOX,  $\alpha$ -dioxygénase ; acx1, acyle. CoA-oxydase1 ; AOC, allène oxide cyclase ; AOS, allène oxide synthase ; coi1, coronatine insensible1 ; dad1, déhiscence retardée des anthères1 ; dde, déhiscence retardée1 ; DES, divinyl éther synthase ; EOD, acide époxy octadécaénoïque ; HPL, hydroperoxyde lyase ; jai1, acide jasmonique insensible1 ; JAR1, jasmonoyl aminoacide conjugué synthase ; JAT1, JA/JA-Ile transporter1 ; LOX, lipoxygénase ; myc2, bHLHzip facteur de transcription MYC2 ; opl1, 3-oxo-2-(2-[Z]-pentényl) cyclopentane-1-octanoic acid ligase ; OPR3, 12-oxo-phytodiénoic acid reductase3 ; PXA1, Transporteur de cassette de liaison à ATP (ABC) (également connu sous le nom de COMATOSE). D'après Wasternack et Feussner (2018).

Comme les données sont encore rares sur le fait que les lipases initient les voies d'oxylipines, il est communément admis ou suggéré que les LOX initient ces voies. Toutefois, la question de savoir si l'initiation par les lipases peut dépendre du tissu (étamines ou feuilles) ou du compartiment intracellulaire (plastides ou cytosol) est à l'étude (Wasternack et Feussner, 2018).

### 3.3. Rôle des oxylipines dans les mécanismes de défense

Les cellules végétales ont la capacité de reconnaître un pathogène et de transmettre l'information à d'autres cellules qui réagissent en initiant des mécanismes de défense (Blée, 1998). Ces mécanismes de défense impliquent donc qu'un signal de transduction soit généré, transmis, perçu et traduit pour activer des gènes spécifiques de défense. La contribution des oxylipines dans ces mécanismes est connue. Les oxylipines sont une grande classe de divers composés polyénoïques oxygénés dérivant de la voie LOX (Feussner et Wasternack, 2002). Les oxylipines jasmonates et leur précurseur immédiat, l'acide 12-oxo-phytodiénoïque (OPDA), qui se forment enzymatiquement et s'accumulent en réponse à divers stress, notamment les blessures, l'infection pathogénique et les stress abiotiques (Wasternack 2014), sont par exemple bien documentés dans la transduction de signaux activant la transcription des gènes de défense codant pour des protéases (Grechkin, 1998 ; Feussner et Wasternack, 2002 ; Delker *et al.*, 2006 ; Wasternack, 2007, 2014 ; Hause *et al.*, 2009 ; Chechetkin *et al.*, 2011 ; Wasternack et Feussner, 2018).

#### 3.3.1. Oxylipines dérivés de la branche 13-LOX

Les jasmonates, composés dérivés de l'acide jasmonique ou Jasmonic Acid (JA), sont les signaux lipidiques les mieux étudiés parmi les oxylipines des plantes. Ils sont impliqués dans de nombreuses réponses aux stress biotiques et abiotiques des plantes ainsi que dans le développement des plantes (Heitz *et al.*, 2002). Le Tableau 1 résume brièvement leurs nombreux modes d'action et les composantes de signalisation concernées.

Tableau 1. Processus dépendants de l'acide jasmonique (JA) et impliquant des composants de signalisation/facteurs de transcription

Processus	Effet de JA	Composants de la signalisation / Facteurs de transcription impliqués	Plantes
<b>Stress abiotiques et biotiques</b>			
Fermeture des stomates	Réouverture des stomates	COI1, JAZ2, MYC2/3/4, ANAC019/055/072	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Solanum lycopersicum</i>
Tolérance à la sécheresse	Induction	COI1, JAZ, MYC2, RD22, OsbHLH148	<i>A. thaliana</i> , <i>Oryza sativa</i>
Tolérance de la salinité	Induction	COI1, JAZ, MYC2, ERF1, DREB2A, PFT1/MED25	<i>A. thaliana</i> , <i>O. sativa</i>
Tolérance au froid et au gel	Induction	COI1, JAZ, ICE1/2, CBF/DREB1, SFR6, MED16, VQ5, WRKY26	<i>A. thaliana</i>
Tolérance à la chaleur	Induction	COI1, JAZ, MYC2, ERF1	<i>A. thaliana</i>
Tolérance au stress UV	Induction	Systémine, MAP kinase	<i>Lycopersicon peruvianum</i>
Mycorhize	Stimulation	COI1, MYC2	<i>Medicago truncatula</i> , <i>S. lycopersicum</i>
Cycle cellulaire	Inhibition	COI1, MYC2	<i>A. thaliana</i>
Formation de métabolites secondaires : nicotine	Induction	COI1, MYC2, ERF221, ERF189	<i>Nicotiana tabacum</i>
Formation de métabolites secondaires : glucosinolates	Induction	COI1, MYC2/3/4/5, JAMs, MYB28/29/76	<i>A. thaliana</i>
Formation de métabolites secondaires: anthocyanines	Induction	COI1, MYC2/3/4/5, TT8, PAPI, JAMs, Glabra3, EGL3	<i>A. thaliana</i>
Alcaloïdes terpénoïdes de l'indole indole	Induction	COI1, MYC2/3/4/5, ORCA2/3, BIS1/2	<i>A. thaliana</i> , <i>Catharanthus</i> spp.
Résistance aux insectes	Induction	COI1, MYC2/3/4, JAM, JAZ, JAV1, NINJA, TPL, RGLs, JAMs	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i>

Suite du Tableau 1.

<b>Processus</b>	<b>Effet de JA</b>	<b>Composants de la signalisation / Facteurs de transcription impliqués</b>	<b>Plantes</b>
<b>Croissance et développement</b>			
Embryogenèse somatique	Induction	COI1, MYC2, JAZ1, NO, LOX2, AOS, IAA	<i>A. thaliana</i>
Germination des semences	Inhibition	COI1	<i>A. thaliana</i>
Croissance	Inhibition	COI1, MYC2/3/4, JAZ, RGLs	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>
Croissance des racines	Inhibition	COI1, JAZ, PLT1/2, SGT1B, HSP70/90	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>
Inhibition de la croissance des racines	Inhibition	COI1, JAZ, MYC2/3/4, EIN3/EIL1, NINJA, TPL, GAI, RGLs, PUB10	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>
Formation de poils absorbants	Inhibition	COI1, JAZ, EIN3/EIL1, HDA6	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>
Formation de racines latérales	Stimulation	MYC2, ERF109, auxin, TIR1	<i>A. thaliana</i>
Formation de racines adventives	Stimulation	COI1, COP9 signalosome, auxine, TIR1, ARF6/8	<i>A. thaliana</i>
Croissance des pousses	Inhibition	COI1, MYC2, JAZ	<i>A. thaliana</i>
Compromis entre croissance et défense	Antagonisme avec l'acide gibbérellique	COI1, GAI1, JAZ10, MYC2, PHYB, RGLs	<i>A. thaliana</i> , <i>N. tabacum</i>
Formation de tubercules	Induction (indirecte)	CO, FT, BEL5, POTH1	<i>Solanum tuberosum</i>
Initiation du trichome	Induction	COI1/JAI1, JAZ, MYB75, GL1/3, EGL3	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i>
Développement d'anthères	Dépendant de JA	COI1/JAI1, JAZ, MYB21/24, MYB57	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i> , <i>N. tabacum</i>
Développement des organes féminins	Dépendant de JA	COI1/JAI1, JAZ	<i>A. thaliana</i> , <i>S. lycopersicum</i>
Signalisation de la lumière	Dépendant de JA	COI1, PHYB, PIF4	<i>A. thaliana</i>
Temps de floraison	Induction	COI1, JAZ, TOE, FT	<i>A. thaliana</i>
Senescence	Promotion	WRKY53/54/70, ANAC092, ORE1, MYC5	<i>A. thaliana</i> , <i>O. sativa</i>
Dégradation de la chlorophylle	Induction	COI1, MYC2	<i>A. thaliana</i>
Photosynthèse	Inhibition	COI1, PHYB, PIF4	<i>A. thaliana</i>

Voir Wasternack et Feussner (2018) pour les noms complets des sigles de la 3<sup>ème</sup> colonne.

Régulateurs intra- et inter-cellulaires, le JA et son ester méthylé, le méthyl-jasmonate (MeJA), assurent également la communication inter-plantes (Wasternack, 2007). Des mutants d'*Arabidopsis* qui ne peuvent pas accumuler du JA sont extrêmement sensibles à l'infection par le champignon du genre *Pythium*. À l'inverse, un prétraitement des plantes avec du JA augmente leur résistance vis-à-vis de nombreux parasites dont *Pseudomonas syringae*, *Pythium* et *Phytophthora* spp. (Wasternack, 2007 ; Hause *et al.*, 2009). Le rôle du JA comme molécule de signal dans la défense semble toutefois dépendre de l'espèce végétale et de la nature des réponses étudiées (Wasternack, 2007). L'acide jasmonique (JA) et le méthyl jasmonate (MeJA) sont impliqués dans la défense contre des insectes et des agents pathogènes. Une blessure provoquée par un insecte conduirait à la production d'un peptide, la systémine, ou d'oligogalacturonides pariétaux qui activeraient la voie de synthèse de JA (Wasternack, 2007). Le JA joue également un rôle central dans les réponses aux stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse et le froid. Tous ces stress abiotiques ont un impact négatif sur la productivité des cultures en affectant différents niveaux de l'intégrité cellulaire et de l'activité métabolique, y compris l'expression des gènes (Wasternack, 2014).

Chez *Arabidopsis*, quatre gènes *13-LOXs* ont été découverts. Tous ont des fonctions dans la formation de jasmonates à la suite de blessures (Wasternack et Feussner, 2018). Le gène *LOX2* est la forme principale dans la feuille qui fournit les oxylipines pour la réponse générale. Le gène *LOX3* s'exprime principalement dans le parenchyme circumfasciculaire, tandis que *LOX4* s'exprime dans les cellules compagnes du phloème (Ozalvo *et al.*, 2014 ; Chauvin *et al.*, 2016). *LOX6* est responsable de réponse précoce et spécifique au xylème. En outre, *LOX2* s'introduit dans la voie de synthèse des JA dès la sénescence, et *LOX3* et *LOX4* fournissent le substrat pour les jasmonates pendant la formation des étamines. Dans la réponse aux blessures, les formes *13-LOX* semblent agir par paire dans un ordre hiérarchique, avec *LOX2/LOX6* en amont de *LOX3/LOX4* (Ozalvo *et al.*, 2014 ; Chauvin *et al.*, 2016). Avec *LOX2* et *LOX6*, et en travaillant en aval de ces derniers, *LOX3* et *LOX4* contribuent à la synthèse du jasmonate qui conduit à l'expression du gène de défense *VEGETATIVE STORAGE PROTEIN 2 (VSP2)*. Les *LOX3* et *LOX4* contribuent également à la défense contre l'insecte herbivore généraliste *Spodoptera littoralis* (Chauvin *et al.*, 2016).

La tomate et la pomme de terre ont deux gènes *13-LOX*. Le gène *TomLOXD* génère du JA en réponse de défense contre les insectes herbivores (Wasternack et Feussner, 2018). Le gène *TomLOXC* forme directement des composés volatiles défensives en C5 à partir de substrats d'acides gras en C18 (Wasternack et Feussner, 2018). De même, deux *13-LOX* enzymes de *Physcomitrella patens* forment des volatiles en C8 à partir d'acides gras en C20 (Wasternack et Feussner, 2018).

Dans le riz, un cross-talk entre les produits d'un 13-LOX et d'un 9-LOX a été observé, conduisant à des niveaux élevés de JA qui ont intensifié les réponses contre les herbivores même dans les lignées antisens du *9-LOX1* (Wasternack et Feussner, 2018).

### 3.3.2. Oxylipines dérivés de la branche 9-LOX

Contrairement aux 13-LOX oxylipines, les 9-LOX oxylipines proviennent de voies moins complexes. Cependant, la littérature sur les gènes *9-LOX* et leurs produits dérivés oxylipines dans le cadre des stress abiotiques est extrêmement pauvre. Chez *Arabidopsis*, les hydroxydes d'acides gras dérivés de LOX1 régulent la fermeture stomatique de façon indépendante de l'acide abscissique par l'intermédiaire des protéines kinases MAPK3 et MAPK6 et de l'acide salicylique (SA) (Wasternack et Feussner, 2018). De même, *Arabidopsis* semble réguler certaines de ses réactions de défense contre *Pseudomonas syringae* via ces hydroxydes, avec la formation d'oxygène singulet (Wasternack et Feussner, 2018). Encore une fois, de la même manière, mais en relation avec des brassinostéroïdes, la défense de la paroi cellulaire qui limite l'infection pathogène est coordonnée (Wasternack et Feussner, 2018). En revanche, un rôle direct en tant que phytoalexines peut être attribué aux éthers divinyls en réponse à l'infection à *Phytophthora* dans le tabac (Wasternack et Feussner, 2018). Un rôle plus complexe semble impliquer les hydroxydes d'acides gras dans la communication entre les espèces fongiques des deux genres *Aspergillus* et *Fusarium* et le maïs (Wasternack et Feussner, 2018). Dans ces deux pathosystèmes, les deux parties peuvent produire des signatures différentes d'hydroxydes d'acides gras, mais celles du champignon peuvent déclencher la formation d'hydroxydes dérivés de 9-LOX dans les tissus de maïs. Ces oxylipines stimulent à nouveau la formation de mycotoxines du côté fongique, entraînant l'induction de la mort cellulaire du tissu végétal infecté (Wasternack et Feussner, 2018).

### 3.4. Interactions entre les oxylipines et les champignons mycorhiziens arbusculaires

L'établissement d'une interaction mycorhizienne arbusculaire est une stratégie efficace pour favoriser la croissance, le développement et la santé des plantes. De nombreuses études ont confirmé l'hypothèse que les hormones végétales jouent un rôle important dans la reconnaissance et l'établissement de la symbiose (Foo *et al.*, 2001 ; Liu *et al.*, 2007 ; Tisserant *et al.*, 2012 ; Foo *et al.*, 2013 ; Ceballos *et al.*, 2013 ; Tisserant *et al.*, 2013 ; Malbreil, 2014 ; Laparre *et al.*, 2014 ; Delaux *et al.*, 2015 ; Kamel *et al.*, 2017). Une attention particulière a été accordée à l'acide jasmonique et à ses dérivés, les jasmonates, que l'on sait avoir un rôle majeur dans la symbiose mycorhizienne arbusculaire (Wasternack et Feussner, 2018). Toutefois, des analyses transcriptomiques ont révélé une régulation positive de la voie des oxylipines provenant particulièrement de l'action des 9-lipoxygénases (9-LOX) pendant la symbiose mycorhizienne dans les

racines de tomate (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Dans cette section, les derniers progrès dans la compréhension de la fonction des oxylipines dans l'établissement de la symbiose mycorhizienne sont révélés. Il y est également présenté l'hypothèse selon laquelle l'activation de la voie 9-LOX pourrait faire partie de l'activation des réponses de défense de l'hôte qui contribuera alors à la fois au contrôle de la colonisation racinaire du champignon mycorhizien arbusculaire et à la résistance accrue aux pathogènes des plantes mycorhizées (León-Morcillo *et al.*, 2012a).

#### **3.4.1. Jasmonates et mycorhization arbusculaire**

En général, la plupart des recherches sur les oxylipines ont porté sur la famille des jasmonates. Il est donc compréhensible que l'étude du rôle régulateur joué par les oxylipines dans la mycorhization ait également porté sur les jasmonates (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Les jasmonates sont impliqués dans la régulation des interactions entre plantes et microbes bénéfiques tels que les PGPP et les CMA. Pendant le développement de la plante, les processus suivants sont régulés par JA : germination des graines, développement des plantules, croissance des racines (Wasternack, 2014). L'établissement et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire semble être liée aux niveaux endogènes de JA. À cet égard, des auteurs ont observé une induction des gènes impliqués dans la biosynthèse de la JA dans des cellules racinaires d'orge abritant des arbuscules (Hause *et al.*, 2007 ; Hause et Schaarschmidt, 2009). Chez *Medicago truncatula*, en inactivant le gène codant pour l'enzyme Allène Oxide Cyclase de la voie 13-LOX dans les poils absorbants, une réduction des niveaux de JA corrélée à une réduction de l'intensité de mycorhization et de l'abondance arbusculaire ont été notées (Isayenkov *et al.*, 2005).

Il est possible que l'un des mécanismes par lesquels le JA régule le processus de mycorhization et la formation d'arbuscules soit par la régulation du métabolisme des glucides et du transport dans la plante. À cet égard, le degré de colonisation mycorhizienne des plants de tomate est corrélé avec des changements dans la régulation transcriptionnelle des gènes impliqués dans l'hydrolyse et le transport du saccharose, l'activité d'invertase des parois cellulaires et la teneur en acides gras spécifiques aux racines mycorhizées (Tejeda-Sartorius *et al.*, 2008). Chez des plants de tomate mutants *spr-2* déficients dans la synthèse de JA qui présentent un taux réduit de colonisation, l'application exogène de JA a permis une récupération partielle du niveau de mycorhization et de l'expression des gènes impliqués dans le partage du carbone dans la plante (León-Morcillo *et al.*, 2012a). En sus, l'induction des gènes impliqués dans la biosynthèse de JA a été observée dans les tissus-puits. Les cellules hébergeant les arbuscules agissent en fait comme des tissus puits pour les glucides dans les plantes mycorhiziennes. Ainsi, un modèle a été proposé dans lequel la biosynthèse induite de JA dans les racines mycorhiziennes est liée au phénomène des organes puits (Hause *et al.*, 2007

; Hause et Schaarschmidt, 2009). En outre, l'expression de gènes spécifiques et de gènes de défense est une caractéristique des tissus-puits (León-Morcillo *et al.*, 2012a, 2012b) qui peut contribuer à l'amélioration de la défense de la plante (León-Morcillo *et al.*, 2016).

Les jasmonates ont été étiquetés comme métabolites secondaires, mais il est maintenant clair qu'ils agissent eux-mêmes comme éliciteurs de la production de métabolites secondaires à travers le règne végétal, des angiospermes aux gymnospermes (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Parmi les classes de métabolites induits par les JA, on trouve les formes libres et conjuguées de polyamines, quinones, terpénoïdes, alcaloïdes, phénylpropanoïdes, glucosinolates et antioxydants (Chen *et al.*, 2006 ; De Geyter *et al.*, 2012). Par conséquent, l'implication de JA dans le processus de mycorhization peut également être médiée par l'induction de la biosynthèse de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et les terpènes, qui sont connus pour jouer un rôle significatif dans les symbioses mycorhiziennes (Strack *et al.*, 2003). Dans ce sens, l'application de jasmonates entraîne une augmentation de l'accumulation de l'ARN messager (ARNm) codant pour la phénylalanine ammoniac lyase (PAL) et de l'activité de l'enzyme phénylalanine ammoniac lyase (Thoma *et al.*, 2003), ce qui suggère que le JA joue un rôle dans la régulation des flavonoïdes impliqués dans le processus de mycorhization.

Par ailleurs, il a également été suggéré que le JA soit impliqué dans la régulation négative (répression) de la colonisation du champignon mycorhizien arbusculaire par l'induction de l'expression des gènes codant pour les protéines liées à la défense. Les plants de tomate mutants insensibles à JA (*jai-1*) ont montré une sensibilité accrue à la colonisation mycorhizienne arbusculaire (Herrera-Medina *et al.*, 2008). Les mutants *jai-1* sont déficients dans l'expression systémique inductible par les blessures des gènes codant pour les inhibiteurs de protéinase (IP) et manquent également d'expression d'IP en réponse à l'application de MeJA (Li *et al.*, 2004). L'application exogène de MeJA aux plantes de tomate réduisait la mycorhization et affectait principalement le métabolisme fongique du phosphate et la formation des arbuscules, ce qui indique que la colonisation mycorhizienne arbusculaire pourrait être contrôlée par un mécanisme complexe de signalisation du JA (Herrera-Medina *et al.*, 2008).

Les oxylipines jasmonates jouent un rôle dans la mycorhization du champignon mycorhizien arbusculaire *Rhizophagus irregularis* mais n'interviennent que dans les phases tardives de l'établissement de la mycorhization (Wasternack 2014). L'inoculation fongique des plantes entraîne une élévation endogène des jasmonates (Wasternack 2014). La régulation négative transgénique d'AOC, une autre enzyme clé dans la biosynthèse de JA, par l'expression d'une construction AOC-RNAi (MtAOC1-RNAi) conduit à une

diminution du taux du JA endogène suivie d'une mycorhization retardée indiquant le rôle du JA dans la mycorhization (Wasternack, 2014). L'augmentation modérée des niveaux de JA a conduit à une augmentation de la formation d'arbuscules probablement médiée par une allocation améliorée des produits d'assimilation dans les racines (Wasternack, 2014).

### 3.4.2. Oxylipines de la voie 9-LOX et mycorhization arbusculaire

Peu d'études sont disponibles sur les changements qui surviennent dans la voie des oxylipines 9-LOX pendant la formation de la mycorhize arbusculaire (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Deux analyses sur puces à ADN de racines de tomate mycorhiziennes ont montré une régulation positive et significative des gènes impliqués dans le métabolisme des oxylipines 9-LOX (Garrido *et al.*, 2010 ; López-Ráez *et al.*, 2010). Cependant, dans le cas de *Medicago truncatula*, l'analyse des profils d'acides gras des racines non mycorhizées et des racines colonisées par *Glomus intraradices* n'a pas montré de différences significatives entre les produits 9-LOX et 13-LOX des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique, excepté le JA qui atteint des niveaux élevés dans les racines mycorhizées (Stumpe *et al.*, 2005). Il est donc vraisemblable d'affirmer que la voie 9-LOX joue un rôle plus important dans les Solanacées que dans d'autres familles de plantes (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Les gènes *LOXA* et *AOS3* impliqués dans le métabolisme du 9-LOX ont été induits dans les racines de tomate avec une colonisation bien établie par *Glomus intraradices*, et leur expression dépend d'un certain degré de colonisation mycorhizienne (León-Morcillo *et al.*, 2012a). En plus, l'induction de ces gènes sur des racines de tomate ne s'est faite que dans la partie colonisée d'un split-root system. Par ailleurs, la voie 9-LOX est connue pour jouer un rôle défensif par rapport aux pathogènes microbiens (Vellosillo *et al.*, 2007 ; Gao *et al.*, 2008 ; León-Morcillo *et al.*, 2012a). Ceci suggère que l'activation de la voie 9-LOX pourrait être un mécanisme de contrôle du développement du champignon mycorhizien arbusculaire dans les racines des Solanacées (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Cependant, les plantes de tomate déficientes dans la synthèse et/ou la perception de JA (*spr-2*, *def-1* et *jai-1*) n'ont pas montré une régulation positive des gènes *LOXA* et *AOS3*, indiquant que cette stratégie pour contrôler la colonisation fongique des racines est au moins partiellement dépendante de l'activation par une voie dépendante de JA (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Contrairement à *M. truncatula*, la teneur en OPDA (mélange de 10- et 12-OPDA) des plants de tomate mycorhizés a augmenté par rapport aux plants non mycorhizés et ne s'est pas accompagnée d'une augmentation de JA libre (Stumpe *et al.*, 2005). Il s'avère que l'OPDA et d'autres oxylipines, excepté les JA libres, jouent un rôle important dans l'orchestration des réponses des plantes aux champignons mycorhiziens arbusculaires chez les Solanacées (Stumpe *et al.*, 2005). Le 12-OPDA est connu pour jouer un rôle dans la signalisation de défense des plantes, avec un rôle similaire suggéré pour 10-OPDA (León-



Morcillo *et al.*, 2012a). Ces résultats montrent que la voie 9-LOX intervient dans la régulation de la mycorhization (León-Morcillo *et al.*, 2012b).

Le schéma d'expression du *LeDES*, un gène codant pour une 9-LOX désaturase qui catalyse la biosynthèse des acides collénique et colnéoléique, fait l'objet d'une certaine controverse (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Bien que *LeDES* ait été décrit par López-Ráez *et al.* (2010) comme un gène positivement régulé pour la mycorhization de la tomate dans une puce à ADN de racines, deux analyses transcriptomiques ont révélé aucune régulation positive (Fiorilli *et al.*, 2009 ; Garrido *et al.*, 2010). La régulation transcriptionnelle du *LeDES* pendant la mycorhization peut ne pas dépendre directement du degré de colonisation, comme cela semble être le cas avec *LOXA* et *AOS3* (León-Morcillo *et al.*, 2012a).

Il a été suggéré que l'effet bioprotecteur de la mycorhization contre les pathogènes fongiques et l'autorégulation de la mycorhization pourraient être les deux facettes d'un même mécanisme (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Il semble plausible que les plantes mycorhizées ne développent qu'un seul mécanisme pour repousser une colonisation ultérieure par les champignons, sans faire de distinction entre le champignon mycorhizien arbusculaire et les champignons pathogènes du sol. L'activation du métabolisme 9-LOX fait partie de ce mécanisme (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Comme on l'a signalé au sujet de *Phytophthora parasitica* et d'autres pathogènes fongiques, il est concevable que la voie 9-LOX joue un rôle défensif et limite la propagation fongique dans les racines (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Dans plusieurs études, un effet bioprotecteur local a été associé à un degré élevé de colonisation racinaire du champignon mycorhizien arbusculaire, tandis que les niveaux intermédiaire et faible de colonisation racinaire de champignons mycorhiziens arbusculaires n'ont montré aucun effet bioprotecteur (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Apparemment, un niveau critique de colonisation des racines est nécessaire pour assurer la bioprotection des plantes mycorhiziennes, et de même, la régulation positive de l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme 9-LOX dans les racines mycorhiziennes semble dépendre d'un degré particulier de colonisation mycorhizienne (León-Morcillo *et al.*, 2012a). Il est donc concevable que la voie d'activation des oxylipines 9-LOX puisse être responsable de la résistance accrue des plantes mycorhiziennes aux pathogènes fongiques (León-Morcillo *et al.*, 2012a).

## CHAPITRE 4 : ANTHRACNOSE FOLIAIRE DU MAÏS

### 4.1. L'agent causal de l'anthracnose foliaire

Les espèces de *Colletotrichum*, agents étiologiques de l'anthracnose, figurent parmi les dix principaux pathogènes fongiques de cultures de grande importance économique (Vargas *et al.*, 2012 ; Balmer *et al.*, 2013b ; Balmer *et al.*, 2013a ; Sanz-Martín *et al.*, 2015). *Colletotrichum graminicola* provoque de graves maladies telles que l'anthracnose foliaire ou Anthracnose Leaf Blight (ALB) et la pourriture des tiges ou Anthracnose Stem Rot (ASR) sur le maïs et le sorgho (Balmer *et al.*, 2013a). Bien que l'agent pathogène peut infecter toutes les parties de la plante à chaque stade de croissance (Casela *et al.*, 2001 ; Balmer *et al.*, 2013b), la nécrose des feuilles est l'aspect le plus dommageable, car elle entraîne au moins 50 % de réduction du rendement (Casela *et al.*, 2001). Par ailleurs, l'infection des racines par *C. graminicola* peut également conduire à des infections systémiques (Balmer *et al.*, 2013a). L'infection des tiges est facilitée par les blessures causées par les insectes, mais les hyphes étroits du pathogène pénètrent directement dans les tissus de la moelle par de petites ouvertures dans les parois cellulaires (Venard et Vaillancourt, 2007). *Colletotrichum graminicola* est un modèle d'étude pour les agents pathogènes hémibiotrophes et saprophyte facultatif (Latunde-Dada *et al.*, 1996 ; Perfect *et al.*, 1999 ; Valério *et al.*, 2005 ; O'Connell *et al.*, 2012).

### 4.2. Lutte contre l'anthracnose foliaire

La résistance génétique est le moyen de lutte le plus efficace contre l'ALB et l'ASR. Chez le maïs, un seul gène dominant, le *CgL*, contrôle la résistance à l'ASR aux stades juvénile et adulte, alors que deux gènes codominants contrôlent la résistance à l'ALB (da Costa *et al.*, 2014 ; Silva *et al.*, 2015). Cependant, Bergstrom et Nicholson (1999) et da Costa *et al.* (2014) ont aussi suggéré que plusieurs gènes pourraient être impliqués dans la résistance à l'ALB. Le déterminisme génétique de la résistance dans le maïs reste donc controversé. Par ailleurs, l'efficacité et la durabilité de la résistance génétique du maïs en tant qu'approche de gestion de l'ALB dépend de la variabilité de *C. graminicola* (Than *et al.*, 2008 ; da Costa *et al.*, 2014 ; Costa *et al.*, 2015). En effet, le genre *Colletotrichum* possède une plasticité phénotypique considérable et une évolution rapide de races ou de pathotypes a été rapportée (Crouch *et al.*, 2006 ; Crouch *et al.*, 2009a ; Crouch *et al.*, 2009b ; O'Connell *et al.*, 2012 ; Kleemann *et al.*, 2012 ; Crouch *et al.*, 2014 ; da Costa *et al.*, 2014 ; Beirn *et al.*, 2014 ; Costa *et al.*, 2015). Par conséquent, il est difficile de diagnostiquer avec précision et de produire une résistance génétique durable contre l'anthracnose foliaire (Than *et al.*, 2008 ; da Costa *et al.*, 2014 ; Costa *et al.*, 2015).

### 4.3. Gestion potentielle de l'antracnose foliaire par les microsymbiotes

Selon Valèrio *et al.* (2005), le contrôle à long terme de l'antracnose repose sur la réduction de la source d'inoculum, la gestion des gènes de résistance de l'hôte et la gestion de l'environnement hôte - pathogène. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) et les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) conviennent donc comme outils de gestion, principalement en raison de leur capacité à amorcer une résistance systémique contre les modes de vie biotrophe et nécrotrophe de *C. graminicola*. Il a été démontré que la mycorhization contrôlée améliore la croissance et les défenses de la plante hôte (Bennett *et al.*, 2006 ; Koricheva *et al.*, 2009 ; Barber *et al.*, 2013). La colonisation du CMA peut amorcer des réactions de protection dépendantes de l'acide jasmonique suite à des blessures et des réactions de résistance aux champignons phytopathogènes (Pozo et Azcón-Aguilar, 2007 ; Pozo *et al.*, 2015). Le PGPR peut localement antagoniser les pathogènes transmis par le sol et induire une résistance systémique à travers toute la plante. En effet, son contrôle des agents pathogènes et sa stimulation indirecte de la croissance des plantes ont été liées à sa production d'hormones, de sidérophores, d'antibiotiques et de composés organiques volatils (Gao *et al.*, 2012 ; Beneduzi *et al.*, 2012).

### 4.4. Résistance systémique induite par coinoculation de microsymbiotes

Les microorganismes PGPR et CMA améliorent individuellement l'état nutritionnel des plantes. Ils affectent la croissance des cultures et la qualité des fruits (Berta *et al.*, 2014). Ils partagent une voie commune de signalisation pour l'établissement de la symbiose et l'induction de résistance systémique (Sanchez *et al.*, 2005 ; Giovannetti *et al.*, 2015 ; Genre et Russo, 2016). Les plantes de maïs inoculées avec un CMA et / ou *P. fluorescens* Pf4 ont montré une croissance et un rendement accrus par rapport aux plantes non inoculées (Berta *et al.*, 2014). La souche Pf4 a augmenté la teneur en amidon des grains, en particulier les composants digestibles, tandis que les composés de stockage ont été enrichis par le CMA, en particulier la teneur en zéine (Berta *et al.*, 2014). Ainsi, l'inoculation des plantes avec PGPR et CMA a eu des effets additifs sur la composition des grains (Berta *et al.*, 2014). Il existe de nombreux exemples où un PGPR seul ou en combinaison avec d'autres PGPR a pu inhiber des maladies sur différents hôtes. Par exemple, il a été démontré que des combinaisons de *Pseudomonas* comprenant *P. chlororaphis* 30-84 suppriment la maladie du piétin échaudage causée par le champignon pathogène *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Mazzola *et al.*, 1995 ; Weller *et al.*, 2007). Le maïs préinoculé avec *P. putida* KT2440 et infecté ultérieurement par *C. graminicola* a développé une résistance à la nécrose des feuilles, et la croissance du pathogène fongique a été significativement réduite par rapport aux témoins non-bactérisées (Planchamp *et al.*, 2015). *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 contrôle la pourriture des tiges et des racines des tomates causées par

*Fusarium oxysporum* f. s. *radicis-lycopersici* (Chin-A-Woeng *et al.*, 2001 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003). Les CMA *Rhizophagus irregularis* et *Funneliformis mosseae* ont montré un antagonisme envers l'agent de l'antracnose, *C. gloeosporioides* sur plants de *Cyclamen* sp. La prémycorhization par *R. irregularis* BEG110 a réduit la sévérité de la maladie causée par *C. orbiculare* sur plants de concombre (Jeun *et al.*, 2008). Les plants de concombre préinoculés avec *P. putida* et *Micrococcus luteus* ou *Serratia marcescens* 90-166 et *P. fluorescens* 89B61 étaient résistants à l'antracnose due à *C. orbiculare* (Jeun et Lee, 2005 ; Jeun *et al.*, 2007, 2008). Bien que de nombreux exemples démontrent que les CMA et les PGPR peuvent promouvoir individuellement les mécanismes de défenses dans les plantes, on ne sait pas comment ils interagissent ensemble dans la rhizosphère. Ceci est quelque peu difficile à prédire puisque les interactions peuvent être liées aux espèces impliquées dans les interactions plante - microbe et / ou microbe - microbe dans lesquelles certaines rhizobactéries et racines végétales produisent des composés antifongiques du type phénazines ou hévéine. Comment un CMA donné survit-il à ces composés antifongiques, mérite des investigations. Par ailleurs, des travaux ont montré que *P. fluorescens* C7R12 stimulait la croissance du saprophyte facultatif *Glomus mosseae* et sa colonisation de *Medicago truncatula* et de *Lycopersicum esculentum*, mais ne favorisait pas la croissance ou la mycorhization de *Gigaspora rosea* (Pivato *et al.*, 2009). Il a également été montré que la nodulation rhizobienne a systématiquement et négativement influencé la colonisation des racines du CMA et vice versa dans un split-root system de la luzerne (Catford *et al.*, 2003). Il est clair ici qu'il existe un mécanisme d'autorégulation *via planta* des interactions entre microbes symbiotiques à étudier.

## CHAPITRE 5 : BACTÉRIOSE DE LA TOMATE DUE À *CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM*

### 5.1. Description de l'agent causal

*Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) est une menace économique émergente pour les industries de la pomme de terre et de la tomate en Afrique, dans les Îles Canaries, en Europe, en Amérique du Nord et Centrale et en Nouvelle-Zélande (Haapalainen, 2014 ; Tahzima *et al.*, 2014 ; Haapalainen *et al.*, 2017 ; Tamborindeguy *et al.*, 2017 ; Wang *et al.*, 2017 ; Alfaro-Fernández *et al.*, 2017 ; Haapalainen *et al.*, 2018). *Ca. Liberibacter solanacearum* est un bacille Gram-négatif non cultivable appartenant à la classe des alphaprotéobactéries et à la famille des *Rhizobiaceae* (Liefting *et al.*, 2008 ; Babu *et al.*, 2015 ; Naranjo *et al.*, 2019 ; Merfa *et al.*, 2019). Le pathogène est une bactérie limitée au phloème (Babu *et al.*, 2015 ; Mustafa *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2017 ; Naranjo *et al.*, 2019).

*Candidatus Liberibacter solanacearum* est étroitement liée à quatre autres espèces de *Candidatus Liberibacter* : *Ca. Liberibacter asiaticus* (Las), *Ca. Liberibacter africanus* et *Ca. Liberibacter americanus*, responsables du citrus greening ou Huanglongbing (HLB) des agrumes, et *Ca. Liberibacter europaeus*, un non-pathogène dans les poires (Wang *et al.*, 2017).

*Candidatus Liberibacter solanacearum* et *Ca. Liberibacter asiaticus* comptent parmi les plus importants pathogènes majeurs émergents aux Amériques, en Europe, en Asie et en Afrique et ils sont véhiculés par des psylles (Munyaneza *et al.*, 2007 ; Crosslin *et al.*, 2010 ; Munyaneza *et al.*, 2010 ; Levy *et al.*, 2011 ; Crosslin *et al.*, 2011 ; Munyaneza, 2012 ; Nachappa *et al.*, 2012 ; Nelson *et al.*, 2013 ; Arp *et al.*, 2013 ; Cooper *et al.*, 2014 ; Nachappa *et al.*, 2014 ; Ibanez *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2017). Parmi les vecteurs, on peut citer le psylle de la pomme de terre/tomate *Bactericera cockerelli* (Šulc), les psylles de la carotte *Trioza apicalis* (Förster) et *Bactericera trigonica* (Hodkinson) (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

Différents haplotypes de *Ca. Liberibacter solanacearum* (Lso) ont été identifiés (LsoA, LsoB, LsoC, LsoD, LsoE, LsoF, LsoG et LsoU). Ceux-ci peuvent être considérés comme des groupes de génotypes étroitement liés, et sont actuellement définis par la plante hôte, le vecteur et les aires géographiques, ainsi par la séquence de l'ADNr 16S et celle du gène de la protéine ribosomique 50S RplJ/RplL (Nelson *et al.*, 2011 ; Nelson *et al.*, 2013 ; Hajri *et al.*, 2017 ; Hajri *et al.*, 2019 ; Mauck *et al.*, 2019 ; Haapalainen *et al.*, 2019).

Les haplotypes LsoA, LsoB et LsoF infectent les cultures de Solanacées. Ils ont été détectés pour la première fois en Amérique et en Nouvelle-Zélande (Hansen *et al.*, 2008 ; Nelson *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2017 ; Mendoza-Herrera *et al.*, 2018 ; Swisher Grimm et Garczynski, 2019). LsoA et LsoB ont de nombreux réarrangements génomiques (inversions et relocalisations) et de nombreuses polymorphismes d'un seul nucléotide (SNPs) distincts (Thompson *et al.*, 2015). Les haplotypes C, D et E du Lso ont été trouvés en Europe, D et E également en Afrique du Nord et D dans la zone orientale de la Méditerranée. Ces haplotypes sont associés à des maladies de plantes apiacées, y compris la carotte et le céleri (Munyaneza *et al.*, 2010 ; Nelson *et al.*, 2013 ; Teresani *et al.*, 2014 ; Tahzima *et al.*, 2014 ; Teresani *et al.*, 2015 ; Hajri *et al.*, 2017 ; Mawassi *et al.*, 2018 ; Hajri *et al.*, 2019). En Europe du Nord, l'haplotype C du Lso est transmis par les psylles de la carotte *Bactericera trigonica* et *Trioza apicalis* (Nissinen *et al.*, 2014 ; Mendoza-Herrera *et al.*, 2018), tandis que dans la région méditerranéenne, les haplotypes D et E sont transmis par *Bactericera trigonica* (Antolinez *et al.*, 2017 ; Mawassi *et al.*, 2018). En plus de *B. trigonica* et *T. apicalis*, l'haplotype C du Lso a été trouvé dans *T. anthrisci* et sa plante-hôte *Anthriscus sylvestris*. L'haplotype U a été trouvé dans *T. urticae* et sa plante-hôte, l'ortie (*Urtica dioica*) en Finlande (Haapalainen *et al.*, 2018 ; Hajri *et al.*, 2019). Récemment, un autre haplotype de Lso a été découvert dans des échantillons d'une plante solanacée sauvage de Californie (États-Unis d'Amérique), *Solanum umbelliferum* et appelé haplotype G (Hajri *et al.*, 2019 ; Mauck *et al.*, 2019).

## 5.2. Symptomatologie causée par les haplotypes A et B de l'agent causal sur la tomate

Les symptômes de l'infection par Lso sur les parties aériennes de la tomate comprennent une croissance anormale (rabougrissement ou nanisme), des symptômes foliaires (couleur pourpre des feuilles ou des nervures médullaires, enroulement, boursoufflement), un flétrissement (jaunissement, chlorose internervaire et verdissement des nervures, feuilles tachetées ou chlorotiques et affaissement des plantes) et la mort précoce (Levy *et al.*, 2011 ; Mendoza-Herrera *et al.*, 2018). Le pédoncule peut aussi devenir long et le développement des fruits peut être inégal (Babu *et al.*, 2015 ; Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

Des symptômes différentiels liés à LsoA et LsoB ont été observés sur la tomate. Dès la première semaine d'infection, les nouvelles feuilles des plantes infectées par LsoB sont plus petites et présentent une certaine décoloration (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018). Chez les plantes infectées par LsoA, cependant, la forme et la couleur des feuilles sont plus semblables à celles des plantes non infectées (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

Au cours de la troisième semaine suivant l'infection, les plantes infectées par LsoB présentent un rabougrissement, un enroulement, un jaunissement et quelques zones nécrotiques des feuilles plus marquées par rapport aux plantes infectées par le LsoA (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

Cinq à six semaines post-infection, les plantes infectées par LsoB présentent des feuilles mourantes plus ou moins jeunes avec des zones nécrotiques, tandis que les plantes infectées par LsoA continuent à développer de nouvelles feuilles et à croître, mais restent plus courtes que les plantes non infectées (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018). Avec le temps, la nécrose s'est propagée à toute partie des plantes infectées par LsoB, aucune nouvelle feuille ne s'est développée et les plantes sont fanées (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

À la huitième semaine suivant l'infection, les plantes infectées par LsoB sont mortes ou mourantes (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018). Les plantes infectées par LsoA sont encore vivantes et vertes ; bien qu'une certaine décoloration persiste, elles continuent à croître mais sont plus rabougries que les plantes non infectées (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018).

### **5.3. Potentielle gestion de la bactériose par les champignons mycorhiziens arbusculaires**

L'approche la plus largement utilisée pour gérer la maladie due à Lso est l'application précoce et répétée d'insecticides (Levy *et al.*, 2015 ; Echeagaray et Rondon, 2017). Un contrôle potentiel de cette maladie réside aussi dans l'inoculation d'isolats de *Streptomyces* produisant des chitinases et des antibiotiques (Wang *et al.*, 2017 ; Horton, 2018). Les conséquences avérées et présumées de ces méthodes sont, respectivement, l'émergence de populations de psylles résistants (Prager *et al.*, 2013) et de pathovars Lso résistants aux antibiotiques. Les efforts visant à sélectionner des cultivars naturellement résistants n'ont permis d'identifier que des différences de sensibilité (Levy *et al.*, 2015).

Un autre moyen de lutte peut consister à pré-inoculer des microorganismes bénéfiques capables de promouvoir la croissance de la plante et les mécanismes de défense naturels contre les stress biotiques et abiotiques. Les champignons capables de former des mycorhizes arbusculaires avec 90 % des plantes vasculaires (Smith *et al.*, 2011 ; Smith et Smith, 2012, 2015) sont de bons candidats. Les CMA sont connus pour améliorer la biomasse végétale, la teneur des plantes en éléments nutritifs, modifier le modèle de distribution des éléments nutritifs des sources et aux puits des plantes et moduler les défenses des plantes. Leurs impacts réduisent la vulnérabilité des tissus foliaires aux agresseurs (Bennett *et al.*, 2006 ; Pozo et Azcón-Aguilar, 2007 ; Gehring et Bennett, 2009 ; Koricheva *et al.*, 2009 ; Pozo *et al.*, 2010, 2015 ; Barber *et al.*, 2013 ; Hoeksema *et al.*, 2018). La mycorhization peut amorcer des réactions de défense végétales

dépendantes de l'acide jasmonique vis à vis d'insectes herbivores et de pathogènes (Bennett *et al.*, 2006 ; Pozo et Azcón-Aguilar, 2007 ; Koricheva *et al.*, 2009 ; Pozo *et al.*, 2010 ; Pozo *et al.*, 2015).

En effet, la mycorhize arbusculaire formée par *Rhizophagus irregularis* a réduit de façon significative l'herbivorie d'insectes broyeurs, et la mycorhization par *Glomus fasciculatum* et *Funneliformis mosseae* a affecté négativement des insectes broyeurs et suceurs (Pozo et Azcón-Aguilar, 2007 ; Wehner *et al.*, 2010 ; Barber *et al.*, 2013).

Cependant, les effets de la mycorhization arbusculaire sur les insectes qui se nourrissent dans le phloème de la tomate, en particulier les psylles qui sont vecteurs de bactéries pathogènes limitées au phloème comme *Candidatus Liberibacter solanacearum* ne sont pas documentés.

En ce qui concerne les procaryotes pathogènes limités au phloème, il a été montré que la préinoculation de plantes avec *F. mosseae* BEG12 et *Pseudomonas putida* S1Pf1Rif a conduit à une réduction de la sévérité de la maladie associée à une diminution de la teneur en ADN du *Chrysanthemum yellows Phytoplasma*. D'après D'Amelio *et al.* (2011), cette mollicute, parasite obligatoire et limitée au phloème, est transmis par la cicadelle *Macrostelus quadripunctulatus* (Hemiptera : Cicadellidae). En outre, la formation de mycorhize arbusculaire sur tomate greffée et sur poire a permis de réduire les symptômes de maladies causées par des phytoplasmes (Pozo *et al.*, 2010). Ainsi les CMA et les PGPR peuvent induire une réponse de type "résistance systémique induite" ou "Induced Systemic Resistance" (ISR) capable de conférer une résistance envers les pathogènes limités au phloème (Pozo *et al.*, 2010 ; D'Amelio *et al.*, 2011).



## CHAPITRE 6 : STRESS LIÉ AU DÉFICIT HYDRIQUE

### 6.1. Définition du stress hydrique

Le stress lié à l'eau peut survenir par un excès d'eau ou par un déficit hydrique. Toutefois, le stress dû au déficit hydrique est beaucoup plus fréquent et est couramment désigné sous le vocable de "stress hydrique" (Raja *et al.*, 2017). Les plantes subissent un stress hydrique lorsque l'approvisionnement en eau par leurs racines devient limitant ou quand leur taux de transpiration dévient intense (Lisar *et al.*, 2012). Le stress hydrique est principalement causé par les situations de déficit en eau, comme la sécheresse ou la salinité élevée du sol. En cas de salinité élevée du sol et aussi dans des conditions d'inondations et de basses températures du sol, l'eau existe dans le sol mais les plantes ne peuvent pas l'absorber – c'est la "sécheresse physiologique". La sécheresse se produit chaque année dans de nombreuses régions du monde, le plus souvent dans les champs sous des climats arides. Cependant, même les régions ayant des précipitations adéquates mais non uniformes, connaissent des environnements déficients en eau (Lisar *et al.*, 2012).

### 6.2. Effets du stress hydrique sur les plantes

Le stress hydrique est de nature multidimensionnelle. Il affecte les plantes en causant des changements morphologiques, anatomiques, phénologiques, physiologiques, biochimiques et génétiques (Salekdeh *et al.*, 2009 ; Lisar *et al.*, 2012 ; Hosseini *et al.*, 2018).

#### 6.2.1. Modifications morphologiques, anatomiques et phénologiques

Le premier effet évident du stress hydrique est le flétrissement car la pression de turgescence qui gonfle les cellules végétales et maintient les plants debout est perdue. Sans cette force, les cellules à l'intérieur des feuilles des plantes commencent à plasmolyser, ce qui leur donne un aspect flasque. Au fur et à mesure que le flétrissement augmente le point de flétrissement permanent, les cellules végétales se plasmolysent complètement, causant leur mort (Farooq *et al.*, 2009 ; Lisar *et al.*, 2012).

Les effets du déficit hydrique se traduisent chez certaines plantes par des changements morphologiques spectaculaires. La taille de chacun des organes de la plante est fortement réduite sous l'action du déficit hydrique (Figure 5). La surface foliaire totale, le nombre de feuilles, ainsi que la longueur de la tige et le poids sec de la plante elle-même sont réduits dans des proportions significatives (Kotchi, 2004 ; Ghorchiani *et al.*, 2018 ; Xu *et al.*, 2019). Une réduction de 78 à 84 % de la hauteur de la tige, et 72 à 77 % de la surface foliaire est observée chez le kiwi (*Actinidia deliciosa*) soumis au stress hydrique (Brou, 1999). Les phénomènes de réduction de la longueur de la tige et du nombre de feuilles permettent toutefois à la plante

de diminuer sa surface transpirante dans des conditions hydriques limitantes (Brou, 1999 ; Lisar *et al.*, 2012). Quant aux racines, elles connaissent une croissance en longueur pour trouver les éléments nécessaires à la survie de la plante et pour maintenir la pression osmotique. Cette élongation s'accroît lorsque le stress hydrique s'intensifie (Macedo, 2012).

Chez la majorité des espèces végétales, le stress hydrique est lié aux modifications de l'anatomie et de l'ultrastructure des feuilles : rétrécissement de la taille des feuilles, diminution du nombre de stomates, épaissement des parois cellulaires des feuilles, cutinisation de la surface des feuilles et sous-développement du système conducteur (Lisar *et al.*, 2012). Ces modifications anatomiques induites par la déshydratation se répercutent sur le rendement de la photosynthèse et sur la productivité (Figure 5). L'inhibition de l'activité photosynthétique serait due notamment aux modifications des structures anatomiques des feuilles. Ces perturbations anatomiques entraînent une modification de la diffusion de la chaleur, de l'oxygène et du CO<sub>2</sub> dans les feuilles (Brou, 1999 ; Kotchi, 2004).

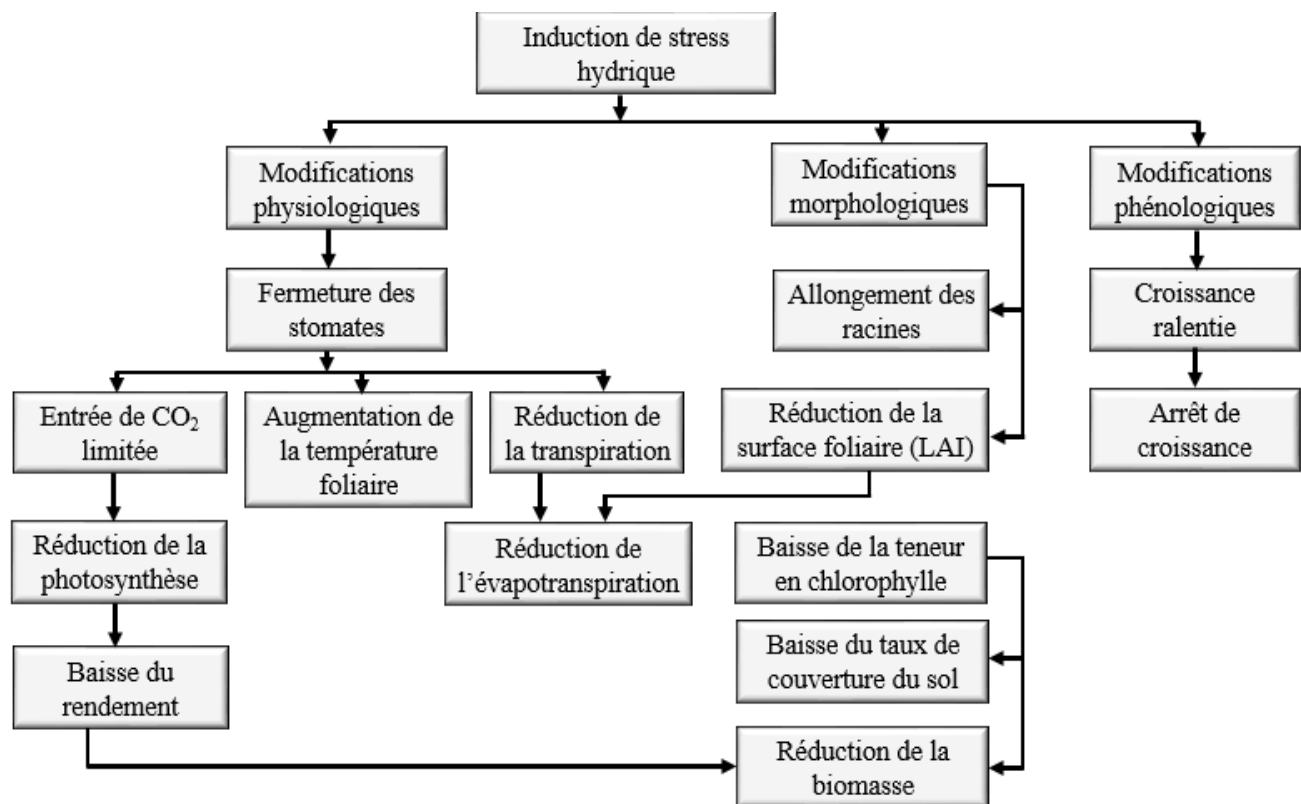


Figure 5. Quelques effets du déficit hydrique sur les plantes  
Modifié d'après Kotchi (2004)

L'impact du stress hydrique sur la productivité se caractérise de diverses manières selon le stade phénologique auquel le déficit hydrique s'installe. L'intervention du déficit hydrique pendant les jours qui précèdent la floraison est à l'origine de la formation d'organes reproducteurs inaptes à la fécondation (Brou,

1999). Les pollens étant insensibles au déficit hydrique, l'installation du stress hydrique pendant la floraison se traduit par l'émergence tardive de la soie après la formation des pollens chez le maïs. Il y a de ce fait une désynchronisation dans le développement des organes mâles et femelles. Celle-ci a pour conséquence la formation de nombreux épis stériles ou pauvres en graine (Herrero et Johnson, 1981). Enfin, il est nécessaire de préciser que si le stress hydrique retarde la floraison, il accélère la maturité des fruits. Ces perturbations morphologiques et phénologiques induites par le déficit hydrique sont surtout la conséquence des perturbations de la photosynthèse (Brou, 1999 ; Kotchi, 2004).

### **6.2.2. Modifications physiologiques, biochimiques et génétiques**

Les conditions de sécheresse entraînent des changements quantitatifs et qualitatifs dans les protéines végétales. En général, les protéines contenues dans les feuilles de la plante diminuent pendant les périodes de déficit hydrique en raison de l'arrêt de leur synthèse tandis qu'un ensemble restreint de protéines appelées protéines de stress ou protéines de choc thermique (Heat Shock Proteins, HSP) est induite (Lisar *et al.*, 2012). Ainsi, pendant que l'activité de certaines enzymes telles que la Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) et la Phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPcase) diminue, celle d'autres enzymes comme l' $\alpha$ -amylase et les protéinases peuvent augmenter. Le stress hydrique provoque donc l'activation ou l'inhibition de très nombreuses enzymes (Lisar *et al.*, 2012).

L'hormone végétale acide abscissique (ABA) est accumulée sous des conditions de déficit hydrique et joue un rôle dans la réponse et la tolérance à la déshydratation (Macedo, 2012). La fermeture des stomates et l'induction de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la défense contre le déficit hydrique sont fonction de l'ABA. Cette hormone est synthétisée à partir de caroténoïdes dans les cellules de la pointe des racines ou dans les cellules parenchymateuses des faisceaux vasculaires (Rao *et al.*, 2006). L'acide abscissique (ABA) synthétisé dans les racines pénètre dans les vaisseaux du xylème dans une forme libre ou conjugué du glucose, et de là il est transporté vers les feuilles. Les quantités d'ABA dans les sèves du xylème augmentent considérablement sous la réduction de la disponibilité de l'eau dans le sol, ce qui entraîne une augmentation de la concentration d'ABA dans différents compartiments de la feuille (Lisar *et al.*, 2012). Un autre effet bien connu du stress hydrique chez les plantes est la diminution de l'activité de la Pompe Motrice ATPase (PM-ATPase). Cette pompe a besoin de l'eau pour réaliser ses activités de protonation et déprotonation. Une faible activité de cette pompe augmente le pH et la déformation de la paroi cellulaire (Lisar *et al.*, 2012). L'acide abscissique (ABA) ne pouvant pas se fixer sur les sites de fixation situés sur la paroi cellulaire en raison de sa déformation, se déplace par le courant d'eau dans la

voie apoplasmique au niveau des feuilles. La concentration élevée d'ABA autour des cellules de garde entraîne la fermeture des stomates et aide à conserver l'eau (Lisar *et al.*, 2012).

Le stress hydrique modifie aussi l'expression des gènes et par conséquent, la synthèse de nouvelles protéines et d'Acide Ribonucléique messagers (ARNm). Les principales protéines synthétisées en réponse au stress hydrique sont les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant, abondantes en phase embryogénèse tardive), les protéines de stress de dessiccation, les protéines qui répondent à l'ABA, les enzymes nécessaires à la biosynthèse de divers osmoprotecteurs et les enzymes de détoxification du stress oxydatif généré (Lisar *et al.*, 2012). Les protéines HSPs et les protéines LEA sont deux types majeurs de protéines induites par différents stress, y compris le stress hydrique. La protection des macromolécules telles que les enzymes, les lipides et les ARNm contre la déshydratation sont des fonctions bien connues de ces protéines (Lisar *et al.*, 2012). Les protéines LEA sont des protéines présentes chez les animaux et les plantes qui protègent d'autres protéines contre l'agrégation due à la dessiccation ou aux stress osmotiques associés à la basse température (Hong-Bo *et al.*, 2005 ; Battaglia et Covarrubias, 2013 ; Liu *et al.*, 2017 ; Magwanga *et al.*, 2018). On a d'abord découvert que les protéines LEA s'accumulaient tardivement dans l'embryogenèse des graines de coton. Bien qu'abondantes dans les graines et les pollens, les protéines LEA se sont avérées protectrices contre la dessiccation, le froid ou une salinité élevée dans une variété d'organismes, y compris la bactérie *Deinococcus radiodurans*, le nématode *Caenorhabditis elegans*, la crevette de mer *Artemia* sp. et les rotifères (Battaglia et Covarrubias, 2013 ; Liu *et al.*, 2017 ; Magwanga *et al.*, 2018). Les protéines LEA fonctionnent par des mécanismes distincts de ceux des chaperons moléculaires HSP (Hong-Bo *et al.*, 2005 ; Battaglia et Covarrubias, 2013). Bien que les causes de l'induction des protéines LEA n'aient pas encore été déterminées (Lisar *et al.*, 2012), des changements de conformation des facteurs de transcription ou des protéines membranaires intégrines dus à la perte d'eau ont été suggérés (Hong-Bo *et al.*, 2005 ; Battaglia et Covarrubias, 2013 ; Liu *et al.*, 2017 ; Magwanga *et al.*, 2018). Les protéines LEA sont particulièrement protectrices des membranes mitochondriales contre les dommages dus à la déshydratation (Hong-Bo *et al.*, 2005 ; Battaglia et Covarrubias, 2013 ; Liu *et al.*, 2017 ; Magwanga *et al.*, 2018).

Les protéines HSPs agissent comme des chaperons moléculaires et sont responsables de la synthèse, du ciblage, de la maturation et de la dégradation des protéines dans de nombreux processus cellulaires. Ils jouent également un rôle important dans la stabilisation des protéines et des membranes ainsi que dans l'aide au repliement des protéines dans des conditions de stress (Macedo, 2012). L'expression des gènes de type LEA sous stress hydrique est régulée à la fois par des voies de signalisation indépendantes et dépendantes de l'ABA (Lisar *et al.*, 2012). Les gènes codants pour les protéines de type LEA sont divers – gènes RD

(Responsive to Dehydration), ERD (Early Response to Dehydration), KIN (Cold Inducible), COR (Cold Regulated), et RAB (Responsive to ABA) (Macedo, 2012). Le stress hydrique déclenche aussi un stress oxydatif (Brou, 1999 ; Lisar *et al.*, 2012).

#### 6.2.2.1. Stress oxydatif dû au déficit hydrique

Le stress oxydatif accompagne fréquemment de nombreux stress abiotiques (stress thermique, radiatif, salin, hydrique, etc.) et il provoque un effet secondaire délétère sur les cellules. Il est accompagné par la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui possèdent une plus ou moins grande réactivité et agressivité vis-à-vis des structures membranaires et/ou nucléaires de la cellule (Lisar *et al.*, 2012). Les ROS les plus connus sont le radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et sa forme protonée le radical hydroperoxyde ou perhydroxyle ( $HO_2^{\cdot}$ ), l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle ( $HO^{\cdot}$ ) et les deux formes de l'oxygène singulet que l'on note  $^1\Delta_gO_2$  et  $^1\Sigma_g^+O_2$  (Macedo, 2012). Les compartiments cellulaires communs dans lesquels les ROS sont produits sont les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes (Brou, 1999). Le stress hydrique peut induire chez les plantes la production du radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) qui en absence d'oxygénase, endommage les tissus végétaux. En présence d'oxygénase telle que la superoxyde dismutase (SOD), cet ion radical est transformé en eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) qui est aussi toxique pour les cellules lorsqu'elle s'accumule. La détoxification de la cellule est donc assurée par la catalase et l'ascorbate peroxydase (APX) qui le transforment en eau et en oxygène moléculaire (Brou, 1999).

#### 6.2.2.2. Effets sur la nutrition minérale et l'homéostasie ionique

Le stress hydrique affecte également la nutrition minérale des plantes et perturbe l'homéostasie ionique. Le calcium joue un rôle essentiel dans l'intégrité structurelle et fonctionnelle de la membrane végétale et d'autres structures (Macedo, 2012). Une diminution de la teneur en  $Ca^{2+}$  des plantes a été signalée dans de nombreuses plantes. En effet, le stress hydrique a entraîné une diminution d'environ 50 % de la teneur en  $Ca^{2+}$  dans les feuilles de maïs soumises à la sécheresse comparativement aux témoins (Heidari *et al.*, 2011 ; Lisar *et al.*, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014).

Le potassium est un nutriment important et joue un rôle essentiel dans la balance hydrique, l'ajustement osmotique, le mouvement stomatique et enfin la résistance des plantes à la sécheresse. Une diminution de la concentration de  $K^+$  a été signalée chez de nombreuses espèces de plantes en condition hydrique déficiente, principalement en raison de dommages à la membrane et d'une perturbation de l'homéostasie ionique. La plante déficiente en  $K^+$  a une résistance plus faible au stress hydrique (Lisar *et al.*, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014).

Le métabolisme de l'azote est le facteur le plus important qui influence la croissance et la performance des plantes. La perturbation du métabolisme de l'azote est un inconvénient interne crucial à la plante dans des conditions de déficit en eau. Certaines études ont montré une réduction de l'absorption des nitrates et une diminution de l'activité de la nitrate réductase sous l'effet du stress hydrique (Katan, 2009 ; Lisar *et al.*, 2012).

### **6.3. Réponses d'acclimatation des plantes au stress hydrique**

L'acclimatation peut sembler être un concept similaire à l'adaptation qui est une caractéristique acquise comme la résistance génétique dans une population et qui l'aide à vivre dans un nouvel environnement. L'adaptation peut prendre des générations à se développer et se produit au sein de la population, tandis que l'acclimatation est une modification certes lente mais réversible qui permet à un organisme individuel de faire face à un environnement différent. L'acclimatation peut se produire en quelques jours, plusieurs semaines ou même des mois mais n'est pas héréditaire ou génétiquement acquis (Heidari *et al.*, 2011 ; Lisar *et al.*, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014).

Les plantes s'acclimatent aux conditions de sécheresse par divers facteurs physiologiques, biochimiques, changements anatomiques et morphologiques, y compris les transitions dans l'expression des gènes (Macedo, 2012). La physiologie de la réponse à la sécheresse au niveau de l'ensemble de la plante est très complexe et implique des changements délétères et / ou adaptatifs. Cette complexité est due à certains facteurs tels que l'espèce ou la variété végétale, la pré-acclimatation antérieure ou non de la plante au stress hydrique, l'intensité et la durée d'application du stress, les conditions environnementales, ainsi que la croissance et l'état phénologique dans lequel le déficit hydrique s'est manifesté (Lisar *et al.*, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014).

Cependant bien avant la mise en place de la stratégie d'acclimatation, les conditions de stress déclenchent une pléthore de réponses végétales allant d'une modification de l'expression génétique et du métabolisme cellulaire à des changements dans les taux de croissance (réduction de croissance) et les baisses de rendements (Macedo, 2012). Au niveau moléculaire, la réponse de la plante se traduit par une altération de l'expression des gènes - cas des dommages liés à l'oxydation de biomolécules ou encore cas de la réponse typique à des températures élevées. Cette modification se manifeste par une réduction dans la synthèse normale des protéines accompagnée d'une accélération de la traduction de novo de protéines HSPs (Zid et Grignon, 1989 ; Tsan et Gao, 2009 ; Mothay et Ramesh, 2019).

Au niveau cellulaire, en plus de la modification du métabolisme cellulaire, la réponse de la plante au stress hydrique peut causer une perturbation des transports ioniques, une augmentation de la perméabilité membranaire, une inhibition de l'activité de la pompe  $H^+$ , une chute dans le potentiel membranaire et une augmentation de l'absorption du calcium à partir de l'apoplasme (Macedo, 2012). La réponse au niveau de la plante entière s'exprime par une baisse de la vitesse de la photosynthèse, des dégâts foliaires, une accélération de la sénescence et par une réduction de la croissance et une baisse dans la productivité (Macedo, 2012). Certaines plantes évitent les périodes de stress hydrique en accumulant suffisamment d'eau bien avant pour survivre pendant la période de stress. C'est ce qu'on appelle le mécanisme d'évitement des contraintes (Macedo, 2012).

Les stratégies des plantes pour faire face à la sécheresse impliquent normalement une concomitance de mécanismes d'évitement et de tolérance du stress. Les réponses précoces à la sécheresse aident généralement la plante à survivre pendant un certain temps. Ainsi, face au stress hydrique, la plante s'acclimata. Cette acclimatation est indiquée par l'accumulation de nouveaux métabolites associés à la structure afin d'améliorer le fonctionnement des plantes sous stress hydrique (Lisar *et al.*, 2012 ; Macedo, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014). Les principaux aspects de l'acclimatation impliquent le maintien de l'homéostasie (équilibre ionique et ajustement osmotique), la neutralisation et la réparation rapide des dommages comme le piégeage des espèces réactives de l'oxygène (ROS), la réduction du stress oxydatif, la régulation et la récupération de la croissance (Lisar *et al.*, 2012). La fermeture des stomates est le premier événement réactif bien connu des plantes à la déficience en eau. La fermeture des stomates est plus étroitement liée à la teneur en eau du sol qu'à l'état hydrique des feuilles, et est sous le contrôle de signaux tels que l'ABA produit dans les racines déshydratantes (Lisar *et al.*, 2012 ; Macedo, 2012 ; Bolat *et al.*, 2014).

#### **6.4. Mécanismes d'adaptation au stress hydrique**

La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à croître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Rao *et al.*, 2006). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et génétiques qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de la production (Lisar *et al.*, 2012).

#### **6.4.1. Adaptation phénologique**

Pour éviter les périodes difficiles pour la croissance et le développement, certaines variétés accomplissent leur cycle de développement avant l'installation du stress hydrique. La précocité constitue donc un important mécanisme d'évitement du stress hydrique de fin de cycle (Awatef *et al.*, 2017). Dans ces conditions, les paramètres phénologiques d'adaptation ou paramètres de précocité définissent le calage du cycle vis-à-vis des contraintes environnementales (Awatef *et al.*, 2017). La précocité assure une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau. En effet, en produisant la biomasse la plus élevée, les génotypes à croissance rapide et à maturité précoce utilisent mieux l'eau disponible et sont ainsi moins exposés aux stress environnementaux que les génotypes à croissance tardive (Awatef *et al.*, 2017).

#### **6.4.2. Adaptation morphologique et anatomique**

L'effet du stress hydrique peut se traduire, selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou génotype, par des modifications morphologiques pour augmenter l'absorption d'eau et pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilés (Fotso *et al.*, 2019). En effet, la diminution de la surface foliaire des feuilles et du nombre de tiges est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau (Farooq *et al.*, 2009). Une des principales modifications structurelles observées chez des plantes ayant subi un stress hydrique, concerne l'altération des propriétés physico-chimiques des parois cellulaires (Farooq *et al.*, 2009) et l'élongation du système racinaire. Ces changements peuvent être induits par des modifications au niveau des enzymes impliquées dans la biosynthèse des monolignols ou dans leurs assemblages dans la paroi. L'augmentation de l'expression de ces gènes peut être reliée à l'arrêt de la croissance et à l'épaississement de la paroi (Farooq *et al.*, 2009).

#### **6.4.3. Adaptation physiologique**

En condition de stress hydrique, plusieurs phénomènes physiologiques vitaux sont modifiés chez les plantes pour en surmonter les effets.

##### **6.4.3.1. Teneur en chlorophylle**

Sous un stress hydrique, une diminution de la teneur en chlorophylle est remarquée chez certaines plantes tel que le blé dur (Chakraborty et Pradhan, 2012). Pour limiter les pertes en eau par évaporation et aussi l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO<sub>2</sub> atmosphérique nécessaire à la photosynthèse, l'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (Rao *et al.* 2006 ; Lisar *et al.* 2012). Le rapport chlorophylle a / chlorophylle b est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique (Rao *et al.* 2006 ; Lisar *et al.* 2012). Des travaux ont



montré que l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress est suivie par une réduction de la teneur en pigments chlorophylliens totaux (Chlorophylles a et b). Ces résultats révèlent une certaine proportionnalité, mais inversée, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues (Tahri *et al.*, 1998). Par ailleurs, la survie des plantes au manque d'eau est en partie dû à l'entretien de la capacité photosynthétique des feuilles, permettant le rétablissement rapide des plantes à la suite d'une période de stress hydrique (Lisar *et al.*, 2012).

#### **6.4.3.2. Régulation stomatique**

La fermeture des stomates et l'inhibition de la croissance des feuilles constituent les premières réponses au déficit hydrique (Kotchi, 2004 ; Fotso *et al.*, 2019). Ces deux réponses permettent à la plante de limiter les pertes excessives en eau, qui peuvent entraîner la déshydratation cellulaire et les phénomènes de cavitation xylémienne (Lisar *et al.*, 2012). Le mécanisme d'ouverture et de fermeture des stomates est déterminé par le changement de turgescence des cellules de garde vis-à-vis des cellules du mésophylle, mais dépend aussi de la disponibilité en énergie métabolique et de la perméabilité des membranes (Fotso *et al.*, 2019). L'accroissement de la densité stomatique peut augmenter l'assimilation nette du CO<sub>2</sub> et diminuer la perte en eau. En effet, un nombre élevé de stomates peut engendrer des stomates de petite taille et à fermeture rapide (Chaves, 2004 ; Barnaby *et al.*, 2013). Par ailleurs, les variétés de maïs ayant une conductance et une densité stomatique élevée sont plus résistantes au stress hydrique en donnant le rendement en grains le plus satisfaisant. La régulation de l'état hydrique des parties aériennes végétales par la fermeture des stomates est notamment déclenchée par l'ABA, hormone synthétisée par les racines sujettes à un stress hydrique et véhiculée jusqu'aux feuilles par la sève brute (Davies *et al.*, 2005 ; Lisar *et al.*, 2012).

#### **6.4.3.3. Maintien de la teneur relative en eau**

La teneur relative en eau fait partie des paramètres physiologiques indicateurs de la résistance au stress hydrique des espèces végétales. Cet indicateur mesure le changement relatif dans le volume cellulaire des plantes (Fotso *et al.*, 2019). En pratique, la teneur relative en eau est autant caractéristique de l'état hydrique des végétaux que le potentiel hydrique (Fotso *et al.*, 2019). En effet, les espèces végétales qui maintiennent des teneurs foliaires relatives en eau élevées sont considérées comme étant des espèces résistantes à la sécheresse et/ou à la salinité et sont caractérisées par une grande capacité d'ajustement osmotique (Al-Ghumaiz *et al.*, 2017 ; Ekbic *et al.*, 2017).

#### **6.4.4. Mécanismes d'adaptation biochimique**

Pour s'adapter à la contrainte hydrique, une synthèse accrue de molécules est assurée et ces molécules assurent de nombreuses fonctions (Tahri *et al.*, 1998).

##### **6.4.4.1. Accumulation de la proline**

L'accumulation de la proline constitue un véritable mécanisme de tolérance au stress hydrique (Ashraf et Foolad, 2007). La proline est la molécule organique la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress. Son accumulation dans l'organisme, liée à l'osmorégulation cytoplasmique, est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observées chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique (Bandurska *et al.*, 2017). La proline joue un rôle dans le maintien de la croissance optimale des plantes en condition de stress hydrique (Fotso *et al.*, 2019).

##### **6.4.4.2. Sucres solubles**

Le potentiel osmotique peut être maintenu pour un stress hydrique de faible ou moyenne intensité, par ajustement osmotique (Bajji *et al.*, 2001). Les sucres peuvent servir de composés solubles compatibles pour cet ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules (proline, glycine-bétaïne, pinitol, etc.) (Bajji *et al.*, 2001 ; Finan et Guilak, 2010 ; Santander *et al.*, 2017). Par ailleurs, il a été observé que sous stress hydrique, les réserves amylacées sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose qui peut être associée à une inhibition de la synthèse de l'amidon (Bajji *et al.*, 2001 ; Finan et Guilak, 2010 ; Santander *et al.*, 2017). Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Barlet *et al.*, 1990). L'implication des sucres a été mise en évidence par les corrélations observées entre le contenu en certains sucres et l'acquisition de la tolérance (Bajji *et al.*, 2001 ; Finan et Guilak, 2010 ; Santander *et al.*, 2017).

##### **6.4.4.3. Polyphénols**

La production de composés phénoliques (ou polyphénols) est l'une des stratégies utilisées par certaines espèces végétales indigènes de milieux défavorables pour éviter les dommages oxydatifs causés par la sécheresse. *Larrea divaricata* montre une forte production de polyphénols tout au long de l'année, avec une synthèse améliorée en automne, saison de la plus grande sécheresse dans les savanes arbustives patagoniennes (Varela *et al.*, 2016). La variation des phénols totaux au fil des saisons est proportionnelle à la capacité antioxydante et inversement proportionnelle à la peroxydation des lipides (Varela *et al.*, 2016). Le génotype B229 du peuplier a également montré une augmentation de la capacité antioxydante et de l'activité de la Phénylalanine Ammonia Lyase (PAL) dans les racines et les feuilles sous stress hydrique.

Ce qui est l'indicateur de l'adaptabilité des peupliers au stress hydrique (Popović *et al.*, 2016). Les clones de thé tolérants au stress hydrique ont maintenu une teneur élevée en polyphénols à une faible teneur en eau du sol, et ont également montré moins de fluctuations dans les composés phénoliques lorsqu'ils étaient soumis à des changements dans la teneur en eau du sol (Cheruiyot *et al.*, 2007). Il existe une corrélation significative entre la teneur totale en polyphénols et la croissance des tiges et l'indice de stress hydrique du thé. Il existe également une relation linéaire (avec  $R^2 = 0,97$ ) pour le thé entre la teneur en eau du sol, l'indice de stress hydrique et la teneur en polyphénols des tiges (Cheruiyot *et al.*, 2007). Les polyphénols sont des indicateurs intéressants pour sélectionner des variétés de plantes tolérantes à la sécheresse (Cheruiyot *et al.*, 2007).

### CONCLUSION PARTIELLE

Le maïs, la tomate et l'hévéa sont des spéculations agricoles d'une grande importance alimentaire et industrielle. Toutefois, leurs cultures font face à de nombreux stress biotiques et abiotiques à l'origine de pertes importantes de production affectant le budget des planteurs et, par ricochet, l'économie des pays producteurs. Les moyens de lutte contre ces parasites sont diversifiés, mais, de plus en plus, aux dépens de la lutte chimique classique, la lutte biologique est encouragée, pour des raisons liées à la protection des ressources naturelles, à la préservation de l'environnement et à la santé des consommateurs. La section suivante sera consacrée au matériel ainsi qu'aux différentes méthodes employant les agents de lutte biologique que sont le PGPP *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 et/ou le CMA *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, mis en œuvre pour atteindre les objectifs de cette thèse.

**DEUXIÈME PARTIE :**  
**MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## INTRODUCTION

Dans le souci d'améliorer la disponibilité, la cohérence et la performance de la lutte biologique, il est nécessaire d'avoir une bonne compréhension des mécanismes moléculaires d'interaction plante - microbe. La manipulation correcte des gènes et des partenaires impliqués dans ces interactions peut permettre de mieux les exploiter à des fins de gestion efficiente de stress. Le but de cette partie est :

- de déterminer le rôle du gène *9-ZmLOX12* et des phénazines dans l'interaction maïs - microsymbiotes (CMA ET PGPP) - agent causal de l'antracnose foliaire (ALB) ;
- de déterminer le rôle des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* dans l'interaction tripartite maïs - CMA - stress hydrique ;
- d'analyser l'interaction tomate - CMA - LSO - psylle vecteur *Bactericera cockerelli* (Šulc) ;
- et d'évaluer la résistance induite par la mycorhization arbusculaire de l'hévéa au stress hydrique.

## CHAPITRE 7 : DÉTERMINATION DU RÔLE DU GÈNE *9-ZmLOX12* ET DES PHÉNAZINES DANS L'INTERACTION MAÏS - MICROSymbIOTES (CMA ET PGPP) - AGENT CAUSAL DE L'ANTHRACNOSE FOLIAIRE (ALB)

### 7.1 Introduction

Cette étude a porté sur le gène codant pour *9-ZmLOX12*, une 9-lipoxygénase impliquée dans la synthèse de l'acide jasmonique (JA) chez le maïs (Gao *et al.*, 2007 ; Christensen *et al.*, 2014).

Cette étude avait pour objectifs de caractériser :

- (1) l'effet de l'inactivation du gène sur la colonisation des racines de maïs par *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 en comparant les performances entre le type sauvage et le mutant ;
- (2) l'effet de l'inactivation du gène sur la sévérité de l'antracnose foliaire (ALB) de lignées préinoculées ou non en comparant les performances entre le type sauvage et le mutant ;
- (3) l'effet de la coinoculation de *R. irregularis* DAOM 197198 et de *P. chlororaphis* 30-84 sur l'antracnose foliaire (ALB) ;
- (4) la nature de l'interaction entre *P. chlororaphis* 30-84 et *R. irregularis* DAOM 197198 dans un split-root system particulièrement.

Les essais ainsi que leurs répliques se sont déroulés entre septembre 2014 et décembre 2016.

### 7.2 Prétraitement du matériel végétal et du substrat de culture

Le matériel végétal est composé de la lignée pure de maïs W438 résistante à l'ALB, de la lignée pure de maïs B73 sensible à l'ALB (Constantino *et al.*, 2013), et d'une lignée NIL (Near Isogenic Line) mutante chez qui le gène *ZmLOX12* a été inactivée. Cette lignée mutante ci-après désignée *B73lox12-1* a été obtenue par insertion d'un transposon de type mutateur dans la lignée B73. La lignée de maïs mutante utilisée est quasi isogénique au stade génétique de backcross sept (Christensen *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2019). Toutes les semences ont été fournies par le Department of Plant Pathology et Microbiology (Texas A&M University, College Station, Texas, USA). Les semences ont été désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium diluée à 3 % pendant 30 min et rincées deux fois à l'eau bidistillée stérilisée. Les semences désinfectées ont ensuite prégermé sur un milieu d'eau gélosée pendant quatre à cinq jours.

Les semences prégermées ont été transférées dans des pots de 3,79 litres (1 gal) remplis du substrat de culture "Metro-Mix 900" (Sun Gro® Horticulture Inc., Agawam, Massachusetts, USA) préalablement autoclavé (1 h par jour à 120 °C et à 1 bar pendant 3 jours consécutifs). Les semences ont enfin été déposées dans une chambre de culture. Une humidité de 50 % et un cycle alternant 12 h d'obscurité à 20 °C et de 12 h de lumière à 30 °C y ont été maintenus tout le long des essais. Le substrat de culture, Metro-Mix 900, contient 40 % écorce 25 % de tourbe de sphaigne canadienne, de 10 % de perlite et 25 % de vermiculite.

Dans les essais en split-root system, un plant d'une semaine d'âge après prégermination, a été transposé sur deux conteneurs de 164 ml chacun remplis du substrat de culture "Metro-Mix 900" afin que la moitié du système racinaire soit reçue dans chaque conteneur. Des plants âgés d'une semaine ont été utilisés dans les essais en split-root system parce que l'hypocotyle à ce stade de croissance s'insérait bien dans l'ouverture aménagée sur les deux conteneurs articulés et divisait le système racinaire en deux parts, chacune logeant dans un "conetainer". Toutes les plantes ont été cultivées dans la même chambre de culture et dans les mêmes conditions.

### **7.3 Obtention des mutants de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84**

La souche sauvage *P. chlororaphis* 30-84 (ci-après désignée Pc) est naturellement résistante à la rifampicine. Elle a été isolée de la rhizosphère de plants de blé (Pierson et Pierson, 1996) et fournie par le Department of Horticultural Sciences (Texas A&M University, College Station, Texas, USA).

Le mutant désigné "Phz- mutant" contient une fusion chromosomique *phzB-lacZ* inactivant l'expression de l'opéron de biosynthèse des phénazines. Il est dérivé de la souche *P. chlororaphis* 30-84 qui a été mutagénisé grâce au transposon Tn5 avec le plasmide pSUP1021 comme décrit précédemment (Wood et Pierson, 1996 ; Wood *et al.*, 1997). Des transconjugants putatifs ont été sélectionnés sur des milieux LB

contenant de la kanamycine (50 µg/ml) et de la rifampicine (100 µg/ml). Les transconjugants ont été ensemencés sur un milieu minimal M9 supplémenté avec du 4 % (poids/volume) de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-b-D-galactopyranoside (X-Gal ; 2 µl/ml) dissous dans du N,N-diméthylformamide, et ensuite visuellement criblés pour une couleur bleue foncée. Ce mutant produit de la  $\beta$ -galactosidase au lieu des phénazines.

Selon la procédure susmentionnée, un autre mutant Phz- a également été généré qui exprime la fluorescence verte de la GFP (Green fluorescent Protein) au lieu des phénazines. Ce mutant a été nommé PcGFP.

Le mutant Gac- (ci-après désigné Gac- mutant) est un mutant naturel qui peut être isolé de la rhizosphère de toutes les plantes inoculées quelques semaines auparavant avec le type sauvage de *P. chlororaphis* 30-84. Il est maintenu sur milieu de culture LB (Lysogeny Broth) ou KMB (King Medium B) en laboratoire. Le mutant Gac- n'a plus la capacité du quorum sensing et ne produit aucun métabolite secondaire, donc, pas de phénazines (Chancey *et al.*, 2002 ; Driscoll *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2013 ; Yan *et al.*, 2018).

L'expression de l'opéron de biosynthèse des phénazines (*phzXYFABCD*) est régulée par la région atténuative 5' UTR du gène *phzX* (Yu *et al.*, 2018). Afin de générer une souche mutante (ci-après désignée PcEnh) produisant plus de phénazines que *P. chlororaphis* 30-84 (cinq fois plus), un fragment d'ADN de 1,5 kb contenant une délétion de 90 pb dans le 5'-UTR de l'opéron biosynthétique des phénazines a été synthétisé par GeneScript (Piscataway, New Jersey, USA) et obtenu sous le nom de pUC57-Enh. Ce fragment manque 90 pb de séquence (incluant les deux sites de l'enzyme de restriction SspI et la seconde répétition directe) commençant à +8 pb (du site de début de transcription) jusqu'au RBS (Ribosome Binding Site) de *phzX*, mais maintenant le RBS endogène et le codon initiateur de *phzX* (Yu *et al.*, 2018). Pour faciliter la recombinaison homologue, le fragment comprenait une séquence flanquante en amont du site de l'enzyme de restriction EcoRV au milieu du *phzR* et en aval du site de l'enzyme de restriction BamHI à l'extrémité 3' du *phzY* (le deuxième gène de l'opéron *Phz*). Le fragment total de 1 575 pb a été cloné sur le site de BamHI du vecteur pLAFR3 générant le pLAF-phzEnh comme décrit par Yu *et al.* (2018). Le plasmide PLAF-phzEnh a été introduit dans des souches de *P. chlororaphis* 30-84 contenant le plasmide pUCP18-RedS tel que décrit par Wang *et al.* (2012) par accouplement tri-parental avec les souches *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  et HB101, et la délétion chromosomique 90-bp du 5'-UTR de l'opéron de biosynthèse des phénazines a été obtenue avec l'aide des recombinaisons du phage Red  $\lambda$  comme décrit par Lesic et Rahme (2008), Sharan *et al.* (2009) et Wang *et al.* (2012). Les colonies de couleur orange-foncée sur milieu PPMD (pigment production medium-D) sont les mutants souhaités. Le milieu PPMD est une

forme modifiée du milieu PPM dans lequel le Protéose Peptone no. 3 est remplacé, à la même concentration, par le Bacto Peptone (Wood et Pierson, 1996 ; Wood *et al.*, 1997). Le plasmide pUCP18-RedS a été éliminé en contre-sélection par ensemencement sur milieu LB (avec 5 g de NaCl par litre) supplémenté avec 5 % de sucrose comme décrit par Yu *et al.* (2018). Les colonies résistantes à la kanamycine et au sucrose ont été sélectionnées.

La souche sauvage *P. chlororaphis* 30-84 a également été transformée par fusion traductionnelle de l'opéron *Phz* avec le gène rapporteur GFP tel que décrit par Yu *et al.* (2018). Cette transformation a permis de suivre l'expression de l'opéron *Phz* et donc la production de phénazines. Ce mutant a été nommé *phz::gfp*. Il s'agit d'un *P. chlororaphis* portant un plasmide avec un rapporteur traductionnel indiquant l'expression génique pour la biosynthèse des phénazines (*phzB::gfp*).

#### **7.4 Inoculation de *Rhizophagus irregularis* et des souches dérivées de *Pseudomonas chlororaphis***

Pour l'inoculation mycorhizienne, 100 µl du produit commercial Myke Pro Potato L® (Premier Tech, Québec, Canada), qui contient 10 500 spores viables de *R. irregularis* DAOM 197198 par millilitre d'un milieu à base d'alginate de sodium, ont été répandus sur le système racinaire des plants au stade végétatif une feuille (V1) ou trois feuilles (V3) selon les protocoles expérimentaux. Les plants non mycorhizés ont également reçu une portion aliquote de 100 µl d'un filtrat (maille du filtre < 30 µm) du produit commercial mycorhizien afin de fournir le milieu à base d'alginate de sodium et la même population microbienne exempt de propagules du CMA.

Pour l'inoculation rhizobactérienne, une seule colonie d'une souche de *P. chlororaphis* 30-84 a été cultivée dans 25 ml de milieu LB à 27 °C sous agitation rapide. Après 12 h, les cellules ont été collectées après centrifugation à 3095×g (4000 tr/min) pendant 15 min et l'inoculum bactérien a été normalisé à l'absorbance ou densité optique DO<sub>620</sub> de 0,4 correspondant à la phase stationnaire (soit environ 10<sup>8</sup> - 10<sup>9</sup> CFU/ml) dans du tampon phosphate salin (PBS, pH = 7,4). Par la suite, 2,5 ml d'inoculum bactérien ont été appliqués directement sur le système racinaire des plants au stade végétatif une feuille (stade V1) ou 3 feuilles (stade V3) respectivement selon les expérimentations sur système racinaire entier ou en split-root system. Les plants non bactérisés ont également reçu la même quantité d'inoculum bactérien autoclavé (120 °C, 15 min) afin de fournir le milieu LB exempt de PGPP vivants.

#### **7.5 Inoculation foliaire de *Colletotrichum graminicola***



La souche M1.001 de *C. graminicola* a été caractérisée par Constantino *et al.* (2013) et fournie conservée sur des grains de gel de silice par le Department of Plant Pathology et Microbiology (Texas A&M University, College Station, Texas, USA). Elle a été cultivée pendant deux semaines sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) à température ambiante avec un éclairage continu provenant d'une source lumineuse fluorescente. La préparation de l'inoculum phytopathogène a été effectuée comme décrit précédemment (Venard et Vaillancourt, 2007 ; Sukno *et al.*, 2008). Pour ce faire, les conidies ont été collectées en ajoutant 10 ml d'eau pure à la boîte de Pétri et en raclant délicatement la surface avec un épandeur (spreader). La suspension conidienne a ensuite été filtrée à travers de la gaze (mousseline) stérile puis lavée à l'eau pure lors de deux centrifugations à  $1741 \times g$  (3000 tr/min) pendant 3 min. La concentration des conidies a ensuite été ajustée à  $1 \times 10^6$  conidies par ml à l'aide d'un hémocytomètre. Afin d'éliminer le ruissellement de l'inoculum sur la feuille, 0,01 % de Tween-20 a été ajouté à la suspension sporale. Des aliquotes de 10  $\mu$ l de la suspension conidienne ont été utilisées pour inoculer, tel que décrit par Raun *et al.* (2005), la 3<sup>ème</sup> feuille des plants au stade V3. Avant l'inoculation, les plants ont été couchés et les feuilles ont été scotchées délicatement dans un bac sur du papier stérile qui sera, après inoculation, imbibé d'eau pure afin d'assurer une humidité relative élevée dans l'enceinte après couverture du bac avec du plastique noir. Les plants sont restés ainsi dans l'obscurité pendant 18 h et à  $27 \pm 2$  °C suivant les consignes de Venard et Vaillancourt (2007). Les surfaces de lésions foliaires ont été évaluées trois jours après l'inoculation du pathogène tel suggéré par da Costa *et al.* (2014).

### 7.6 Application du régime hydrique et de la fertilisation

Les plants ont été arrosés par jour alterné avec 30 ml d'eau pure et 30 ml de la solution Hoagland 0,5 N depuis le repiquage jusqu'au stade végétatif 3 feuilles (stade V3). Un gramme de rock-phosphate [2 à 3 % d'hydroxyapatite (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] à libération lente de phosphate a été ajouté à 100 g du substrat avant le semis. La formule du rock phosphate est 0-3-0. L'azote (N) et le potassium (K) ont été apportés aux plants par la solution nutritive Hoagland 0,5 N (composition en Annexe 1).

### 7.7 Évaluation des effets des microsymbiotes sur l'antracnose foliaire

Les unités expérimentales étaient constituées de six plants par traitement, cultivés comme susmentionné. Les traitements consistaient en des plants inoculés ou non avec *Rhizophagus irregularis* DAOM 191798, les souches dérivées de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 et la souche M1.001 de *Colletotrichum graminicola*, comme indiqué au Tableau 2. Le traitement témoin consistait en six plants uniquement inoculés avec l'agent pathogène au stade végétatif trois feuilles (stade V3). Les plants recevant les agents

de lutte biologique ont été préinoculés au stade V1 avec au moins un des microorganismes bénéfiques et ensuite infectés au stade V3 avec l'agent pathogène (Tableau 2).

Tableau 2. Traitements pour l'évaluation de l'antagonisme de *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et de souches de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 vis-à-vis de *Colletotrichum graminicola* M1.001

Libellé des traitements	Type de microsymbiote inoculé	Période d'application du microsymbiote	Période d'application du pathogène
- Témoin	- Pas d'inoculation		
- Ri	- <i>R. irregularis</i> DAOM 197198		
- Pc	- Type sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84		
- Ri×Pc	- Coinoculation de Ri et Pc		
- PcEnH	- Mutant de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 produisant 5 fois plus de phénazines	Stade végétatif une feuille (Stade V1)	Stade végétatif trois feuilles (Stade V3)
- Gac- mutant	- Mutant naturel Gac de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 ne produisant pas de métabolites secondaires appliqué seulement à la lignée B73		
- Phz- mutant	- Mutant de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 ne produisant pas de phénazines mais de la $\beta$ -galactosidase		

Le dispositif en randomisation totale utilisé pour une lignée donnée est illustré dans la Figure 6.



Figure 6: Schéma du dispositif expérimental en randomisation totale de l'essai sur l'antracnose foliaire  
Pour la légende, voir Tableau 2

Trois jours après inoculation de l'agent pathogène, les feuilles inoculées ont été sectionnées, scannées et les surfaces des lésions ont été mesurées à l'aide du logiciel ImageJ 1.52p (NIH, Bethesda, Maryland, USA) en déterminant les régions d'intérêt comme décrit par Schneider *et al.* (2012) et Rueden *et al.* (2017). Une évaluation qualitative des réponses des lignées à l'infection pathologique selon les traitements de préinoculation racinaire a été aussi réalisée selon l'échelle de notation de da Costa *et al.* (2014) illustrée dans le Tableau 3.

Tableau 3. Échelle descriptive de la réaction des feuilles de maïs à l'antracnose en serre

Note	Réaction	Type de lésions
1	Résistance / hypersensibilité	Petites ponctuations chlorotiques (mouchetures), pouvant montrer des tissus nécrotiques, non entourées de zones décolorées. Absence de sporulation
2	Résistance	Lésion circulaire à irrégulière, de couleur brun pâle à brun, souvent entourée d'un halo chlorotique ou jaune. Absence de sporulation. Sévérité : moins de 5 %.
3	Résistance	Lésion circulaire à irrégulière, de couleur brun pâle à brun, souvent entourée d'un halo chlorotique ou jaune. Absence de sporulation. Sévérité maximale : 20 %.
4	Susceptibilité	Lésions de forme ovale prédominante, couleur gris verdâtre sur les deux surfaces foliaires, présence de halos concentriques en croissance. Présence de sporulation. Sévérité : 21 - 40 %.
5	Susceptibilité	Lésions de forme essentiellement ovale, couleur gris verdâtre sur les deux surfaces des feuilles, présence de halos concentriques en croissance. Présence de sporulation. Sévérité : plus de 40 %.

D'après da Costa *et al.* (2014)

Immédiatement après le scan, toutes les feuilles ont été traitées à l'azote liquide et conservées à -80 °C avant que la teneur en ergostérol par nombre de lésions ne soit mesurée grâce à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS). Pour cela, une feuille de chaque traitement a été placée dans un flacon à scintillation et découpée en morceaux. Les extractions d'ergostérol ont été préparées en incubant les feuilles découpées avec 5 ml de chloroforme mélangé à 2,5 ml de méthanol pour produire un solvant chloroforme et méthanol dans une proportion de 2:1 (v/v). Les feuilles dans la solution d'extraction ont été incubées pendant 16 heures à l'obscurité avant d'être filtrées à travers une seringue filtre à pores de 0,2 µm de membrane en nylon. 2 µl du filtrat ont été combinés avec 50 µl de 20 µM de cholestérol-C<sup>13</sup> (cholestérol-25, 26, 27-<sup>13</sup>C ; Sigma cat. # 3707678) dans du méthanol comme standard

interne et séchés sous un courant d'azote. Ensuite, les échantillons ont été remis en suspension dans 100 µl de méthanol et analysés en utilisant la chromatographie liquide en phase inverse couplée à l'ionisation chimique à pression atmosphérique en mode positif et la spectrométrie de masse en tandem [(+)LC-APCI-MS-MS] pour une confirmation et une quantification complètes de l'ergostérol dans les feuilles, telle que décrite par Headley *et al.* (2002). Le système a utilisé une colonne Ascentis Express C-18 (3 cm × 2,1 mm, 2,7 µm) connectée à un API 3200 LC/MS/MS avec monitoring des réactions multiples ou multiple reaction monitoring (MRM). Le volume d'injection était de 2 µl et la phase mobile isocratique était constituée de méthanol à un débit de 200 µl/min. Dans ces conditions, l'ergostérol est élué à 1,56 min en moyenne. L'effluent de la colonne a été acheminé à l'interface APCI d'un spectromètre de masse triple quadripôle de SCIEX (AB Sciex LLC, Framingham, Massachusetts, USA) réglé sur le mode d'ions positifs. Les conditions d'interface étaient les suivantes : Une tension de couronne de 7,2 kV et une température de source et de désolvation de 130 et 500 °C, respectivement. Le gaz azote du nébuliseur a été réglé au débit maximum, tandis que les débits du cône et de l'azote de désolvation ont été fixés à 151 et 181 L.h<sup>-1</sup> respectivement. La tension du cône d'échantillonnage a été maintenue à 11 V. Le monitoring des réactions multiples a été utilisé pour la confirmation et la quantification de l'ergostérol. Le suivi de la transition s'est fait de l'ion précurseur m/z 379,43 vers l'ion produit m/z 69,00 Da, avec un temps de séjour de 0,50 s et un retard entre les canaux de 0,10 s. La pression du boîtier de la cellule de collision a été augmentée à 3,38×10<sup>-4</sup> mbar en utilisant l'argon comme gaz de collision avec une énergie de collision appliquée de 78 eV (cadre de référence du laboratoire). La quantification était basée sur une méthode standard externe en cinq points avec un étalonnage linéaire (r<sup>2</sup> = 0,9998) sur une plage de concentration de 0,10-1,00 mg.ml<sup>-1</sup>.

L'incidence de la maladie (DI %) par lignée maïs et par traitement a aussi été calculée selon la formule :

$$DI = 100 \times \frac{\text{Nombre de feuilles nécrosées}}{\text{Nombre total de feuilles inoculées}} \quad (\text{Gomez } et al., 2019).$$

L'effet d'inoculation mycorhizienne (MIE %) a également été calculé par lignée de maïs comme suit :

$$MIE = 100 \times \frac{\text{Surface moyenne des lésions de plants mycorhizés} - \text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}{\text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}$$

(Surendirakumar *et al.*, 2019).

L'effet d'inoculation bactérienne (BIE %) a été calculé par lignée de maïs selon la formule suivante :

$$BIE = 100 \times \frac{\text{Surface moyenne des lésions de plants bactérisés} - \text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}{\text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}.$$

Formule adaptée d'après celle de Surendirakumar *et al.* (2019).

Enfin, l'effet de la coinoculation (DIE %) a été calculé par lignée de maïs selon la formule suivante :

$$\text{DIE} = 100 \times \frac{\text{Surface moyenne des lésions de plants coinoculés} - \text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}{\text{Surface moyenne des lésions de plants témoins}}$$

Formule adaptée d'après celle de Surendirakumar *et al.* (2019).

### 7.8 Évaluation de la colonisation racinaire

La longueur des racines colonisées par *Rhizophagus irregularis* 197198 a été estimée à l'aide du protocole de coloration de Phillips et Hayman (1970) et de la méthode du gridline intersect (Giovannetti et Mosse, 1980). La colonisation racinaire a été exprimée en pourcentage de la longueur mycorhizée des racines (Giovannetti, 2008 ; Brundrett, 2009). Pour ce faire, dans la méthode du gridline intersect, les racines sont dispersées au hasard dans une boîte de Petri de 9 cm de diamètre avec des lignes de grille de 11/14 cm (Annexe 2). L'observateur scrute le long de ces lignes de grille avec un microscope de dissection pour quantifier les intersections entre les lignes de grille et les racines - qui sont désignées comme étant soit colonisées, soit non mycorhiziennes. La proportion de la longueur des racines qui est mycorhizienne et la longueur totale des racines peuvent alors être calculées à partir d'un facteur de conversion dérivé de la longueur totale des lignes de la grille et de la surface de la boîte de Petri. Au moins 100 intersections ont été utilisées pour évaluer un échantillon et afin d'améliorer la précision de l'estimation du taux de colonisation, les échantillons ont été soumis à de nouvelles randomisations et recomptés dix fois.

La colonisation racinaire par *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 a été évaluée en dénombrant les unités formant colonies par gramme de racine (CFU/g) tel que décrit par Maddula *et al.* (2006, 2008). Pour ce faire, après avoir lavé délicatement les racines pour ôter le substrat de culture, elles ont été laissées à sécher brièvement (10 s maximum) sur une serviette de papier stérile et ensuite pesées. Elles ont alors été immergées dans 40 ml de solution tampon phosphate salin PBS (pH = 7,4) et les bactéries ont été isolées des racines en alternant trois séries de vortexage et de sonication d'une durée de 10 s chacune. Enfin, 100 µl d'une dilution de facteur 10<sup>4</sup> ont été répandus sur milieu de culture LB contenant de la rifampicine (100 µg/ml) et du cycloheximide (50 µg/ml). Les milieux de culture ont été incubés à 27 °C. Après deux jours, les CFU ont été comptées et normalisées par gramme de racines fraîches.

### 7.9 Évaluation du rôle inducteur de résistance systémique des phénazines

Une hypothèse plausible est que les phénazines agissent comme inducteur de résistance systémique chez les plantes. Cette hypothèse a été testée en inoculant au stade végétatif une feuille (stade V1), six plants de B73 et de W438 avec les souches dérivées de *Pseudomonas chlororaphis*, c'est-à-dire, Phz- mutant, Pc et PcEnh, dont la quantité de production de phénazines croît dans l'ordre de citation. Le protocole

d'inoculation foliaire du pathogène *Colletotrichum graminicola* M1.001 était identique à celui décrit précédemment. L'évaluation des effets des souches dérivées de *P. chlororaphis* sur les surfaces des lésions nécrotiques a été faite comme précédemment décrite.

### **7.10 Évaluation des effets de *Rhizophagus irregularis* sur la production de phénazines**

Une hypothèse plausible de la coexistence entre les deux microsymbiotes de l'étude est que *R. irregularis* a un mécanisme de résistance à l'effet antifongique des phénazines en réduisant la production et/ou la sécrétion de phénazines par *Pseudomonas chlororaphis*. Cette hypothèse a été partiellement vérifiée en utilisant *R. irregularis* en coinoculation ou non avec le mutant de *P. chlororaphis* phzB::gfp et le mutant PcGFP déficient en phénazines sur douze plantes de B73 au stade végétatif V1. Une méthode novatrice de cytométrie en flux basée sur le tri des cellules activées par fluorescence (FACS) a été utilisée pour mesurer l'expression de ces rapporteurs à base de GFP dans la rhizosphère. La cytométrie en flux basée sur le FACS est une méthode puissante pour la détection et la quantification de la fluorescence de milliers de cellules individuelles au sein d'une population, lorsqu'elles passent par seconde à travers un faisceau laser (Werra *et al.*, 2008). L'intensité médiane de la fluorescence verte a été mesurée par cytométrie en flux par semaine post inoculation sur six plants après fixation avec 2 % de formaldéhyde à l'aide d'un cytomètre en flux FACSCalibur équipé d'une source lumineuse d'excitation laser à ions argon de 15 mW refroidie à l'air (488 nm) (Becton Dickinson, San Jose, Californie, USA). Le cytomètre en flux recueille des données sur chaque cellule bactérienne s'écoulant dans un capillaire mince, notamment sa taille et sa granularité (complexité interne), déterminées respectivement avec le détecteur à diffusion frontale (FSC) et le détecteur à diffusion latérale (SSC), et ses émissions de fluorescence verte sont enregistrées avec les détecteurs de fluorescence FL1-H. Les signaux FSC ont été recueillis à l'aide d'une photodiode avec un facteur d'amplification de 10 et un seuil fixé à 72 et ont été traités en logarithme de gain. Les signaux SSC ont été détectés en gain logarithmique à l'aide d'un tube photomultiplicateur réglé à 350 V et à un seuil de 72. La fluorescence verte a été détectée dans la gamme de 515 à 545 nm avec le détecteur FL1-H réglé à une tension de tube photomultiplicateur de 505 V avec un gain logarithmique.

### **7.11 Évaluation de l'interaction *via planta* entre les microsymbiotes dans un split-root system**

Les unités expérimentales sont composées, ici, de plants dont le système racinaire est reparti en deux moitiés d'égale masse (split-root system) pour croître séparément dans un pot "conetainer" individuel. Le reste du plant au niveau de l'hypocotyle a été maintenu sans dommages dans une échancrure mitoyenne aménagée dans l'ouverture de deux pots "conetainers" rapprochés. Le dispositif du split-root system est illustré par la Figure 7 et en Annexe 3.



Figure 7. Schéma du dispositif de split-root system

Les préinoculations séquentielles et spatiales du split-root system sur six plants sont consignées dans le Tableau 4. Les unités formant colonies par gramme de racine (CFU/g) de *P. chlororaphis* et le pourcentage de longueur mycorhizée des racines de *R. irregularis* ont été mesurés à sept semaines après le semis soit trois semaines environ après le stade V3, comme décrit précédemment.

Tableau 4. Traitements de l'essai pour l'évaluation de l'interaction entre *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 dans un split-root system

Traitement sur une moitié du système racinaire au stade végétatif une feuille (stade V1)	Traitement sur l'autre moitié du système racinaire au stade végétatif trois feuilles (stade V3)	Symbole du traitement séquentiel
- Pas d'inoculation	Pas d'inoculation	No/No
- Pas d'inoculation	<i>R. irregularis</i> DAOM 197198 inoculée à 28 jours après semis (JAS)	No/Ri
- Pas d'inoculation	Souche sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 inoculée à 28 JAS	No/Pc
- Pas d'inoculation	<i>R. irregularis</i> DAOM 197198 et souche sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 inocuées à 28 JAS	No/Ri×Pc
- <i>R. irregularis</i> DAOM 197198 inoculée à 7 JAS	Souche sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 inoculée à 28 JAS	Ri/Pc
- Souche sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 inoculée à 7 JAS	<i>R. irregularis</i> DAOM 197198 inoculé à 28 JAS	Pc/Ri
- <i>R. irregularis</i> DAOM 197198 inoculée à 28 JAS	Souche sauvage de <i>P. chlororaphis</i> 30-84 inoculée à 28 JAS	Ri:Pc

Stade V1 : stade végétatif une feuille ; Stade V3 : Stade végétatif trois feuilles ; JAS : Jours Après Semis ; "/" et ":" symbolisent le split-root system

### **7.12 Inhibition *in vitro* de la croissance du pathogène par la bactérie symbiotique**

La souche M1.001 de *Colletotrichum graminicola* a d'abord été cultivée sur milieu PDA pendant sept jours, et un fragment de 3 mm de diamètre a été prélevé en bordure de la colonie et transféré au centre d'une nouvelle boîte de PDA. Après deux jours de culture, 5 µl de suspension du type sauvage Pc, du mutant Phz<sup>-</sup> et du mutant Gac<sup>-</sup>, cultivés dans 3 ml de milieu liquide LB à 28 °C pendant 10 h sous agitation rapide, ont été déposés à 3 cm du centre du fragment du champignon pathogène. La distance entre le bord du mycélium et la colonie bactérienne, la zone d'inhibition, a été mesurée 10 jours après application bactérienne.

### **7.13 Analyses statistiques**

Les tests statistiques d'évaluation des conditions d'application de l'analyse de variance (ANOVA) n'ont montré aucune violation de la normalité et d'homogénéité des variances des erreurs. Les données ont donc été soumises à l'ANOVA du logiciel Xlstat® version 2019 (Addinsoft, USA). Le test de comparaison par paires de moyennes de Tukey HSD du même logiciel a ensuite été utilisé pour indiquer les traitements ayant des effets statistiquement identiques.



## CHAPITRE 8 : DÉTERMINATION DU RÔLE DES GÈNES *9-ZmLOX3* ET *9-ZmLOX12* DANS L'INTERACTION TRIPARTITE MAÏS - CMA - STRESS HYDRIQUE

### 8.1. Introduction

Cette étude avait pour objectifs spécifiques d'analyser :

1. les effets du stress hydrique survenant au stade végétatif 3 feuilles (V3) de 3 génotypes de maïs ;
2. les effets du stress hydrique sur les paramètres d'infectivité, d'effectivité et la reproduction du champignon mycorhizien arbusculaire (CMA) *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 ;
3. le niveau de résistance induite par la prémycorhization vis-à-vis du stress hydrique ;
4. le rôle des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* et la nature de leurs interactions avec la mycorhization dans l'induction de résistance au stress hydrique chez le maïs en comparant les performances entre le type sauvage et les mutants.

### 8.2. Matériel biologique

Le matériel végétal est composé de trois lignées de maïs : W438, B73, le mutant *9-zmlox3-4* (ci-après désigné *B73lox3-4*) et le mutant *9-zmlox12-1* (ci-après désigné *B73lox12-1*). B73 et W438 étaient respectivement sensibles et résistants à la sécheresse (Schnable *et al.*, 2009). Les mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* sont des NIL (Near-Isogenic Lines) au stade backcross sept (BC7) avec le fond génétique de B73 (Gao *et al.*, 2009 ; Constantino *et al.*, 2013 ; Christensen *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2019). Elles ont été obtenues après désorganisation de la séquence codante des allèles 4 et 1, respectivement des *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* dans la lignée B73 (Gao *et al.*, 2008 ; Gao *et al.*, 2009)

Le matériel fongique était une formulation poudreuse commercialisée par la société Premier Tech (Canada) et contenant 500 spores viables de *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 par gramme.

### 8.3. Sol

Le substrat de culture, un sol limon-sableux, a été tamisé (maille 5 mm) et stérilisé à l'étuve (1 h/jour à 120 °C et à 1 bar pendant 3 jours consécutifs) avant utilisation. Les caractéristiques chimiques du sol après analyse par le Laboratoire d'Analyse des Végétaux et de Sols (Département Eaux, Forêts et Environnement, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, Yamoussoukro, Centre Côte d'Ivoire) sont consignées dans le Tableau 5.

Tableau 5. Caractéristiques chimiques du substrat de culture

Propriétés chimiques	Valeurs
pH eau	6,78
Matière Organique (%)	3,39
N (%)	0,36
Rapport C/N	6,43
P. total (ppm)	825
P. assimilable (ppm)	50
CEC (cmol.kg <sup>-1</sup> )	29,4
Ca <sup>2+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	8,26
Mg <sup>2+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	3,106
K <sup>+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	0,458
Na <sup>+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	0,218

Ce sol est très riche en azote selon les règles d'interprétation de Pansu *et al.* (2003) et le rapport C/N indique une bonne décomposition de la matière organique. Toutefois, selon les normes d'interprétation du phosphore assimilable de Pansu *et al.* (2003), il est pauvre en phosphore assimilable. La CEC indique une capacité de stockage d'éléments nutritifs très élevée. Cela traduit une bonne fertilité chimique de ce sol selon les critères de Duchaufour (1977). La capacité de rétention maximale en eau du substrat de culture (CR) a aussi été déterminée avant le début de l'expérimentation. Pour ce faire, 10 pots autoclavables de même capacité (1,5 litres) et masse que ceux utilisés lors de l'expérimentation ont été remplis du substrat de culture jusqu'à un litre de leur capacité. Ils ont été arrosés jusqu'à saturation puis laissés reposer le temps que le surplus d'eau s'échappe des pores aménagés dans le fond des pots. La CR a été ainsi atteinte. La masse individuelle des pots et de leur contenu frais a alors été enregistré. Elle constituait la masse fraîche, FW. Les pots ont été ensuite étuvés à 70 °C pendant 48 h puis pesés à nouveau pour obtenir la masse sèche DW. La CR en ml a été déterminée par la différence entre FW et DW et la teneur en eau du substrat en pourcentage par la formule  $(FW - DW) \times 100 / FW$ . La CR de cette étude était de 235 ml.

#### 8.4. Plan d'expérimentation

L'essai a été effectué dans la grande serre non vitrée du Département Agriculture et Ressources Animales de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (Yamoussoukro, Côte d'Ivoire). L'essai a duré 45 jours et a été reproduite deux fois entre octobre 2017 et mars 2018. La température de la serre a

varié entre 23 et 41,4 °C, avec une photopériode estimée à 12 h et une humidité relative de 36,9 à 53,1 %. Un dispositif factoriel en blocs complets randomisés (Figure 8) a été mis en place avec deux modalités d'inoculation : plants témoins, non mycorhizés, (NM) et plants inoculés avec le CMA *R. irregularis* DAOM 197198 (Ri). Chaque modalité d'inoculation a été répétée six fois. Il y avait donc au total 144 pots (un plant d'une des quatre lignées par pot), de sorte que 16 plants par modalité d'inoculation ont été cultivés en maintenant la CR à 100 % pendant toute l'expérience, tandis que 16 autres plants par modalité d'inoculation ont été cultivés en nivelant la CR du sol à 50 % (stress hydrique modéré). Les 16 autres plants restants ont été cultivés en maintenant la CR du sol à 10 % (stress hydrique sévère). Le facteur d'hétérogénéité est un gradient de lumière orienté Nord - Sud.

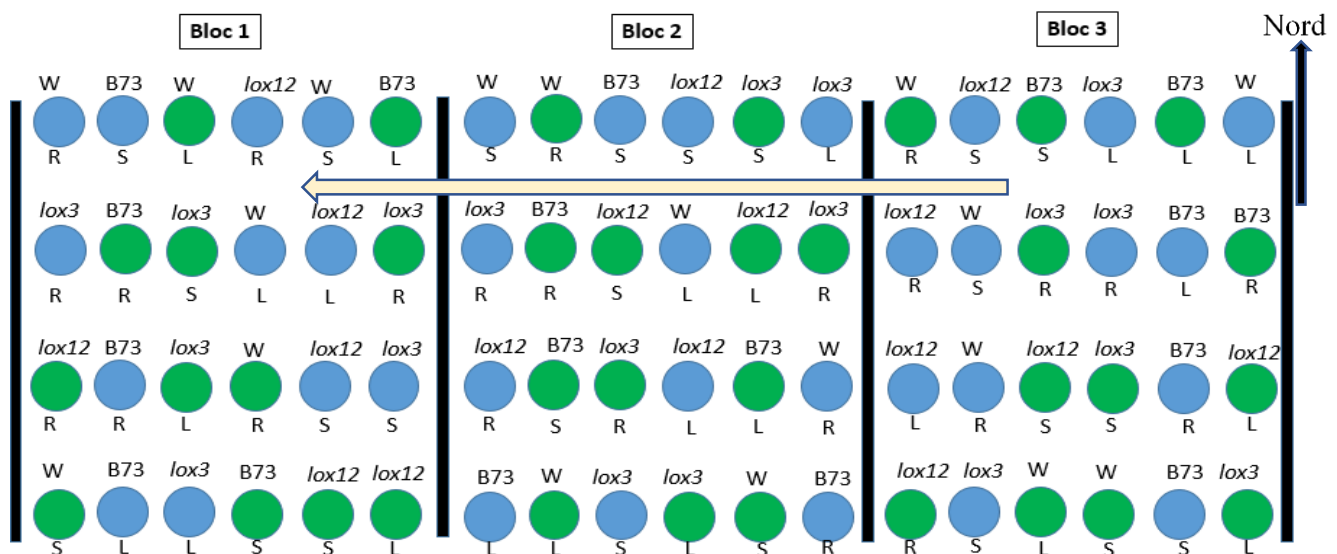


Figure 8. Schéma partiel du dispositif expérimental en blocs complets randomisés

● Plant inoculé ; ● Plant non inoculé      ← Sens du gradient de lumière  
 Géométrie : 0,3 m × 0,3 m entre pots et 1 m entre blocs.

W438 (W), B73, *B73lox12-1* (*lox12*) et *B73lox3-4* (*lox3*) sont des lignées de maïs.

R : aucun stress hydrique ; L : stress hydrique modéré ; S : stress hydrique sévère. ↑ Nord géographique.

### 8.5. Inoculation du champignon mycorhizien arbusculaire

Dix (10) g d'inoculum (contenant 500 spores/g) ont été épandus sur le système racinaire des plants au stade végétatif une feuille (stade V1). Les plants témoins ont reçu une aliquote de 10 g d'un filtrat (maille du tamis < 30 µm) de l'inoculum mycorhizien arbusculaire afin de fournir la même population microbienne exempt de propagules mycorhiziens arbusculaires.

## 8.6. Conditions de culture

Les semences ont d'abord été désinfectées pendant 20 min dans une solution d'hypochlorite de sodium dilué à 3 %, puis rincées abondamment avec de l'eau distillée stérile. Les semences ont ensuite été placées dans des boîtes de Pétri stériles sur du papier buvard stérile imbibé d'eau pure. Les boîtes de Pétri ont subséquemment été incubées à 25 - 28 °C à l'obscurité. Cinq jours plus tard, les semences ayant prégermé ont été repiquées individuellement dans des pots de capacité 1,5 litres (12 cm de diamètre et 12,5 cm de hauteur) contenant le substrat stérilisé. La teneur en eau du substrat a été maintenue à 100 % de la CR jusqu'au stade V1 où l'inoculation a eu lieu. Excepté le jour de l'inoculation, les plants ont ainsi été arrosés jusqu'au stade V3 pour éviter tout effet de sécheresse. Les plants ont été ainsi entretenus pendant 15 jours avant l'imposition du stress hydrique pour permettre une croissance adéquate et un bon établissement de la symbiose. Au stade V3, la teneur en eau du sol a été nivelée à 10 %, 50 % ou 100 % de la CR quotidiennement par la méthode des pesées telle que décrite par Meddich *et al.* (2000). Les plants ont été maintenus dans ces conditions de stress pendant 20 jours supplémentaires. Aucun engrais n'a été apporté durant l'essai. Egalement, aucune application de pesticide n'a été faite pendant l'expérience.

## 8.7. Paramètres mesurés

### 8.7.1. Température foliaire

La température de la plus jeune feuille complètement développée a été mesurée à l'aide d'un thermomètre infrarouge (IR laser LCD GM 320), tous les deux jours depuis le 15<sup>ème</sup> jour post-inoculation (jpi). Ces mesures ont été réalisées à 08h00, 13h00 et 17h30. Seules les mesures réalisées en fin d'expérimentation (42 jpi) et à 13h00 ont été présentées.

### 8.7.2. Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles

Les masses fraîche (ci-après désignée FW), turgescence (ci-après désignée TW, obtenue après flottaison dans l'eau pendant 4 h) et sèche (ci-après désignée DW, obtenue après un séjour de 48 h au four à 85 °C) des feuilles ont été utilisés pour calculer leur teneur relative en eau (RWC) comme suit :

$$RWC = (FW - DW) \times 100 / (TW - DW) \quad (\text{Soltys-Kalina } et al., 2016).$$

### 8.7.3. Dépendance mycorhizienne

La dépendance mycorhizienne (MD) mesure la dépendance de la croissance vis-à-vis de la mycorhization. Elle a été déterminée selon la formule utilisée par Plenchette *et al.* (1983) et Declerck *et al.* (1995) :

$$MD = \frac{\text{Biomasse sèche des plants mycorhizés} - \text{Biomasse sèche des plants non mycorhizés}}{\text{Biomasse sèche des plants mycorhizés}} \times 100$$

#### 8.7.4. Efficience agronomique de l'utilisation de l'eau

L'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau (ci-après désignée WUE) qui reflète le rendement de la biomasse par unité d'eau appliquée pendant l'essai a été déterminée comme suit :

$$WUE \text{ (g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d'eau)} = \frac{\text{Biomasse sèche de la plante}}{\text{Quantité d'eau appliquée}} \quad (\text{van Halsema et Vincent, 2012})$$

#### 8.7.5. Extraction et dosage spectrophotométrique de polyphénols totaux

Les racines et les feuilles séchées au four (à 40 °C jusqu'à masse constante) ont été transformées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis gardées à 4 °C jusqu'à utilisation. Ensuite, 300 mg du broyat ont été placés dans un bécher en verre contenant 16 ml de méthanol 80 %. Après une légère agitation et sonication, les béchers ont été laissés à température ambiante pendant 3 h. Les macérats obtenus ont été centrifugés à 2000 tr/min pendant 3 min et filtrés pour obtenir des extraits bruts (Adjé *et al.*, 2010 ; Melo-Silveira *et al.*, 2014 ; Laib et Barkat, 2018 ; Machado *et al.*, 2019 ; Sousa *et al.*, 2019). Ensuite, la méthode décrite par Koffi *et al.* (2013) a été utilisée pour la quantification des polyphénols totaux. Pour ce faire, 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué (1/10) ont été ajoutés à 30 µl d'extrait. Le mélange a été conservé pendant 2 min dans l'obscurité à température ambiante, puis 2 ml de solution de carbonate de calcium (75 g.l<sup>-1</sup>) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été placé pendant 15 min dans un bain-marie à 50 °C, puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à  $\lambda_{max} = 760$  nm contre de l'eau distillée utilisée comme blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Jenway 6705, Barloworld Scientific SAS, France). Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec de l'acide gallique à différentes concentrations (1 - 80 µg/ml). Les analyses ont été effectuées en trois répliques et la concentration en polyphénols a été exprimée en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme de racines ou de feuilles (mg Eq GAE/g).

La teneur totale en polyphénols ( $Q_{\text{polyphenols}}$ ) a été calculée selon la formule suivante :

$$Q_{\text{polyphenols}} \text{ (mg GAE / g)} = (C \times V) / m$$

où V désigne le volume final de l'extrait (ml), C, la concentration de l'extrait obtenue avec la courbe d'étalonnage (mg/ml), et m, la masse de l'échantillon (g).

#### 8.7.6. Détermination du potentiel antioxydant des polyphénols par la méthode ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité des composés polyphénoliques à réduire le radical cation ABTS<sup>•+</sup> (acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazolin-6-sulfonique). Le test a été effectué selon la méthode décrite par Teow *et al.* (2007). Pour cela, le radical ABTS<sup>•+</sup> a été produit en faisant réagir 8 mM ABTS (87,7 mg dans 20 ml d'eau distillée) et 3 mM de persulfate de potassium (0,0162 g dans 20 ml d'eau distillée) selon un rapport 1:1 (v/v). Le mélange a ensuite été incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16

h. Cette solution ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec du méthanol pour obtenir une solution ayant une absorbance de  $0,700 \pm 0,02$  à  $\lambda_{max} = 734$  nm (absorbance à blanc). Ensuite, un échantillon d'essai de 3,9 ml de cette solution ABTS<sup>•+</sup> diluée a été ajouté à 100 µl d'extrait de feuille. Après agitation, le mélange a été incubé pendant 6 min à l'obscurité et à  $30 \pm 2$  °C. L'absorbance du radical ABTS<sup>•+</sup> a ensuite été mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible et devrait être comprise entre 20 % et 80 % de l'absorbance à blanc. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec les concentrations suivantes de Trolox (acide 6-hydroxy 2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique) : 0,375 µM ; 0,5 µM ; 0,625 µM ; 1 µM ; 1,125 µM, 1,375 µM et 1,5 µM. Le pourcentage d'inhibition (%I) des ABTS<sup>•+</sup> a été exprimé comme suit :

$$\% I = [(A_0 - A_{\text{extract}}) \times 100 / A_0]$$

où  $A_0$  est l'absorbance d'ABTS diluée, et  $A_{\text{extract}}$ , l'absorbance d'ABTS<sup>•+</sup> diluée + l'absorbance de l'échantillon. Les échantillons ont été analysés en trois répétitions.

#### 8.7.7. Indice de tolérance au stress

L'indice de tolérance au stress ou Stress Tolerance Index (STI) a été calculé selon la méthode décrite par Fernandez (1992) :  $STI = Y_s \times Y_p / \bar{Y}_p^2$ . Pour chaque traitement d'inoculation,  $Y_s$  et  $Y_p$  sont les biomasses sèches moyennes d'un génotype donné évalué respectivement en conditions de stress hydrique et de non-stress, et  $\bar{Y}_p$  est la moyenne de biomasses sèches moyennes de tous les génotypes en absence de stress.

#### 8.7.8. Estimation de la colonisation mycorhizienne

Les structures mycorhiziennes ont été colorées avec une solution de bleu de trypan à 0,05 % selon la méthode de Phillips et Hayman (1970). Les racines prélevées juste avant le stress hydrique (15 jpi) ont permis de s'assurer de l'effectivité de l'inoculation de propagules viables de CMA. L'intensité de mycorhization M % et l'abondance arbusculaire A % du système racinaire ont été re-estimées à 33 jpi selon la méthode de Trouvelot *et al.* (1986). Pour ce faire, 30 fragments de racines d'environ 1 cm de longueur ont été préalablement colorés au bleu de trypan (0,05 %) selon le protocole de Phillips et Hayman (1970), puis disposés parallèlement entre lame et lamelle, à raison de quinze par lame, dans une goutte de solution de glycérol 50 %. L'examen histologique des structures mycorhiziennes dans chaque fragment racinaire s'est faite avec le microscope photonique Amscope avec l'aide de deux barèmes de classes de colonisation et d'abondance arbusculaire (Figure 9) suggérés par Trouvelot *et al.*(1986).

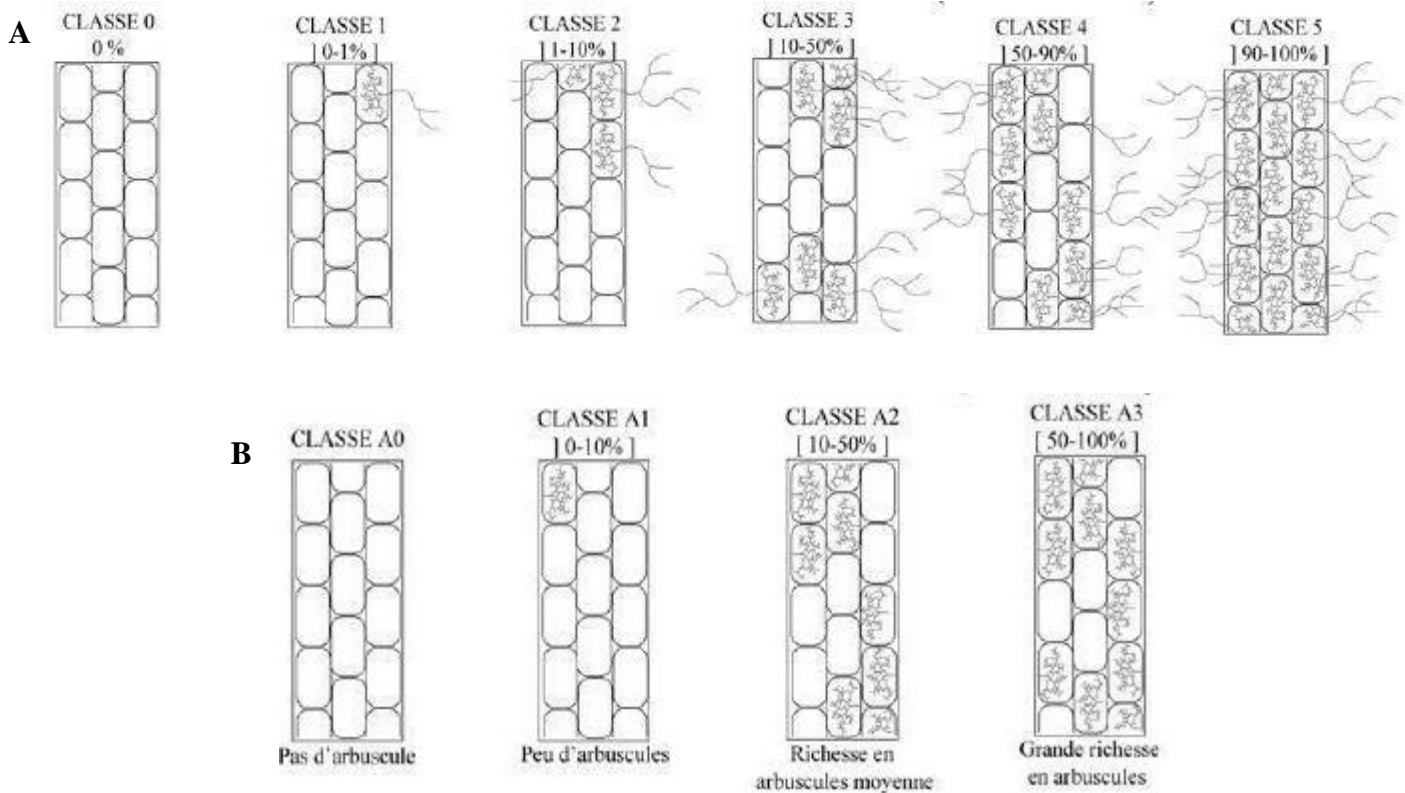


Figure 9. Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne

Les classes de pourcentage d'infection mycorhizienne sont notés de 0 à 5. Les classes d'abondance arbusculaires sont notés A0 (pas d'arbuscules), A1 (quelques d'arbuscules), A2 (arbuscules fréquents) et A3 (arbuscules abondants) (Trouvelot *et al.*, 1986).

### Les paramètres d'infectivité sont les suivants :

- La fréquence de mycorhization du système racinaire **F %**, a été évaluée comme suit :

$$F \% = \frac{\text{nombre de fragments mycorhizés} \times 100}{n} \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986)$$

Où  $n$  désigne le nombre total de fragments de racines

- L'intensité de mycorhization des fragments racinaires **m %**, a été déterminée comme suit :

$$m \% = \frac{95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1}{\text{nombre de fragments mycorhizés}} \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986)$$

Où  $n_i$  désigne le nombre de racines ayant une classe  $i$  de colonisation (Figure 9A).

Le paramètre **m %** a servi à calculer l'intensité ou taux de mycorhization **M %** du système racinaire.

- Le taux de mycorhization du système racinaire **M %** a été calculé comme suit :

$$M \% = m \times F/100 = \frac{95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1}{n} \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986)$$

Où  $n_i$  désigne le nombre de racines ayant une classe  $i$  de colonisation (Figure 9A) et  $n$ , le nombre total de fragments de racines déposés entre lame et lamelle.

**Les paramètres d'effectivité de la symbiose étaient :**

- L'abondance arbusculaire **a** % des parties mycorhizées des fragments de racines

$$a \% = \frac{100mA_3+50mA_2+10mA_1}{100} \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986)$$

Où  $mA_3$ ,  $mA_2$ , et  $mA_1$  sont les **m**%, évalués à l'aide des classes de figures d'arbuscules (Figure 9B) notées  $A_3$ ,  $A_2$ ,  $A_1$ , respectivement, avec :

$$mA_i = \left( \frac{95n_5A_i+70n_4A_i+30n_3A_i+5n_2A_i+n_1A_i}{\text{nombre de fragments mycorhizés}} \right) \times \frac{100}{m} \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986)$$

$n_i$  désigne le nombre de racines ayant une classe  $i$  de colonisation (Figure 9A)

- L'abondance arbusculaire **A** % du système racinaire a été calculée comme suit :

$$A \% = a \times (M/100) \quad (\text{Trouvelot } et al., 1986).$$

**8.7.9. Densité sporale du sol**

Les spores de *R. irregularis* ont été extraites par la technique de tamisage humide et de centrifugation dans 50 % de saccharose telle que décrite par Gerdemann et Nicolson (1963), cités par Brundrett et Juniper (1995). Les spores extraites du substrat ont été placées dans des boîtes de Pétri et comptées sous un microscope optique à un grossissement de 40X. Pour chaque échantillon de sol prélevé, la densité sporale a été déterminée comme étant le nombre de spores par gramme de sol. Ce paramètre exprimait l'effet du stress hydrique sur la reproduction de *R. irregularis* et donc sur la mycorhization.

**8.8. Analyses statistiques**

Les tests statistiques d'évaluation des conditions d'application de l'analyse de variance (ANOVA) n'ont montré aucune violation de la normalité et d'homogénéité des variances des erreurs. Une analyse multivariée de la variance (MANOVA) du logiciel Xlstat® version 2019 (Addinsoft, USA) a préféablement été faite avec les données de biomasse sèche et de teneur relative en eau afin de prendre en compte la relation entre ces deux variables de réponses qui amplifie l'erreur de type I. L'ANOVA du même logiciel a été utilisé pour analyser les autres données. Le test de comparaison par paires de moyennes de Tukey HSD du même logiciel a ensuite été utilisé pour indiquer les traitements ayant des effets statistiquement identiques.



## CHAPITRE 9 : ANALYSE DE L'INTERACTION TOMATE - CMA - LSO - PSYLLE VECTEUR

### *BACTERICERA COCKERELLI*

#### 9.1. Introduction

Dans cette étude, les effets du champignon mycorhizien arbusculaire *Rhizophagus irregularis* sur les symptômes dus à *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) chez la tomate ont été examinés, de même que la ponte du psylle vecteur *Bactericera cockerelli* (Šulc) et la survie des nymphes. Les performances de croissance des plants de tomate traités ou non avec *R. irregularis* et recevant ou non *B. cockerelli* infecté par l'haplotype LsoA ou LsoB, ont été aussi comparées.

#### 9.2. Prétraitement du matériel végétal

Les semences du cultivar Moneymaker de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) commercialisées par Thompson et Morgan Inc. (Jackson, New Jersey, USA) ont été utilisées dans cette étude. Ce cultivar est sensible à l'infection par Lso. Les semences ont été désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium diluée à 3 % pendant 30 min et rincées deux fois à l'eau bidistillée stérilisée. Les semences ont été prégermées sur le milieu eau gélosée pendant quatre à cinq jours. Les semences prégermées ont été transférées dans des pots (10 × 10 × 10 cm) remplis d'un mélange autoclavé (1:1, v:v) de turface (Turface Athletics MVP®, Profile Products LLC, Buffalo Grove, Illinois, USA) et de sable (Brown Play Sand®, Quikrete Inc., Atlanta, Georgia, USA) avec un complément de rock phosphate (Pennington Ultragreen®, Lowes Inc., College Station, Texas, USA) à libération lente à la dose de 1 g pour 100 g de substrat. Les plants ont été cultivés dans des cages insect-proof (Bioquip Inc., Compton, California, USA) à la température ambiante du laboratoire avec une photopériode réglée de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité. Les plants recevaient 30 ml d'eau distillée stérile à deux jours d'intervalle et 30 ml de solution Hoagland 0,5 N, deux fois par semaine.

#### 9.3. Inoculation du champignon mycorhizien

L'inoculum de CMA utilisé dans cette étude est commercialisé par la compagnie canadienne Premier Tech, (Québec, Canada) sous une formulation liquide du nom de Myke Pro Potato L®. 100 µl de ce produit contenant 10 500 spores viables/ml de *R. irregularis* ont été injectés dans le sol à proximité du système racinaire de plants d'une semaine d'âge. Les plants témoins ont également reçu une aliquote de 100 µl d'un filtrat (maille du tamis < 30 µm) de l'inoculum afin de fournir les composants nutritionnels et microbiens du produit excepté les spores du CMA. La longueur des racines colonisées par *R. irregularis* 197198 a été estimée à l'aide du protocole de coloration de Phillips et Hayman (1970) et de la méthode du gridline

intersect. La colonisation racinaire a été exprimée en pourcentage de la longueur mycorhizée des racines (Giovannetti, 2008 ; Brundrett, 2009).

#### 9.4. Application des colonies d'insectes

Actuellement, il existe quatre différents haplotypes du psylle vecteur *Bactericera cockerelli* aux USA (Swisher *et al.*, 2014). L'haplotype utilisé dans cette étude est l'haplotype Nord-Ouest. Il a été fourni par le Department of Entomology (Texas A&M University, College Station, Texas, USA). Les colonies de *B. cockerelli* abritant LsoA ou LsoB avaient été caractérisées et maintenues par Mendoza-Herrera *et al.* (2018). Des analyses PCR de diagnostic pour détecter Lso chez *B. cockerelli* ont été effectuées pour toutes les colonies tel que décrit précédemment (Nachappa *et al.*, 2011 ; Nachappa *et al.*, 2014) et ont confirmé la présence de Lso dans les psylles. Les amorces spécifiques du gène de l'ADNr 28S de *B. cockerelli* D2BC F/ D2BC R (GCGAGGACTCAGTTTCGTTTCGTGTGT / AGAGCTCGACTCGATTGATTGTC) ont été utilisées pour valider les conditions PCR et pour contrôler les faux négatifs dans les échantillons de psylles (Nachappa *et al.*, 2011). Trois semaines après l'inoculation du champignon mycorhizien arbusculaire, trois psylles adultes mâles et trois psylles adultes femelles provenant des colonies confirmées porteuses de LsoA ou LsoB furent placées sur une seule feuille dans un sac "organza" comme recommandé par Levy *et al.* (2011) du tiers médian du système caulinaire, et les psylles adultes ont été retirés deux jours plus tard. Des plants non infestés ont été maintenus de la même façon, mais aucun psylle n'y a été déposé.

#### 9.5. Dispositif expérimental

L'expérimentation a consisté en un plan factoriel  $2 \times 3$  complètement randomisé. Ce dispositif avait deux modalités d'inoculation : plants non mycorhizés (NM) et plants mycorhizés (Ri). Le dispositif avait également trois modalités d'infestation : psylles vecteurs de LsoA, psylles vecteurs de LsoB et plants sans infestation (pas de psylles). Chaque traitement a été répétée 12 fois, pour un total de 72 plants (un plant par pot). L'expérience entière a été reproduite deux fois entre mai 2015 et juin 2016, et toutes les expérimentations ont été terminées huit semaines après infestation (8 SAI) avant que les plants ne deviennent trop grands pour les cages insect-proof.

#### 9.6. Évaluation des effets de l'inoculation sur la maladie et la croissance des plants

Après l'infestation, l'évolution des symptômes de la maladie a été suivie jusqu'à huit semaines après infestation (8 SAI). L'incidence et la sévérité des symptômes foliaires de la maladie ont été notées à 3, 6, et 8 SAI sur une échelle de 0 à 4, tel que décrit dans le tableau 6. Les estimations de la sévérité ont été faites uniquement sur les plantes symptomatiques.

Tableau 6. Échelle de notation de la sévérité de la maladie à *Ca. Liberibacter solanacearum* sur tomate

Score	Type de symptôme
0	Aucun symptôme
1	Légère frisolée et/ou couleur pourpre des feuilles
2	Léger rabougrissement de la plante, flétrissement et couleur pourpre de la nervure médiane des feuilles
3	Retard de croissance accentué, jaunissement, chlorose internervaire. Présence de veines marbrées de verdissement ou feuilles chlorotiques
4	Retard de croissance extrême et brûlures extrêmes, flétrissement, jaunissement ou chlorose internervaire. Feuilles tachetées ou chlorotiques. Effondrement de la plante et mort de la plante.

Des mesures de la croissance ont été prises à la fin de l'expérience sur 10 plantes choisies au hasard par traitement et ont compris la biomasse sèche des racines et des tiges, la hauteur des plantes et le nombre de feuilles vertes.

L'effet de l'inoculation mycorhizienne (MIE %) sur le développement de la maladie a été calculé en utilisant cette formule :  $MIE = 100 \times (MDP - NMDP) / MDP$  où MDP représentait le nombre de plants mycorhizés malades et NMDP, le nombre de plants non mycorhizés malades.

### 9.7. Analyse de la translocation *in planta* du pathogène par PCR

Dans le but de suivre la translocation du pathogène Lso à partir du site d'infection, des tissus de la nervure principale de feuilles nouvellement développées ont été prélevés sur le tiers supérieur de l'étage foliaire des plants à 3 et 6 SAI. L'ADN a été extrait comme décrit précédemment (Levy *et al.*, 2011). La détection par PCR a été effectuée à l'aide des amorces Lso TX 16/23 (Lso TX 16/23 Forward 5'-AATTTTTTTT TAGCAAGCAAGTTAAGTTCTAAGTTAAGTTAAGTTAAGTTAAGGGG -3' et Lso TX 16/23 Reverse 5'-GGTACCTCCCATCATCATCGC -3') pour amplifier 383 bp de la région 16S-23S rDNA, comme décrit par Ravindran *et al.* (2011, 2012) et Levy *et al.* (2013). Cet ensemble d'amorces ne peut pas faire de distinction entre LsoA et LsoB. Les témoins PCR positifs étaient constitués d'ADN génomique de psylles et de tomate préalablement authentifié comme étant infectés par Lso, alors que le témoin négatif était l'ADN génomique d'une tomate sans Lso (Levy *et al.*, 2011). Le jeu d'amorces du gène elongation factor EF1 F/EF1 R (AGATGGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGACCCCCCGTGAAC/GTCAAACCAGTAGGGGGGGCCAAA) a été utilisé pour contrôler les faux négatifs des échantillons végétaux (Nachappa *et al.*, 2014).

### **9.8. Évaluation de l'effet de l'inoculation sur la ponte d'œufs et la survie des nymphes**

Deux jours après infestation, les psylles adultes ont été retirés des feuilles et les œufs ont été comptés. Une semaine plus tard, les nymphes vivantes étaient dénombrées tous les deux jours. La manipulation des plants pour le comptage des nymphes (y compris le retrait et le remplacement des sacs d'organza) a parfois causé des blessures ou la cassure des feuilles. Les données sur les feuilles qui ont été endommagées ont été exclues. Les jeunes adultes ont été comptés et retirés au fur et à mesure qu'ils émergeaient, et la date d'émergence a été enregistrée.

### **9.9. Analyses statistiques**

Pour toutes les analyses, les données des deux expériences ont été regroupées. Les données du pourcentage de la longueur colonisée des racines ont subi une transformation logarithmique de base 10 ( $\log_{10}$ ) afin d'obtenir une distribution normale vérifiée par le test de Shapiro-Wilks. Un modèle linéaire général (ANOVA) et le test de Tukey HSD ont été utilisés pour analyser les données transformées sur la colonisation racinaire, et sur les données de la sévérité de la maladie. Quant aux paramètres de croissance, les données manquantes ont été complétées à l'aide de la méthode de décomposition multivariée en valeurs singulières (SVD). Une régression logistique a été effectuée sur les paramètres de croissance et a montré que toutes ces variables sont des prédicteurs significatifs des effets des traitements. Les données sur la croissance ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) avec le traitement Lso, le traitement mycorhization et le traitement Lso  $\times$  mycorhization comme effets fixes, et un test t de Student a été utilisé pour les comparaisons multiples. En ce qui concerne les stades de développement du psylle (œufs et nymphes), les moyennes ont été comparées à chaque date d'observation en utilisant les mêmes effets fixes et la même statistique de comparaison multiple, et une analyse multivariée de la variance (MANOVA) a été utilisée pour les comparaisons entre dates. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel JMP ® version 14.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1989-2019), au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ .

## CHAPITRE 10 : ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE INDUITE PAR LA MYCORHIZATION DE L'HÉVÉA AU STRESS HYDRIQUE

### 10.1. Introduction

Le premier objectif de cette étude vise la détermination du statut mycorhizien du clone IRCA 331 dont le porte-greffe est le clone GT1. Il s'agit de l'analyse en serre de l'impact de l'exsudation racinaire de l'hévéine sur la mycorhization du porte-greffe GT1. Le second objectif s'inscrit dans le contexte de l'adaptation des clones d'hévéa aux zones marginalisées de l'hévéaculture en Côte d'Ivoire. Il vise l'évaluation de la contribution de la mycorhization à la tolérance du clone d'hévéa IRCA 331 au stress hydrique en serre.

### 10.2. Matériel biologique et substrat de culture

Le matériel biologique est composé :

- de plants de pépinière identifiés par la Compagnie Hévécicole de Prikro comme étant du clone hévéa IRCA 331 greffé sur le GT1. Ces plants ont été recépés à six mois d'âge. Ce clone fait l'objet de plantation industrielle à Prikro (Centre-Est Côte d'Ivoire), une zone marginale à l'hévéaculture. Ces plants n'avaient pas encore débourré avant réception ;
- de semences de la variété de tomate UC82B (Bourget et Sanvoisin, France), préalablement désinfectées pendant 25 min dans une solution d'hypochlorite de sodium diluée à 3 %, puis prégermées pendant cinq jours sur du papier buvard stérile avant expérimentation. Les plants de tomate ont servi comme plants mycotrophes témoins positifs ;
- de la souche mycorhizienne *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 commercialisée par la compagnie Premier Tech (Canada) dans une formulation poudreuse contenant 500 spores.g<sup>-1</sup>.

Les plants d'hévéa ont été re-empotés dans des pots de 20 litres avec un sol limon sableux, préalablement tamisé (5 mm) et stérilisé à l'étuve (1 h par jour à 120 °C et à 1 bar pendant 3 jours consécutifs). Il s'agit du même sol présenté au chapitre 8. La capacité maximale de rétention d'eau (CR) du substrat dans les pots de 15 litres a été déterminée à 1106 ml d'eau dès réception des plants d'hévéa. Pour cela, 10 pots autoclavables de même capacité (20 litres) et masse que ceux utilisés lors de l'expérimentation ont été remplis du substrat de culture jusqu'à 15 litres de leur capacité. Ils ont été arrosés jusqu'à saturation puis laissés reposer le temps que le surplus d'eau s'échappe des pores aménagés dans le fond des pots. La CR a été ainsi atteinte. La masse des pots et de leur contenu frais a alors été enregistré. Elle constituait la masse

fraîche, FW. Les pots ont été ensuite étuvés à 70 °C pendant 48 h puis pesés à nouveau pour obtenir la masse sèche DW. La CR en ml a été déterminée par la différence entre FW et DW et la teneur en eau du substrat en pourcentage par la formule  $((FW - DW) \times 100) / FW$ .

### 10.3. Aspects particuliers de l'étude

L'effet anti-mycorhization des exsudats racinaires des plants d'hévéa a été testé indirectement. Il s'est agi de vérifier l'hypothèse selon laquelle une plante très mycotrophe comme la tomate ne puisse être mycorhizée lorsqu'elle est dans le voisinage immédiat (dans le même pot) d'un plant d'hévéa, malgré l'apport de propagules mycorhiziennes viables. Les exsudats inhibiteurs vont donc diffuser rapidement et empêcher la mycorhization des racines de tomate et d'hévéa.

Les plants du clone greffé IRCA 331 après invalidation de l'hypothèse susmentionnée ont été soumis à trois régimes hydriques au 28<sup>ème</sup> jour post inoculation mycorhizienne. Il s'agit ici de vérifier l'hypothèse selon laquelle le clone IRCA 331 mycorhizé a surtout un meilleur indice de réflectance photochimique (PRI), un indice de résistance au stress hydrique (Gamon *et al.*, 1997 ; Peñuelas *et al.*, 2011 ; Garbulsky *et al.*, 2011 ; Peñuelas *et al.*, 2013) que le clone IRCA 331 non mycorhizé. Les essais ont été réalisés entre Janvier et Mars 2018 dans la petite serre vitrée du Département Agriculture et Ressources Animales de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (Yamoussoukro, Côte d'Ivoire) dont les coordonnées géographiques sont 6°12'10,8'' latitude Nord et 5°14'21,876'' longitude Ouest.

### 10.4. Facteurs étudiés et traitements des essais

En vue de déterminer l'effet anti-mycorhization des exsudats racinaires, deux facteurs étaient à l'étude : l'inoculation ou non de *R. irregularis* et la présence ou non de plants de tomate dans le même pot que des pieds d'hévéa. Les traitements sont ainsi libellés :

- 1) **HRi** : Inoculation du substrat ne contenant que des pieds d'hévéa ;
- 2) **ToRi** : Inoculation du substrat ne contenant que des pieds de tomate ;
- 3) **ToHRi** : Inoculation du substrat contenant à la fois des pieds de tomate et d'hévéa ;
- 4) **To** : Non inoculation du substrat ne contenant que des pieds de tomate ;
- 5) **Ho** : Non inoculation du substrat ne contenant que des pieds d'hévéa.

Les effets du traitement **ToHRi** en vue de la mycorhization de la tomate (ci-après désigné **ToHRi T**) ont donc été comparés à ceux de **ToRi** (témoin positif). De même, les effets du traitement **ToHRi** en vue de la mycorhization de l'hévéa (ci-après désigné **ToHRi H**) ont été comparés à ceux de **HRi**. **To** et **Ho** ont servi de témoins négatifs pour différencier au microscope une racine mycorhizée d'une racine non-mycorhizée.

Pour l'évaluation de la résistance au stress hydrique, deux facteurs ont été testés : l'inoculation (Ri) ou non (NM) de *R. irregularis* DAOM 197198 et trois niveaux de stress hydrique bien contrastés (aucun stress, stress modéré et stress sévère). La méthode utilisée pour l'application de la contrainte hydrique est celle décrite par Meddich *et al.* (2000). Cette méthode est basée sur la méthode des pesées qui permet quotidiennement d'apporter le volume d'eau nécessaire pour maintenir la capacité de rétention d'eau à 100 % (aucun stress), 50 % (stress modéré) et 5 % (stress sévère) pendant 14 jours.

### **10.5. Conduite de l'expérimentation**

En vue d'analyser l'effet anti-mycorhization des exsudats racinaires, un dispositif expérimental en randomisation totale avec 10 répétitions (soit au total, 30 plants d'hévéa et 30 plants de tomate) a été installé en serre. Les inoculations ont été faites 15 jours après le re-empotage des plants d'hévéa, le temps qu'ils récupèrent du stress des chocs du transport et du re-empotage et également afin de constater le débourrement. Dix (10) grammes d'inoculum mycorhizien ont été répandus sur le système racinaire de la plante. Les plants témoins ont reçu une portion aliquote de 10 ml d'un filtrat (maille du tamis < 30 µm) de l'inoculum afin de fournir la même population microbienne exempt de propagules du CMA. Vingt-quatre heures post-inoculation, tous les plants ont été arrosés jusqu'à la capacité maximale de rétention d'eau du substrat. Et pendant 21 jours, les plants ont été arrosés de la même manière. Les pots recevaient donc quotidiennement 1106 ml. Durant l'essai, la température de la petite serre a oscillé entre 20,2 et 33 °C ; la durée de l'ensoleillement a été de 228,7 h et l'humidité relative a varié entre 45 et 85 %. Aucun apport de fumure, aucun traitement de pesticides n'a été nécessaire durant l'essai.

Pour l'évaluation de la résistance au stress hydrique, un plan factoriel en randomisation totale avec 12 répétitions (72 plants d'hévéa au total) a été utilisé en serre. Les conditions et autres pratiques de conduite expérimentale étaient identiques à celles susmentionnées. Les applications des différents régimes hydriques susmentionnés ont commencé 28 jours post-inoculation (jpi). Elles ont été étendues sur 14 jours.

### **10.6. Paramètres mesurés du test de l'effet anti-mycorhization des exsudats racinaires**

Les mesures de la colonisation racinaire par le CMA sont intervenues 15 jpi selon la méthode de Trouvelot (Trouvelot *et al.*, 1986 ; Guillemain *et al.*, 1992). Les structures mycorhiziennes ont d'abord été colorées avec une solution de bleu de trypan à 0,05 % selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) avant l'estimation de l'intensité de mycorhization M % et de l'abondance arbusculaire A % du système racinaire.

## 10.7. Paramètres mesurés lors du test de la résistance au stress hydrique

### 10.7.1. Humidité du sol

À l'aide d'un humidimètre (Hanna Instruments, Rhode Island, USA), l'humidité du substrat a été mesurée tous les deux jours depuis l'imposition de la contrainte hydrique. Ces mesures ont été réalisées à 08h00, 13h00 et 17h30. Seuls les résultats en fin d'expérimentation (42 jpi) et à 13h00 sont présentés.

### 10.7.2. Mensurations de la tige issue du greffon

La longueur et le diamètre de la tige issue du greffon ont été mesurés respectivement au moyen d'un ruban-mètre et d'un calliper électronique en fin d'expérimentation (42 jpi).

### 10.7.3. Température foliaire

La température foliaire de la plus jeune feuille complètement développée a été mesurée à l'aide d'un thermomètre à infrarouge (LCD laser IR GM 320) dans les conditions sus-indiquées. Seuls les résultats en fin d'expérimentation (42 jpi) ont été présentés.

### 10.7.4. Indice de la teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle également de la plus jeune feuille totalement développée a été déterminée en unités SPAD, en fin d'expérimentation, avec un chlorophyll meter SPAD502 (Konica Minolta, Japon).

### 10.7.5. Indice de réflectance photochimique

La mesure de l'indice de réflectance photochimique (PRI) a été faite tous les deux jours depuis l'imposition de la contrainte hydrique à l'aide du PlantPen PRI 210 (Photon Systems Instruments, Drasov, République Tchèque). Ces mesures ont été réalisées à 08h00, 13h00 et 17h30. Seuls les résultats en fin d'expérimentation (42 jpi) et à 13h00 sont présentés. L'indice de réflectance photochimique a été déterminé

comme suit : 
$$PRI = \frac{R_{531} - R_{570}}{R_{531} + R_{570}}$$
 (Gamon *et al.*, 1997 ; Garbulsky *et al.*, 2011).  $R_{531}$  indique la réflectance

à 531 nm (la bande d'onde du signal xanthophylle) et  $R_{570}$ , la réflectance à 570 nm (la bande d'onde de référence).

### 10.7.6. Développement et surface foliaire

Le nombre de feuilles fonctionnelles (NFF) - vertes et non wiltées - a été déterminé en fin d'expérimentation (42 jpi). La surface de la plus jeune feuille complètement développée a été déterminée à l'aide du logiciel ImageJ 1.52p après avoir été immédiatement scannée en déterminant les régions d'intérêt comme décrit par Schneider *et al.* (2012) et Rueden *et al.* (2017).



### 10.7.7. Fuite d'électrolytes des cellules foliaires

Immédiatement après le scan, l'intégrité membranaire des cellules de la plus jeune feuille complètement développée a été analysée en mesurant la conductivité des électrolytes qui fuient des cellules foliaires (EC) (Azooz, 2009). Pour ce faire, la plus jeune feuille totalement développée a été lavée à l'eau distillée puis découpée en petits morceaux de 1 mm de longueur qui ont ensuite été placés dans 10 ml d'eau distillée et enfin laissés à température ambiante pendant 3 h avant que la conductivité ( $C_1$ ) de la solution ne soit mesurée par un HI9813-6 Portable pH/EC/TDS/Temperature Meter (Hanna Instruments Inc., USA). Ensuite, la conductivité ( $C_2$ ) a été à nouveau mesurée après 2 min d'ébullition et refroidissement à température ambiante. Le pourcentage de fuite d'électrolyte EC a été calculé comme suit :

$$EC = C_1 \times 100 / C_2 \quad (\text{Azooz, 2009})$$

### 10.7.8. Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles

Les biomasses fraîche (ci-après désignée FW), turgescents (masse obtenue après flottaison dans l'eau pendant 4 h, ci-après désignée TW) et sèche (masse obtenue après un séjour de 48 h au four à 85 °C, ci-après désignée DW) des feuilles ont été servies à calculer leur teneur relative en eau (RWC) comme suit :

$$RWC = (FW - DW) \times 100 / (TW - DW) \quad (\text{Soltys-Kalina } et al., 2016)$$

## 10.8. Analyses statistiques

Le logiciel Xlstat® version 2019 (Addinsoft, USA) a servi à l'analyse de variance (ANOVA) après vérification du respect des conditions de normalité et d'égalité des variances des résidus. Une analyse multivariée de la variance (MANOVA) a été utilisée pour les données sur la biomasse et la teneur relative en eau. Le test de comparaison par paires de moyennes de Tukey HSD a suivi pour grouper les traitements à effets identiques après qu'ANOVA et MANOVA aient indiqué une différence significative. Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour les données sur la conductivité des cellules foliaires car leurs résidus n'avaient pas une distribution normale. Le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner a ensuite suivi pour grouper les traitements à effets identiques.

## CONCLUSION PARTIELLE

De cette démarche méthodologique qui met en évidence le matériel, les protocoles, les dispositifs expérimentaux et les méthodes d'analyses statistiques, sont issus des résultats qui sont présentés dans la partie suivante.

# **TROISIÈME PARTIE :**

## **RÉSULTATS**

## INTRODUCTION

Les données obtenues des études sur la détermination du rôle du gène *9-ZmLOX12* et des phénazines dans l'interaction maïs - microsymbiotes (CMA et PGPP) - agent causal de l'antracnose foliaire (ALB), la détermination du rôle des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* dans l'interaction tripartite maïs - CMA - stress hydrique, l'analyse de l'interaction tomate - CMA - LSO - psylle vecteur *Bactericera cockerelli* (Šulc) et l'évaluation de la résistance induite par la mycorhization arbusculaire de l'hévéa au stress hydrique sont présentées dans cette partie.

### CHAPITRE 11 : EFFETS DE L'INACTIVATION DU GÈNE *9-ZmLOX12* ET DE L'INOCULATION DE MICROSymbIOTES SUR L'ANTRACNOSE FOLIAIRE DU MAÏS

#### 11.1. Niveaux de colonisation microbienne et interaction directe dans le système racinaire entier

La taille de la population de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 établie chez B73 à partir de simple inoculation a été respectivement 5,27 et 1,29 fois celles établies chez le mutant *B73lox12-1* et chez W438. La différence de la taille de population entre B73 et le mutant est significative alors que celle entre B73 et W438 ne l'est pas au seuil de signification de 5 % (Figure 10).

La taille de la population de *P. chlororaphis* 30-84 établie chez B73 à partir de coinoculation a été respectivement 2,37 et 17,49 fois plus basse que celles établies chez le mutant *B73lox12-1* et chez W438. La différence du niveau de colonisation entre B73 et W438 y est significative alors que celle entre B73 et le mutant ne l'y est pas au seuil de signification de 5 % (Figure 10).

Chez B73, la taille de population de *P. chlororaphis* 30-84 induite par simple inoculation a été 11,33 fois celle obtenue par coinoculation. Cette différence du niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation y est significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 10).

Chez le mutant *B73lox12-1*, la taille de population de *P. chlororaphis* 30-84 induite par coinoculation a été 1,10 fois celle obtenue par simple inoculation. Cette différence de niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation n'y est pas significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 10).

Chez le W438, la taille de population de *P. chlororaphis* 30-84 induite par coinoculation a été 1,99 fois celle obtenue par simple inoculation. Cette différence du niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation y est significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 7).

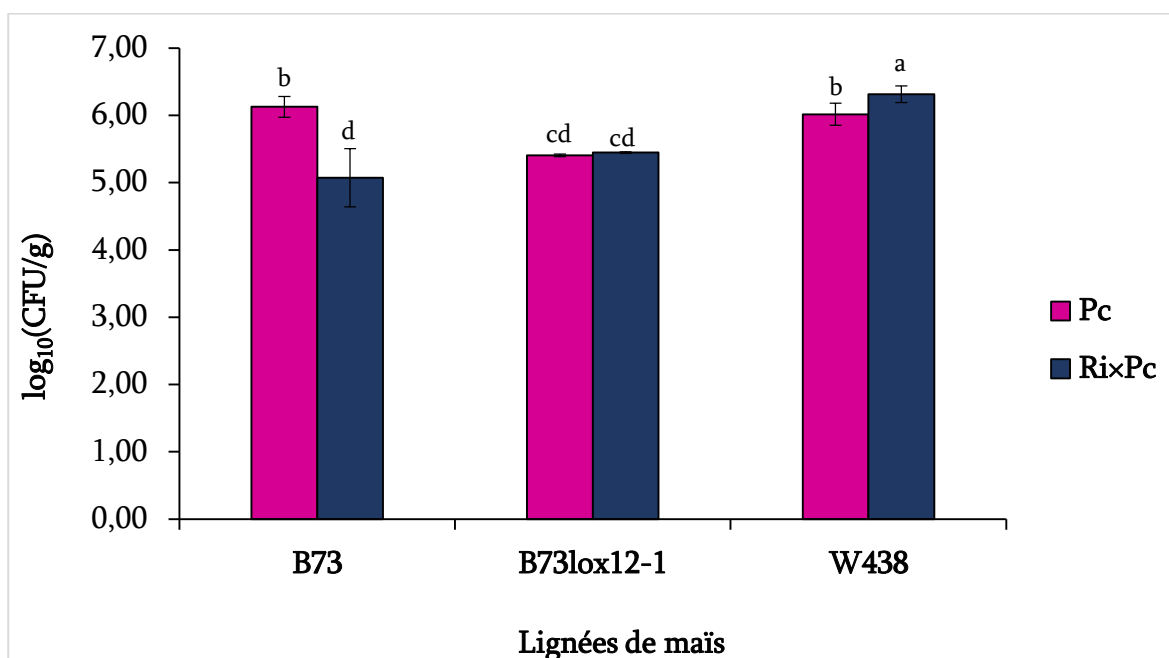


Figure 10. Colonisation du système racinaire entier par *Pseudomonas chlororaphis* 30-84

Les plants de B73, du mutant *B73lox12-1*, et de W438 étaient au stade végétatif une feuille (stade V1) lorsque *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 a été inoculé seul (Pc) ou co-inoculé simultanément avec la souche *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 (Ri x Pc) à tout le système racinaire. Les diagrammes en barres représentent la moyenne de 12 mesures  $\pm$  erreur standard effectuées au stade V3 et compilées des deux expérimentations. Les diagrammes à barres surmontées de lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un génotype de maïs donné.

Les taux de mycorhization de *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 estimés chez le mutant *B73lox12-1* et chez W438 à partir de simple inoculation ont été respectivement 1,37 et 1,72 fois celui obtenu chez B73. Les différences des taux de colonisation entre d'une part B73 et d'autre part le mutant et W438 sont significatives au seuil de signification de 5 % (Figure 11).

Les taux de mycorhization de *R. irregularis* DAOM 197198 estimés chez le mutant *B73lox12-1* et chez W438 à partir de coinoculation ont été respectivement 0,89 et 1,33 fois celui obtenu chez B73. La différence du taux de colonisation entre B73 et W438 y est significative alors que celle entre B73 et le mutant ne l'y est pas au seuil de signification de 5 % (Figure 11).

Chez B73, le taux de mycorhization de *R. irregularis* DAOM 197198 induit par coinoculation a été 1,33 fois celui obtenu par simple inoculation. Cette différence du niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation n'y est significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 11).

Chez le mutant *B73lox12-1*, le taux de mycorhization de *R. irregularis* DAOM 197198 induit par simple inoculation a été 1,36 fois celui obtenu par coinoculation. Cette différence du niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation y est significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 11).

Chez W438, le taux de mycorhization de *R. irregularis* DAOM 197198 induit par simple inoculation a été 1,14 fois celui obtenu par coinoculation. Cette différence du niveau de colonisation entre inoculation simple et coinoculation y est significative au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 11).

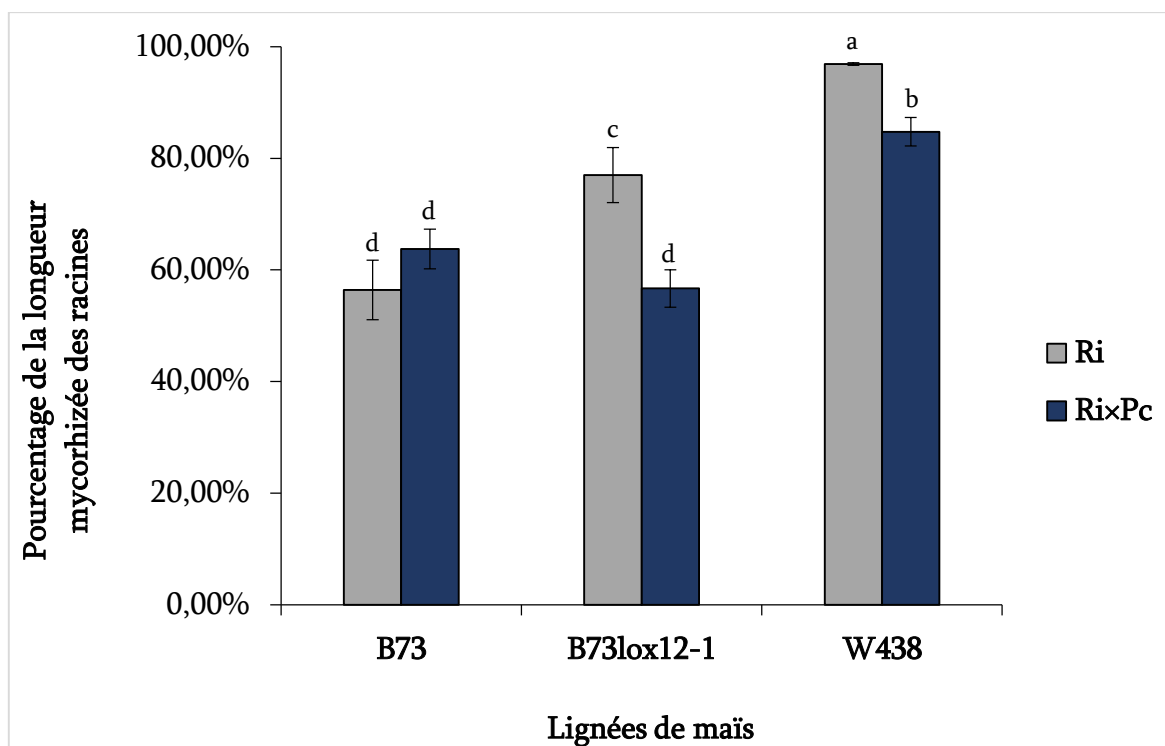


Figure 11. Colonisation du système racinaire entier par *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198

Les plants de B73, du mutant *B73lox12-1*, et de W438 étaient au stade végétatif une feuille (Stade V1) lorsque *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 a été inoculé seul (Ri) ou co-inoculé simultanément avec la souche sauvage de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Ri x Pc) à tout le système racinaire. Les diagrammes en barres représentent la moyenne de 12 mesures  $\pm$  erreur standard effectuées au stade V3 et compilées des deux expérimentations. Les diagrammes à barres surmontées de lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un génotype de maïs donné.

## 11.2. Effets de l'inoculation des microsymbiotes sur l'antracnose foliaire

Les deux agents de lutte biologique ont réduit significativement la sévérité de la maladie chez la lignée B73 sensible à l'antracnose foliaire (ALB). La préinoculation de B73 avec *Pseudomonas chlororaphis* 30-84, *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, ou les deux simultanément, a entraîné respectivement des surfaces de lésions 23,6, 4,5 et 2,8 fois plus réduites que les surfaces des feuilles des témoins B73 témoins (Figure 12A, 13A). Ce niveau de contrôle a entraîné des surfaces de lésions égales à celles produites sur les feuilles

des témoins de la lignée W438 résistante à l'ALB (Figures 12C, 13C). Toutefois, les surfaces de lésions nécrotiques sur plants B73 inoculés avec des mutants phénazines-déficients n'étaient pas différentes de celles des plants B73 témoins (Figure 12A).

Bien que les surfaces des lésions observées chez les plants B73 traités avec *P. chlororaphis* et *R. irregularis* n'étaient pas différentes entre elles, il y a eu néanmoins une différence qualitative dans le type de lésion selon l'échelle de notation définie par da Costa *et al.* (2014). Les lésions sur les plants inoculés avec la souche sauvage *P. chlororaphis* 30-84 sont de petites ponctuations chlorotiques/nécrotiques ou halo chlorotiques jaunes sans sporulation et la sévérité de la maladie est inférieure à 1 %, correspondant à une réaction selon l'échelle de da Costa *et al.* (2014) de "Résistance / Hypersensibilité" (Figure 13A, Tableau 7). Les plants inoculés avec *R. irregularis* DAOM 197198 ont présenté des lésions circulaires à irrégulières, brun pâle à marron et souvent entourées d'un halo chlorotique jaune sans sporulation et la sévérité de la maladie est inférieure à 5 %, correspondant selon da Costa *et al.* (2014) à une réaction de "Résistance" (Tableau 7). La sévérité de la maladie chez les plants coinoculés est inférieure à 20 %, mais la coinoculation a produit le même type de lésion observé avec le traitement de *R. irregularis*. Les réactions de plants B73 coinoculés avec la souche sauvage *P. chlororaphis* 30-84 et *R. irregularis* DAOM 197198, ont été classés suivant da Costa *et al.* (2014) comme "Résistant" (Tableau 6). Les lésions des plants B73 témoins et des plants B73 préinoculés avec les mutants dérivés de la souche sauvage *P. chlororaphis* 30-84 sont principalement de forme ovale, de couleur gris verdâtre, avec des halos concentriques sur les deux faces foliaires et de la sporulation. La sévérité de la maladie y est supérieure à 21 %, ce qui indique, selon l'échelle de notation de da Costa *et al.* (2014), une réaction de "susceptibilité" (Figure 13A, Tableau 7).

La comparaison des réponses des plants témoins non protégés a révélé que B73 et *B73lox12-1* présentaient une sensibilité similaire à l'ALB (Figures 12AB, 13AB). Le prétraitement de *B73lox12-1* avec *R. irregularis* ou concomitamment *R. irregularis* et *P. chlororaphis* a entraîné des surfaces de lésions foliaires 1,39 et 1,57 fois plus petites que celles observées sur le témoin *B73lox12-1* non protégé. Le traitement par *P. chlororaphis* a entraîné des lésions 1,29 fois plus grandes que celles observées sur les plants témoins, ce qui indique que l'inoculation de *P. chlororaphis* a accru les symptômes de la maladie sur *B73lox12-1* (Figures 12B, 13B).

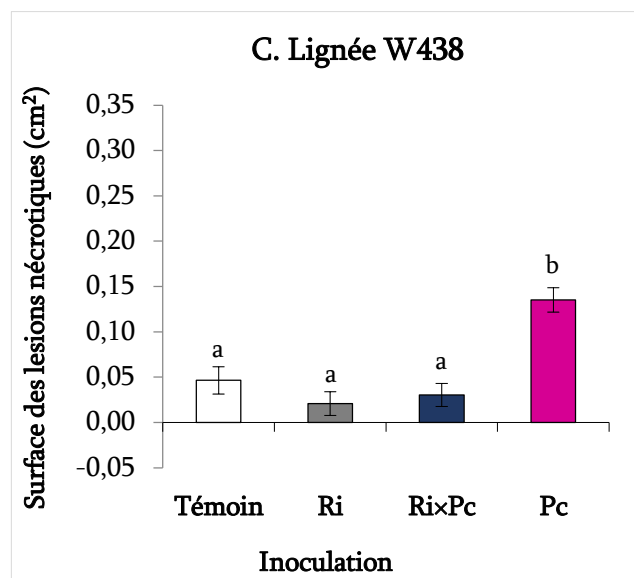
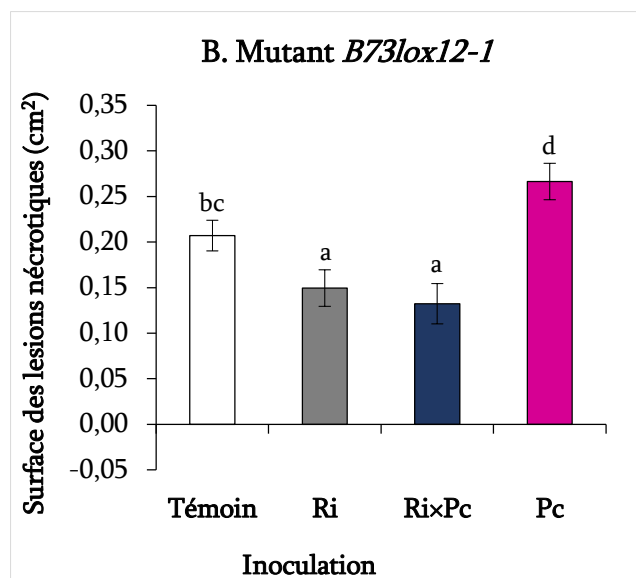
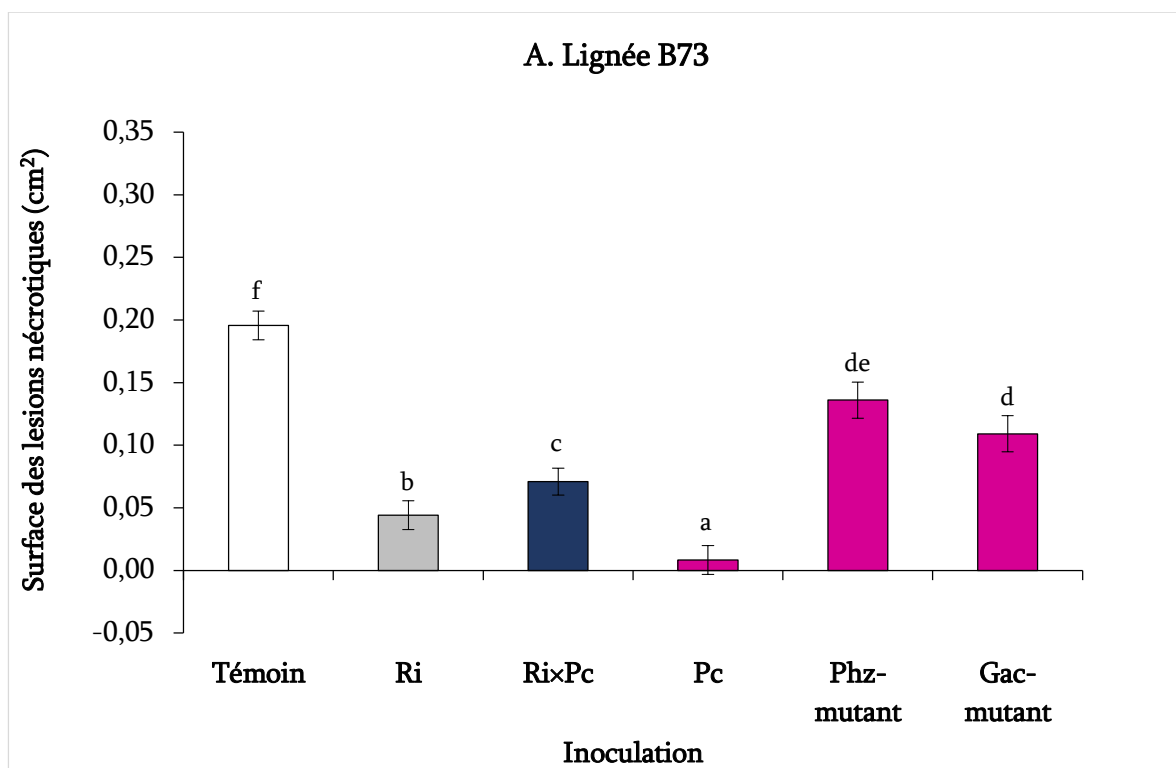


Figure 12. Réponses systémiques induites à l'infection foliaire par *Colletotrichum graminicola*

Les plants de B73, du mutant *B73lox12-1* et de W438, au stade végétatif une feuille (Stade V1), ont été inoculés avec *Rhizopagus irregularis* DAOM 197198 (Ri), la souche sauvage de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc) ou inoculés simultanément avec *R. irregularis* et la souche sauvage de *P. chlororaphis* 30-84 (Ri×Pc) sur le système racinaire entier. Seuls les plants B73 ont reçu le mutant de *P. chlororaphis* 30-84 non producteur de phénazines (Phz- mutant) et le mutant spontané de *P. chlororaphis* 30-84 non producteur de métabolites secondaires (Gac- mutant). Le témoin représente les plants non inoculés avec les microsymbiotes. Plus tard, au stade V3, la troisième feuille a été infectée (inoculée) par la souche M1.001 de *Colletotrichum graminicola*. Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard compilées des deux réplifications de l'essai. Les diagrammes à barres surmontées de lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un génotype de maïs donné.

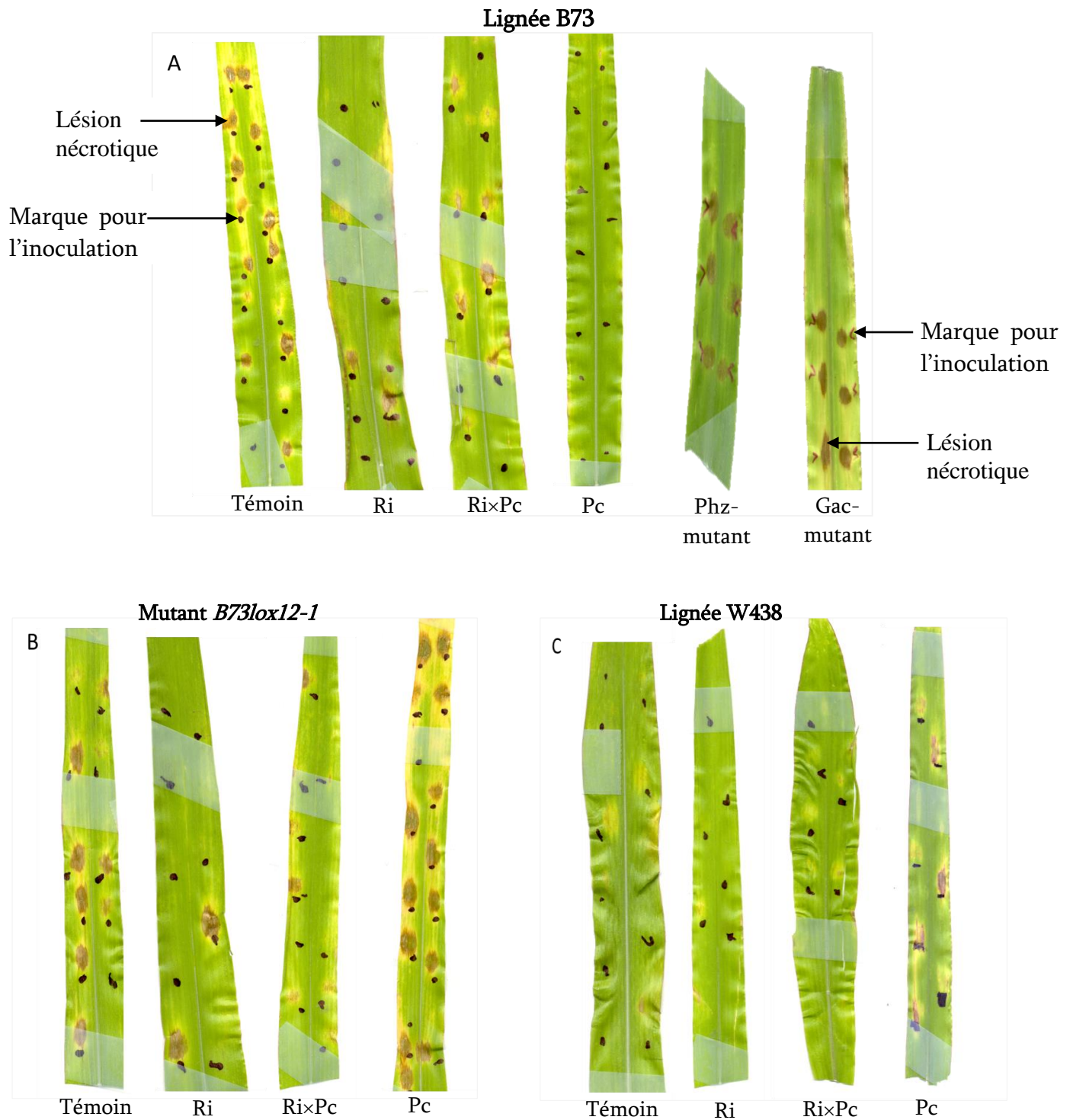


Figure 13. Lésions nécrotiques dues à une infection foliaire par *Colletotrichum graminicola*

Les plants de B73 (A), du mutant *B73lox12-1* (B) et de W438 (C), au stade végétatif une feuille (stade V1), ont été inoculés avec *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 (Ri), la souche sauvage de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc) ou inoculés simultanément avec *R. irregularis* et la souche sauvage de *P. chlororaphis* 30-84 (Ri×Pc) sur le système racinaire entier. Seuls les plants B73 ont reçu le mutant de *P. chlororaphis* 30-84 non producteur de phénazines (Phz- mutant) et le mutant spontané de *P. chlororaphis* 30-84 non producteur de métabolites secondaires (Gac- mutant). Le témoin représente les plants non inoculés avec les microsymbiotes. Plus tard, au stade V3, la troisième feuille a été infectée (inoculée) par la souche *Colletotrichum graminicola* M1.001.



Quant à l'évaluation qualitative des symptômes (Tableau 7), les plants mutants *B73lox12-1* témoins et les plants mutants *B73lox12-1* inoculés par *P. chlororaphis* ont été jugés "sensibles" (plus de 20 % de sévérité de la maladie) alors que les plants *B73lox12-1* traités avec *R. irregularis* ou concomitamment avec *R. irregularis* et *P. chlororaphis* ont été considérés "résistants" (moins de 20 % de sévérité) conformément à l'échelle de notation de da Costa *et al.* (2014).

L'application des agents de biocontrôle suivie de *C. graminicola* a produit des symptômes contrastés chez la lignée résistante W438. Les surfaces des lésions ont été significativement plus grandes pour les plants W438 inoculés avec *P. chlororaphis* que pour tous les autres traitements. Les surfaces de lésions de ces derniers ont été statistiquement similaires les uns aux autres (Figure 12). L'analyse qualitative de ces lésions selon l'échelle de notation de da Costa *et al.* (2014), montre des similitudes entre eux (Figure 13C, Tableau 7). Ainsi, l'inoculation de *P. chlororaphis* diminue le niveau de résistance à l'ALB naturellement présent dans W438.

Tableau 7. Analyse des lésions nécrotiques selon l'échelle descriptive de da Costa *et al.* (2014)

Lignée de maïs	Traitement	Notation	Réaction	Type de lésion
B73	Témoin	4	Sensible	Les lésions étaient principalement ovales, de couleur grise sur les deux surfaces des feuilles, et entourées par des halos chlorotiques en croissance. Sévérité de la maladie : 21- 40 %.
	Ri	2	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité de la maladie : moins de 5 %.
	Ri×Pc	3	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité maximale de la maladie : 20 %.
	Pc	1	Résistant / hypersensibilité	Petites ponctuations nécrotiques, absence de halos chlorotiques et de sporulation. Sévérité de la maladie : moins de 1 %.

## Suite du tableau 7

Lignée de maïs	Traitement	Notation	Réaction	Type de lésion
<i>B73lox12-1</i>	Témoin	4	Sensible	Les lésions étaient principalement ovales, de couleur grise sur les deux surfaces des feuilles, et entourées par des halos chlorotiques en croissance. Sévérité de la maladie : 21 - 40 %.
	Ri	3	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité maximale de la maladie : 20 %.
	Ri×Pc	3	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité maximale de la maladie : 20 %.
	Pc	4	Sensible	Les lésions étaient principalement ovales, de couleur grise sur les deux surfaces des feuilles, et entourées par des halos chlorotiques en croissance. Sévérité de la maladie : 21 - 40 %.
W438	Témoin	2	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité de la maladie : moins de 5 %.
	Ri	2	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité de la maladie : moins de 5 %.
	Ri×Pc	2	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité de la maladie : moins de 5 %.
	Pc	3	Résistant	Lésions brunes et de forme circulaire à irrégulière qui, souvent, sont entourées d'un halo jaune. Sévérité maximale de la maladie : 20 %.

Les plants de B73, du mutant *B73lox12-1* et de W438, au stade végétatif une feuille (stade V1), ont été inoculés avec *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 (Ri), la souche sauvage *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc) ou inoculés simultanément avec *R. irregularis* et la souche sauvage de *P. chlororaphis* 30-84 (Ri×Pc) sur le système racinaire entier. Le témoin représente des plants de chaque lignée, non inoculés avec les microsymbiotes. Plus tard, au stade V3, la troisième feuille a été infectée (inoculée) par la souche *Colletotrichum graminicola* M1.001.

En plus de la sévérité de la maladie, les traitements ont différé également dans leur effet sur l'incidence de la maladie. Des lésions se sont développées sur toutes les lignées, mais avec des fréquences relatives différentes. Chez B73, l'incidence de la maladie la plus faible (50 %) a été observée chez les plants inoculés avec *P. chlororaphis*. En revanche, les plants inoculés avec *R. irregularis* ont présenté la plus faible incidence de maladie chez *B73lox12-1* et W438 (Tableau 8).

Pour examiner la contribution relative des microsymbiotes à la réduction de la sévérité de la maladie, les MIE (Effet de la mycorhization), BIE (Effet de la bactérisation) et DIE (Effet de la coinoculation) ont été déterminés. La réduction la plus forte indiquée par le MIE a été observée chez la lignée B73, qui a été de 50 % et 23 % plus élevée que chez *B73lox12-1* et W438, respectivement. L'inoculation bactérienne a entraîné une réduction des lésions sur B73, mais pas chez *B73lox12-1* et W438, alors que la coinoculation a entraîné une réduction des lésions foliaires pathogènes sur toutes les lignées de maïs (Tableau 8).

Tableau 8. Incidence de la maladie et effets de l'inoculation microbienne chez les trois lignées

Lignées de maïs	Traitements d'inoculation	Incidence de la maladie (DI)	Effet de l'inoculation mycorhizienne (MIE)	Effet de l'inoculation bactérienne (BIE)	Effet de la coinoculation (DIE)
B73	Témoin	100,00 %			
	Ri	80,00 %	-77,51 %		
	Ri×Pc	100,00 %			-63,76 %
	Pc	50,00 %		-95,76 %	
W438	Témoin	40,00 %			
	Ri	33,00 %	-54,82 %		
	Ri×Pc	50,00 %			-34,74 %
	Pc	75,00 %		210,57 %	
<i>B73lox12-1</i>	Témoin	100,00 %			
	Ri	75,00 %	-27,87%		
	Ri×Pc	60,00 %			-36,17 %
	Pc	100,00 %		28,56 %	

Les plants de B73, du mutant *B73lox12-1* et de W438, au stade végétatif une feuille (stade V1), ont été inoculés avec *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 (Ri), la souche sauvage *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc) ou inoculés simultanément avec *R. irregularis* et la souche sauvage de *P. chlororaphis* 30-84 (Ri×Pc) sur le système racinaire entier. Le témoin représente des plants de chaque lignée, non inoculés avec les microsymbiotes. Plus tard, au stade V3, la troisième feuille a été infectée (inoculée) par la souche *Colletotrichum graminicola* M1.001.

### 11.3. Effets de l'inoculation des microsymbiotes sur la croissance *in vivo* du pathogène

La croissance de l'agent pathogène dans les feuilles infectées a été évaluée en déterminant la teneur en ergostérol par nombre de lésions nécrotiques (Figure 14). La teneur en ergostérol des feuilles de plants B73 traités avec *Pseudomonas chlororaphis* 30-84, *Rhizophagus irregularis* ou les deux, a été respectivement  $111,78 \pm 0,03$  ;  $8,87 \pm 0,03$  et  $2,2 \pm 0,03$  fois plus faible que celle des feuilles témoins (Figure 14A). Les

taux d'ergostérol dans les feuilles W438 ont reflété le niveau de sévérité de la maladie, bien qu'il n'y ait pas de différence significative dans la teneur en ergostérol entre les traitements (Figure 12C et 14C).

Dans les feuilles de *B73lox12-1*, les différences dans les taux d'ergostérol entre tous les traitements à base d'agents de lutte biologique n'étaient pas significatives, mais ces taux ont été significativement plus réduits que celui des feuilles de plants *B73lox12-1* témoins. Malgré la sévérité des symptômes de la maladie sur le mutant *B73lox12-1* inoculé avec *P. chlororaphis* 30-84 (Figures 12B et 13B), la teneur en ergostérol par lésion a été significativement plus faible que celle des plants mutants *B73lox12-1* témoins (Figure 14B). Ce qui indique que la taille des lésions est liée non seulement à la croissance du pathogène mais également à la réaction des plantes.

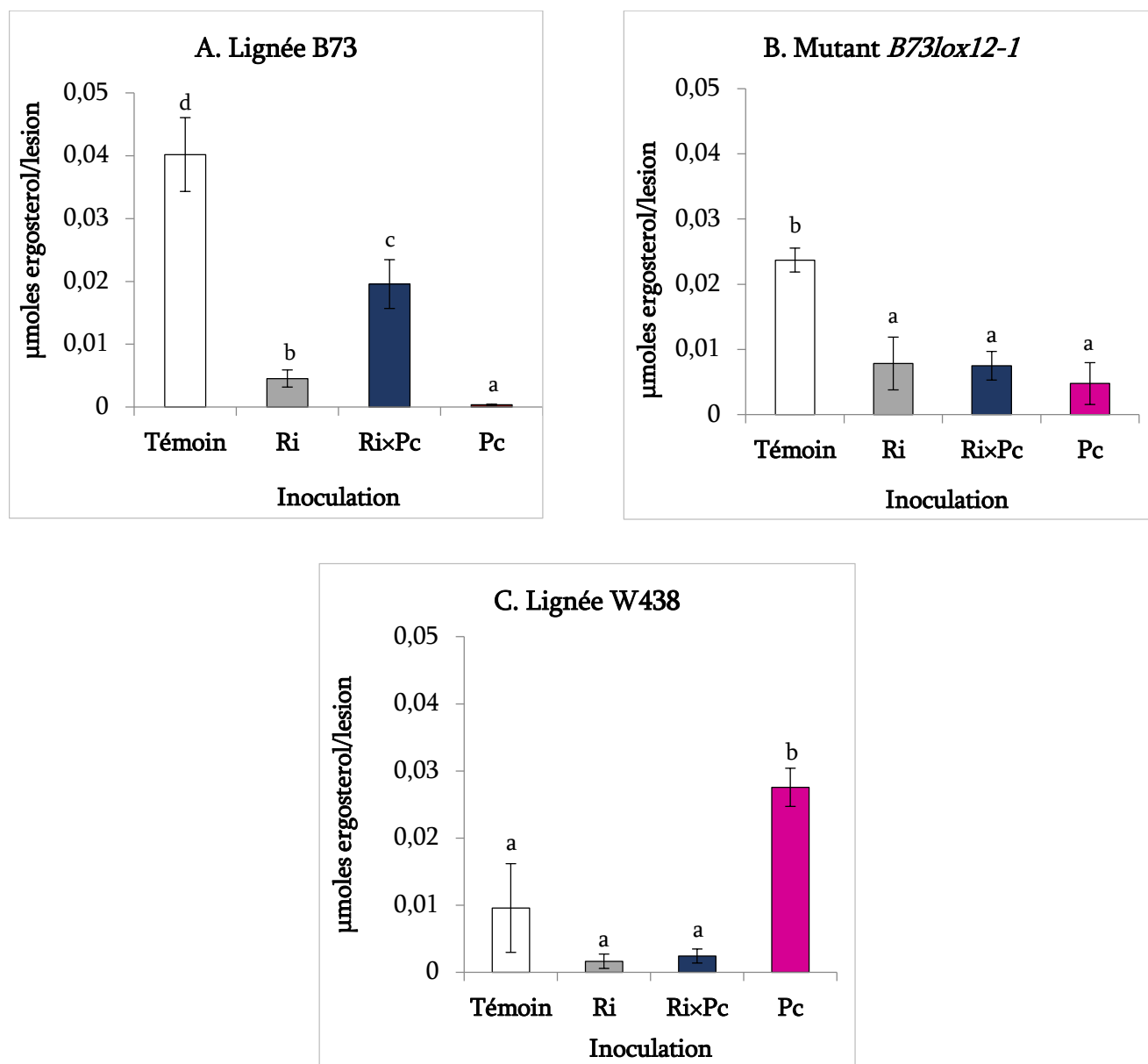


Figure 14. Effets des préinoculations sur la croissance de *Colletotrichum graminicola* dans les feuilles. Les feuilles infectées ont été sectionnées, traitées à l'azote liquide et conservées à  $-80^{\circ}\text{C}$  avant que la teneur en ergostérol par lésion ne soit mesurée par LC-MS. Les plants de B73 (A), du mutant *B73lox12-1* (B) et de W438 (C) au stade végétatif une feuille (stade V1), ont été inoculés avec *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 (Ri), *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc) ou inoculés simultanément avec *R. irregularis* et *P. chlororaphis* 30-84 (Ri×Pc) sur le système racinaire entier. Le traitement Témoign représente les plants non inoculés avec les microsymbiotes. Plus tard, au stade V3, la troisième feuille a été infectée par la souche M1.001 de *Colletotrichum graminicola*. Les diagrammes à barres surmontées de lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un génotype de maïs donné. Cette expérimentation a été reproduite deux fois.

#### 11.4. Effets différentiels des teneurs en phénazines sur lignées sensibles et résistantes

L'hypothèse selon laquelle les phénazines agissent comme un inducteur de résistance systémique a été vérifiée en utilisant plusieurs souches mutantes dérivées de *P. chlororaphis* dont la quantité de phénazines produites diffère. La suppression de la maladie a été plus accentuée chez les plants B73 dont les racines ont été bactériisées avec le mutant produisant plus de phénazines (PcEnh) que la souche sauvage (Pc). La souche sauvage (Pc) a permis d'obtenir des surfaces de lésions pathogéniques 3 fois plus réduites que celles obtenues avec le Phz<sup>-</sup> mutant qui ne produit pas de phénazines. Les surfaces obtenues avec le mutant PcEnh étaient quasi nulles (Figure 15A). Cependant, chez la lignée résistante W438, les surfaces de lésions de la maladie ont augmenté avec des souches dérivées produisant plus de phénazines. Les surfaces obtenues avec Pc ont été 1,5 fois plus grandes que celles obtenues avec Phz<sup>-</sup> mutant. Les surfaces obtenues avec PcEnh ont été respectivement 1,7 et 3,1 fois plus grandes que celles obtenues avec Pc et Phz<sup>-</sup> mutant (Figure 15B).

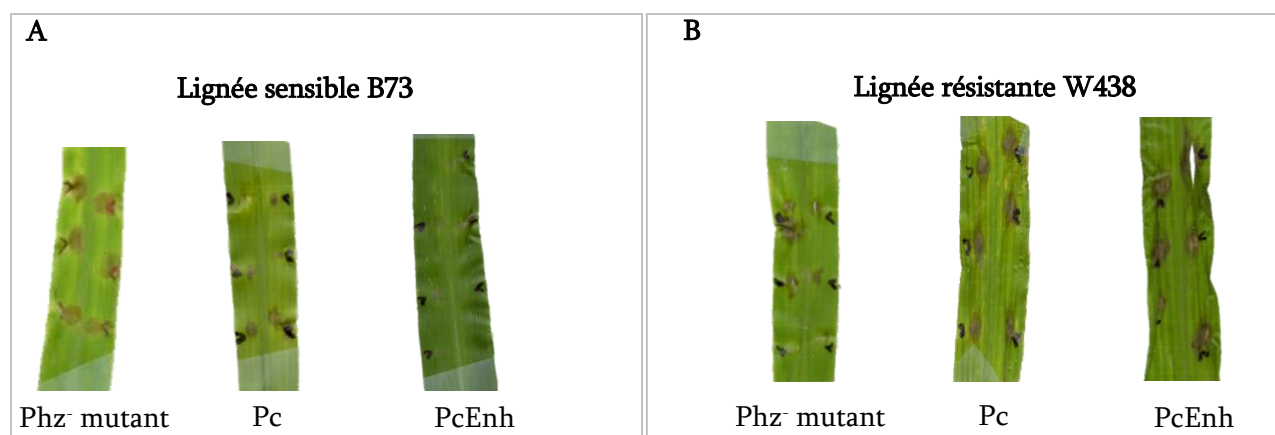


Figure 15. Réponses de lignées prebactérisées par des souches différenciant par la teneur produite en phénazines. Les systèmes racinaires des plants de maïs B73 sensible à l'antracnose foliaire (A) et W438 résistant à l'antracnose foliaire (B) ont été inoculés au stade végétatif une feuille (stade V1) avec le type sauvage de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (Pc), le mutant *P. chlororaphis* 30-84 non producteur de phénazines (Phz<sup>-</sup> mutant) et le mutant de *P. chlororaphis* 30-84 ayant une production 4 fois plus accrue de phénazines (PcEnh) que Pc. Plus tard, au stade végétatif trois feuilles (stade V3), la troisième feuille a été infectée avec des spores de *Colletotrichum graminicola*. Chaque traitement a été répété six fois.

#### 11.5. Effets de *Rhizopagus irregularis* sur la production de phénazines

L'intensité de la fluorescence verte a été  $12,98 \pm 1,68$  et  $141,25 \pm 1,97$  fois plus faible respectivement une et deux semaine(s) après traitement sur les racines coinoculées avec *P. chlororaphis* et *R. irregularis* que sur les racines inoculées par *P. chlororaphis* (Figure 16AB).

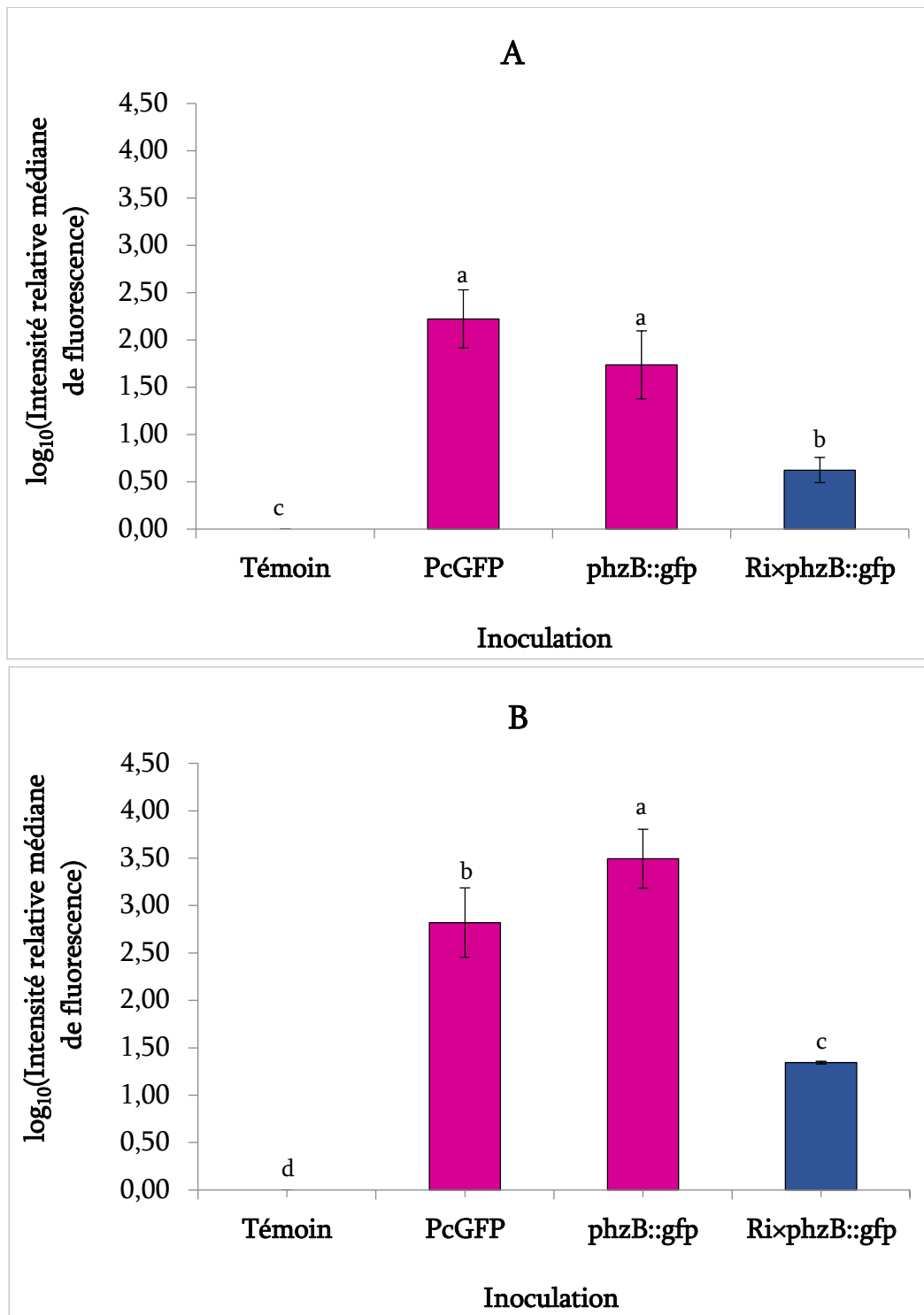


Figure 16. Influence de *Rhizophagus irregularis* sur l'expression de l'opéron phénazine

Les plants étaient au stade végétatif V1 lorsqu'ils ont été inoculés par le mutant *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 (PcGFP) non producteur de phénazine mais exprimant *GFP*, du mutant *P. chlororaphis* (phzB::gfp) portant une fusion transcriptionnelle du gène rapporteur GFP avec l'opéron phénazine, ou inoculés simultanément avec *Rhizophagus irregularis* et PhzB::gfp (Ri×phzB::gfp). Le témoin représente des plants non inoculés. Les barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard compilées sur deux répliques de l'expérimentation et mesurées une semaine post-inoculation (A) et deux semaines post-inoculation (B) dans la rhizosphère de plants de B73. Les diagrammes à barres surmontées de lettres différentes sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD.

### 11.6. Interaction indirecte entre les microsymbiotes *via* planta dans un split-root system

*Pseudomonas chlororaphis* a obtenu des tailles de population de  $10^6$  à  $10^7$  CFU/g (Figure 17) et *Rhizophagus irregularis* a colonisé entre 60 et 80 % de la longueur des racines (Figure 18). Il n'y a eu de différence significative ni entre les traitements de simple inoculation et de double inoculation, ni entre les lignées B73 et *B73lox12-1* (Figures 17 et 18).

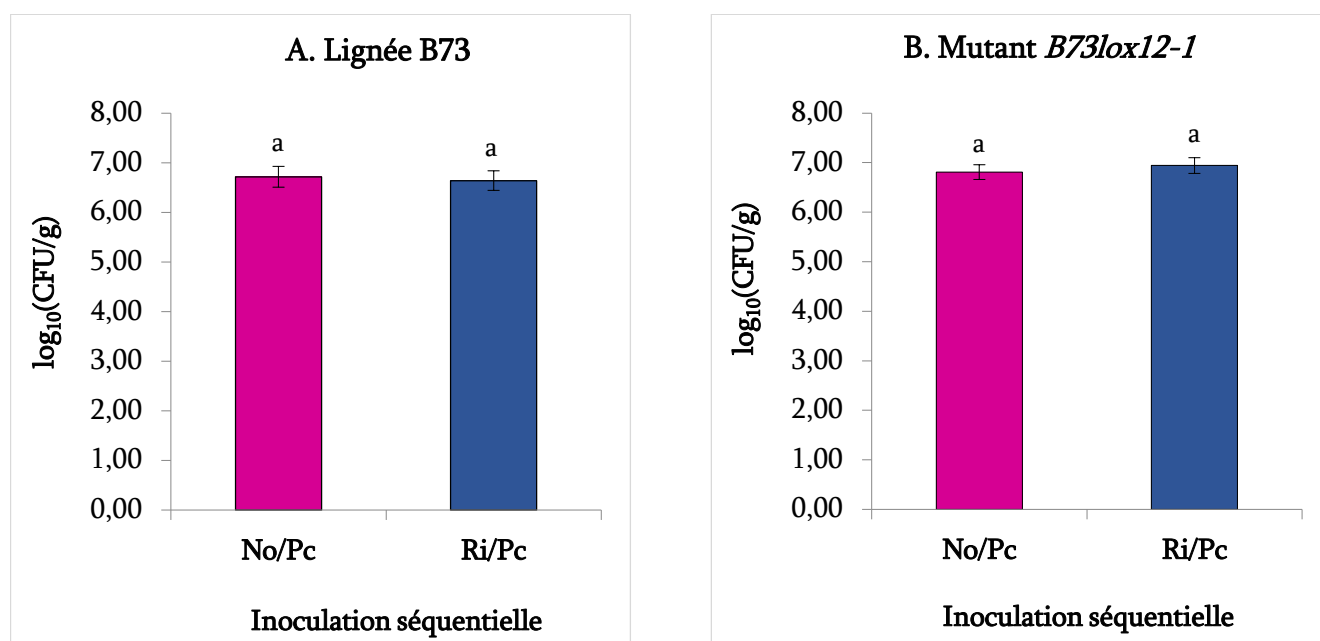


Figure 17. Régulation de la bactérisation *via* planta par la prémycorhization dans un split-root system. Le split-root system a été appliqué aux plants B73 (A) et mutants *B73lox12-1* (B) au stade végétatif une feuille (stade V1). Ri/Pc représente les plants pour lesquels *R. irregularis* DAOM 197198 a été appliqué au stade végétatif une feuille (stade V1) sur une moitié du système racinaire, suivi de l'inoculation de *P. chlororaphis* 30-84 trois semaines plus-tard (stade V3) sur l'autre moitié du système racinaire. No/Pc représente les plantes où il n'y a pas eu d'inoculation au stade V1 sur une moitié du système racinaire, mais *P. chlororaphis* a été inoculé au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. CFU/g = unités formant colonies par gramme de racines. Les diagrammes à barres représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 12 mesures compilées sur deux réplifications de l'essai et effectuées trois semaines après la dernière inoculation des racines. Les traitements n'étaient pas significativement différents ( $p > 0,05$ ) selon l'ANOVA pour un génotype de maïs donné.



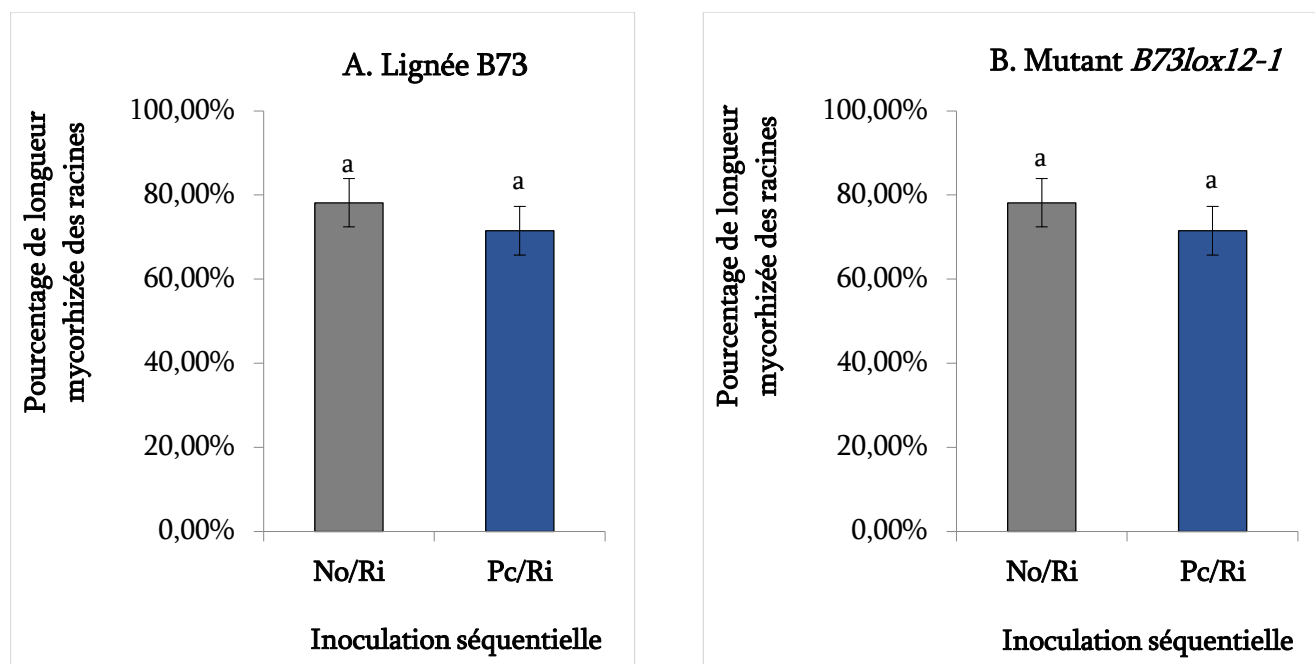


Figure 18. Régulation de la mycorhization *via planta* par la prébactérisation dans un split-root system. Le split-root system a été appliqué aux plants B73 (A) et mutants *B73lox12-1* (B) au stade végétatif une feuille (stade V1). Pc/Ri représente les plants pour lesquels *Pseudomonas chlororaphis* a été appliqué au stade V1 sur une moitié du système racinaire, suivi de l'inoculation de *Rhizophagus irregularis* trois semaines plus tard (stade végétatif trois feuilles, stade V3) sur l'autre moitié du système racinaire. No/Ri représente les plants où il n'y a pas eu d'inoculation au stade V1 sur une moitié du système racinaire, mais *R. irregularis* a été inoculé au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. CFU/g = unités formant colonies/gramme de racines. Les diagrammes à barres représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 12 mesures compilées des deux réplifications de l'essai et effectuées trois semaines après la dernière inoculation des racines. Les traitements n'étaient pas significativement différents ( $p > 0,05$ ) selon l'ANOVA pour un génotype de maïs donné.

Tous les traitements simples et doubles dans le split-root system ont été efficaces pour supprimer la maladie chez B73, peu importe l'ordre séquentielle d'application des microsymbiotes (Figure 19). Le traitement le plus efficace est celui de l'inoculation simultanée mais spatialement séparée des deux microsymbiotes (Ri:Pc). Il a toutefois, la même efficacité que les traitements en simples inoculations (No/Pc et No/Ri) ou en co-inoculations séparés dans le temps et dans l'espace (Ri/Pc et Pc/Ri). Ce traitement Ri:Pc occasionne des surfaces de lésions  $3,58 \pm 0,98$  fois plus réduites que celles sur les plants témoins. Il induit également des surfaces de lésions  $2,32 \pm 1,18$  fois plus réduites que celles induites par le traitement No/Pc×Ri, traitement de coinoculation simultanée des microsymbiotes partageant le même espace.

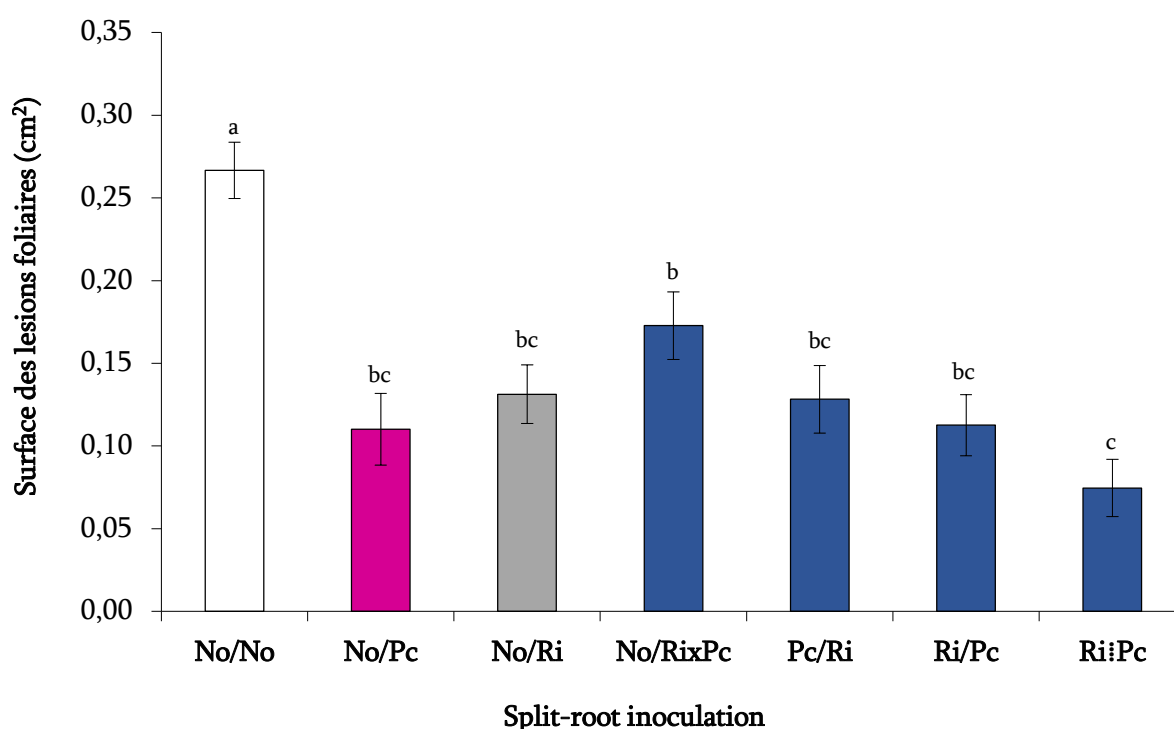


Figure 19. Réponses systémiques induites contre *Colletotrichum graminicola* dans le split-root system

Le split-root system a été appliqué aux plants de maïs de la lignée B73 au stade végétatif une feuille (stade V1). No/No représente un système racinaire divisé mais non inoculé. Ri/Pc représente les plants pour lesquels *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 a été appliqué au stade V1 sur une moitié du système racinaire, suivi de l'inoculation de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 trois semaines plus-tard (stade V3) sur l'autre moitié du système racinaire. No/Pc représente les plants où il n'y a pas eu d'inoculation au stade V1 sur une moitié du système racinaire, mais *P. chlororaphis* a été inoculé au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. Pc/Ri représente les plants pour lesquels *P. chlororaphis* a été appliqué au stade V1 sur une moitié du système racinaire, suivi de l'inoculation de *R. irregularis* trois semaines plus tard (stade V3) sur l'autre moitié du système racinaire. No/Ri représente les plants où il n'y a pas eu d'inoculation au stade V1 sur une moitié du système racinaire, mais *R. irregularis* a été inoculé au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. No/Ri×Pc représente les plants pour lesquels aucune inoculation n'a été faite au stade V1 sur une moitié du système racinaire, mais *R. irregularis* et *P. chlororaphis* ont été coinoculés au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. Ri:Pc représente les plants pour lesquels *R. irregularis* a été appliqué au stade V3 sur une moitié du système racinaire, et *P. chlororaphis* a également été inoculé au stade V3 sur l'autre moitié du système racinaire. Les diagrammes à barres sont des moyennes d'au moins 18 mesures  $\pm$  erreur standard effectuées 21 jours après la dernière inoculation racinaire. L'expérimentation a été reproduite deux fois.

### 11.7. Inhibition *in vitro* de la croissance de *Colletotrichum graminicola*

La capacité de souches dérivées de *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 à inhiber directement la croissance mycélienne de *C. graminicola* a aussi été examinée sur milieu PDA (Figure 20A). Les résultats montrent une différence significative entre les tailles des zones d'inhibitions. La zone d'inhibition causée par le type sauvage *P. chlororaphis* 30-84 (Pc) a été  $7,36 \pm 0,07$  fois supérieure à celle du Phz- mutant (Figure 20B). Les composés diffusibles produits par le type sauvage *P. chlororaphis* 30-84 (Pc) ont inhibé la croissance *in vitro* de *Colletotrichum graminicola*, et cette inhibition était due à la production de phénazines. Le Phz- mutant a réussi à limiter la croissance fongique dans une certaine mesure, bien que cet effet ait été de courte durée. En effet, les spots de Phz- mutant étaient complètement recouvertes en 12 jours, données non reportées), tandis que le Gac- mutant n'a pas pu inhiber la croissance mycélienne.

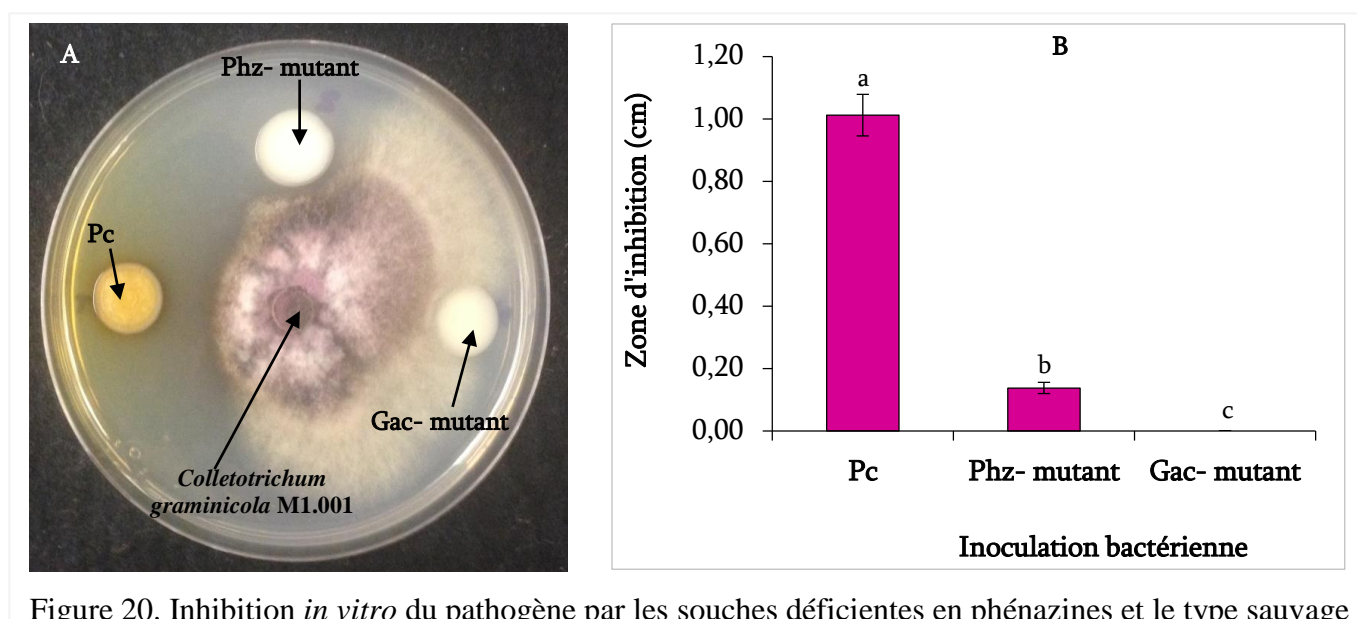


Figure 20. Inhibition *in vitro* du pathogène par les souches déficientes en phénazines et le type sauvage  
**A** : L'agent pathogène fongique a d'abord été cultivé sur un milieu PDA pendant sept jours, et un fragment de 3 mm de diamètre a été prélevé sur le bord de la colonie en croissance et transféré au centre d'un nouveau milieu PDA. Après deux jours d'incubation, 5  $\mu$ l des cultures bactériennes du type sauvage (Pc), de Phz- mutant (non producteur de phénazines) et de Gac- mutant (non producteur de métabolites secondaires), cultivées dans 3 ml de milieu LB à 28 °C, ont été déposés à 3 cm du centre du fragment du champignon pathogène. Après dix jours, la zone d'inhibition a été mesurée. **B** : Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 10 mesures  $\pm$  erreur standard compilées des deux répliques de l'essai imagé en A.

## CHAPITRE 12 : EFFETS DE L'INACTIVATION DES GÈNES *9-ZmLOX3* ET *9-ZmLOX12* ET DE L'INOCULATION DE CHAMPIGNON MYCORHIZIEN SUR LA RÉSISTANCE DU MAÏS AU STRESS HYDRIQUE

### 12.1. Température foliaire

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une température foliaire plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $0,6 \pm 0,1$  °C et  $0,3 \pm 0,0$  °C. Toutefois, seule la différence de température entre celles de B73 et du mutant *B73lox3-4* est significative au seuil  $\alpha = 5$  %. En revanche, la température foliaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $3,2 \pm 0,1$  °C au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 21A).

Lorsque la mycorhization est présente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une température foliaire significativement plus élevée que celle du mutant *B73lox3-4* de  $0,2 \pm 0,1$  °C. À l'opposé, les plants B73 ont une température foliaire significativement plus basse que celle du mutant *B73lox12-1* et celle des plants W438 respectivement de  $0,8 \pm 0,1$  °C et  $4,4 \pm 0,1$  °C au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 21A).

Sous stress sévère, la température foliaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $0,9 \pm 0,2$  °C. La température foliaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,5 \pm 0,1$  °C. Par contre, la température foliaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés ( $34,4 \pm 0,1$  °C). De même, la température foliaire des plants W438 mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants W438 non mycorhizés ( $37,9 \pm 0,2$  °C) au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 21A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont une température foliaire plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $0,3 \pm 0,0$  °C et  $1,1 \pm 0,1$  °C. Toutefois, seule la différence de température entre celle de B73 et celle du mutant *B73lox12-1* est significative au seuil  $\alpha = 5$  %. Par ailleurs, la température foliaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $4,0 \pm 0,2$  °C au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 21B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont une température foliaire plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox2-1* respectivement de  $0,1 \pm 0,0$  °C et  $0,7 \pm 0,0$  °C.

Toutefois, seule la différence de température entre celle de B73 et celle du mutant *B73lox12-1* est significative au seuil  $\alpha = 5 \%$ . À l'inverse, les plants B73 ont une température foliaire significativement plus basse que celle des plants W438 de  $2,1 \pm 0,4 \text{ }^\circ\text{C}$  au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 21B).

Sous stress modéré, la température foliaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $0,5 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . La température foliaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,3 \pm 0,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Par contre, la température foliaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés n'est pas significativement différente de celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés. La température foliaire des plants W438 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants W438 non mycorhizés de  $2,45 \pm 0,01 \text{ }^\circ\text{C}$  au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 21B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une température foliaire plus basse que celle des mutants *B73lox3-4* de  $0,2 \pm 0,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Toutefois, cette différence de température n'est pas significative au seuil  $\alpha = 5 \%$ . À l'inverse, elle est significativement plus élevée que celle des mutants *B73lox12-1* de  $1,7 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . En outre, la température foliaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $2,7 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 21C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une température foliaire identique à celle des mutants *B73lox3-4*. Par contre elle est significativement plus élevée que celle des mutants *B73lox12-1* de  $0,4 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Par ailleurs, la température foliaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $3,0 \pm 0,6 \text{ }^\circ\text{C}$  (Figure 21C).

En l'absence de stress hydrique, la température foliaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $0,7 \pm 0,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . La température foliaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,8 \pm 0,0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Par contre, la température foliaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $0,7 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . En outre, celle des plants W438 mycorhizés et des plants W438 non mycorhizés est identique (Figure 21C).

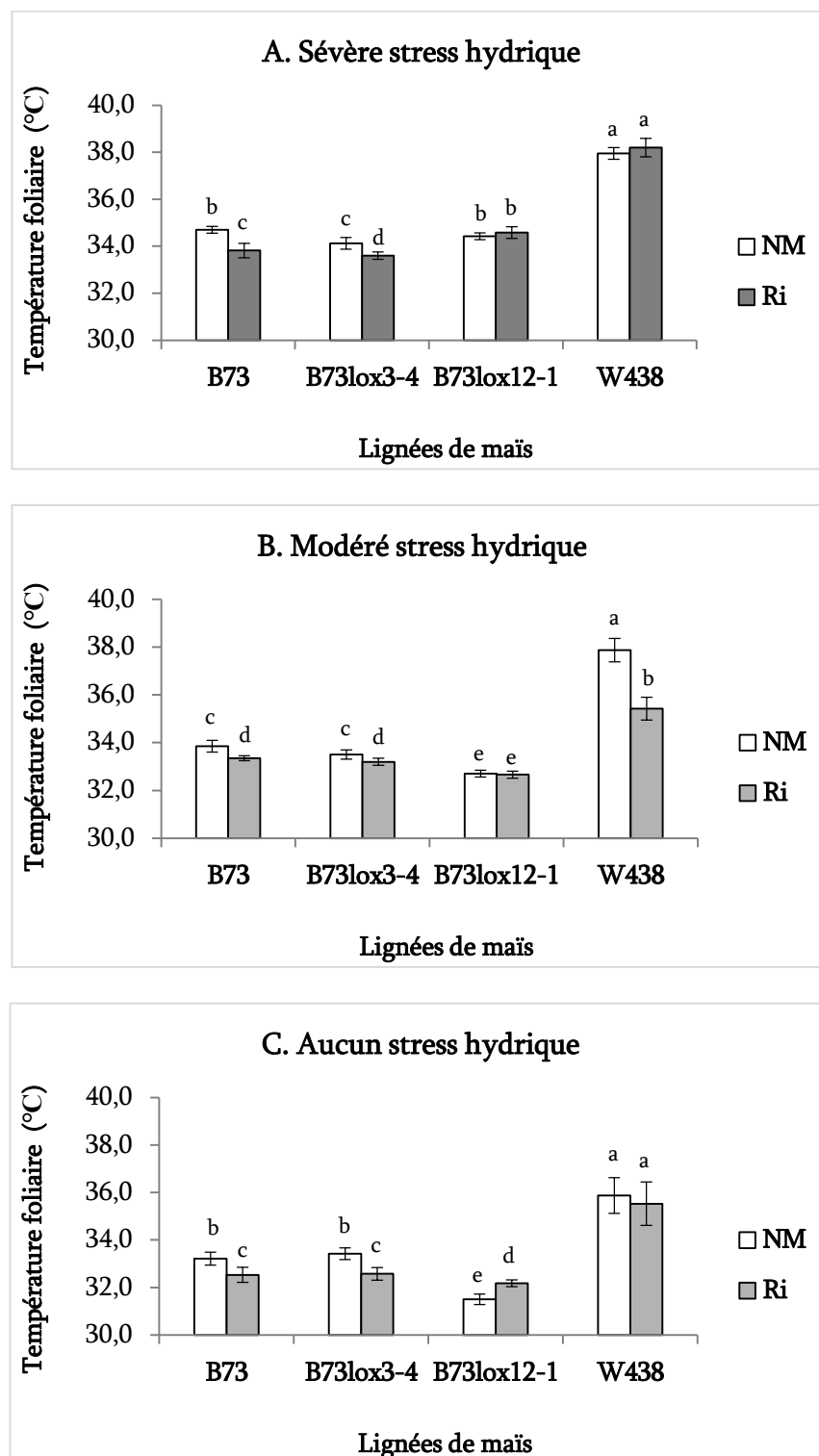


Figure 21. Effets du stress hydrique et de la mycorrhization sur la température foliaire

Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répliques de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

## 12.2. Biomasse sèche et la teneur relative en eau caulinaire

Les résultats de la MANOVA (p-value du lambda de Wilks < 0,01) indiquent que les différences dans les réponses mesurées sont expliquées et causées par les différences dans les modalités des traitements.

### 12.2.1. Biomasse sèche caulinaire

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $4,49 \pm 0,10$  g et  $3,39 \pm 0,25$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. En outre, la masse sèche caulinaire des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $1,06 \pm 0,44$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 22A).

Lorsque la mycorhization est présente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $8,11 \pm 0,37$  g et  $1,83 \pm 0,04$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire identique à celle des plants W438, estimée à  $5,41 \pm 0,42$  g (Figure 22A).

Sous stress sévère, la masse sèche caulinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $1,77 \pm 0,17$  g. La masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $1,85 \pm 0,30$  g. Par contre, la masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés  $3,33 \pm 0,46$  g. De même, la masse sèche caulinaire des plants W438 mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants W438 non mycorhizés ( $5,45 \pm 0,12$  g) au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 22A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $0,61 \pm 0,14$  g et  $10,01 \pm 1,02$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, la masse sèche caulinaire des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $3,02 \pm 0,2$  g (Figure 22B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox2-1* respectivement de  $6,14 \pm 0,37$  g et  $4,63 \pm 0,39$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $6,65 \pm 0,75$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 22B).

Sous stress modéré, la masse sèche caulinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants B73 non mycorhizés de  $3,44 \pm 0,66$  g. La masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $3,57 \pm 0,15$  g. Par contre, la masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés n'est significativement différente de celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés, estimée à  $24,69 \pm 1,94$ . De même, la masse sèche caulinaire des plants W438 mycorhizés est identique à celle des plants W438 non mycorhizés ( $11,60 \pm 1,74$  g) au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 22B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celle des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $13,60 \pm 1,08$  g et  $8,43 \pm 0,71$  g au seuil  $\alpha = 5 \%$ . À l'opposé, elle n'est pas différente, au seuil  $\alpha = 5 \%$ , de celle des plants W438, estimée à  $15,89 \pm 1,20$  g (Figure 22C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une masse sèche caulinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $18,00 \pm 1,29$  g et  $5,67 \pm 0,52$  g. Par contre, la masse sèche caulinaire des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $5,87 \pm 0,80$  g au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 22C).

En l'absence de stress hydrique, la masse sèche caulinaire des plants B73 mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants B73 non mycorhizés estimée à  $16,71 \pm 2,60$  g. La masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $4,40 \pm 0,31$  g. Par contre, la masse sèche caulinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $2,76 \pm 0,07$  g. De même, la masse sèche caulinaire des plants W438 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants W438 non mycorhizés de  $5,05 \pm 0,60$  g (Figure 22C).



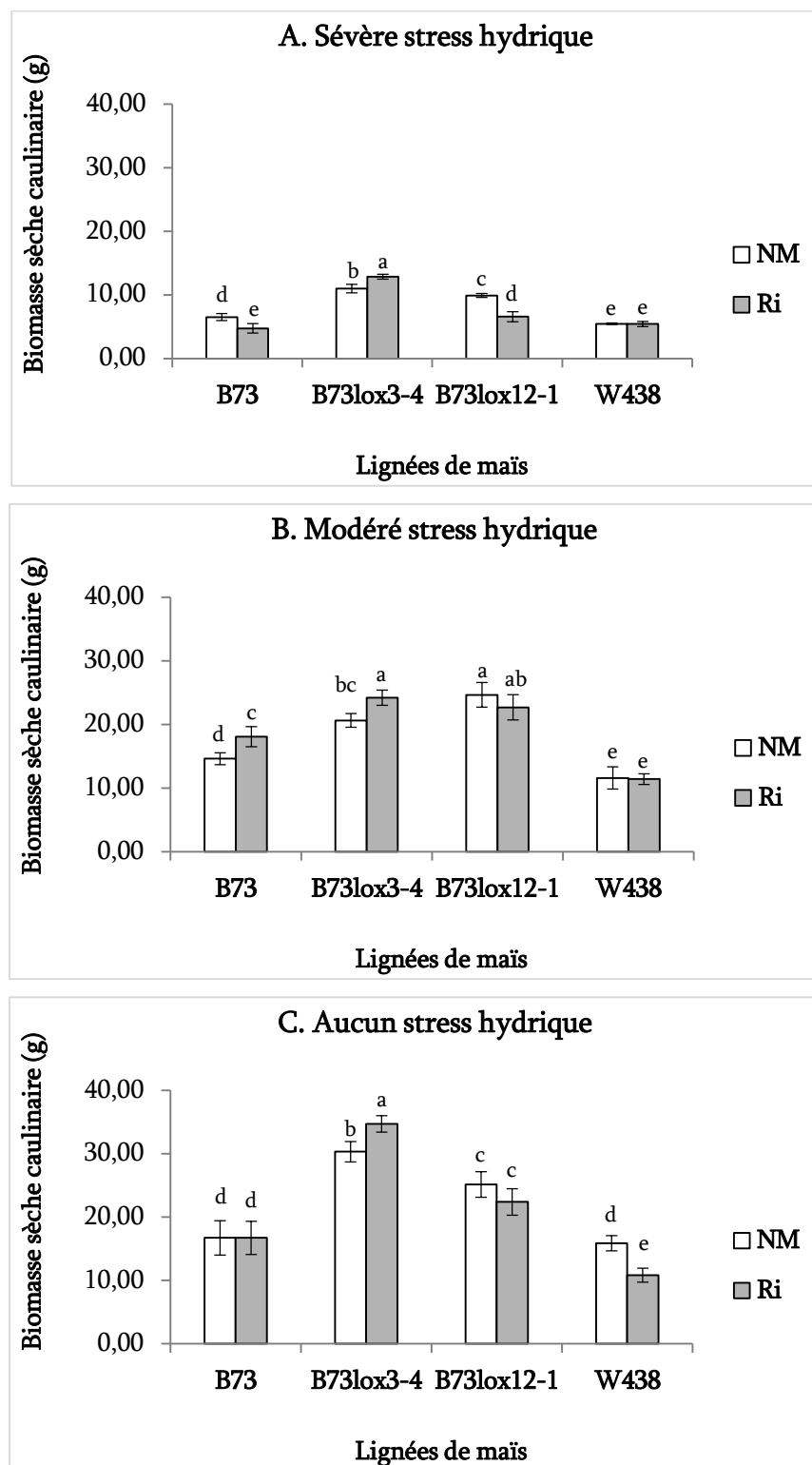


Figure 22. Effets du stress hydrique et de la mycorrhization sur la biomasse caulinaire

Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répétitions de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.2.2. Teneur relative en eau caulinaire

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinaire significativement plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $7,97 \pm 0,04$  % et  $14,22 \pm 0,26$  % au seuil  $\alpha = 5$  %. Par ailleurs, la teneur en eau caulinaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $3,65 \pm 0,79$  % (Figure 23A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinaire significativement plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $9,00 \pm 0,67$  % et de  $10,70 \pm 0,90$  %. À l'inverse, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinaire identique au seuil  $\alpha = 5$  % à celle des plants W438 estimée à  $59,00 \pm 1,84$  % (Figure 23A).

Sous stress sévère, la teneur relative en eau caulinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants B73 non mycorhizés de  $7,40 \pm 0,30$  %. La teneur relative en eau caulinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $6,37 \pm 0,93$  %. De même, la teneur relative en eau caulinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $10,92 \pm 1,46$  %. Par contre, la teneur relative en eau caulinaire des plants W438 mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants W438 non mycorhizés ( $55,25 \pm 2,33$  %) (Figure 23A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une teneur en eau caulinaire identique à celle des deux mutants et des plants W438, estimée à  $46,33 \pm 5,72$  % (Figure 23B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une teneur relative en eau caulinaire identique à des mutants *B73lox3-4* et *B73lox2-1* estimée à  $40,50 \pm 3,03$  % au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinaire significativement plus basse que celle des plants W438 de  $8,50 \pm 0,76$  % au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 23B).

Sous stress modéré, pour une lignée donnée de l'étude, la teneur relative en eau caulinaire des plants mycorhizés n'est statistiquement différente de celle des plants non mycorhizés au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 23B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinaire significativement plus élevée que celle des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $3,25 \pm 3,20$  % et  $11,62 \pm 3,97$  %. Cependant, seule la différence entre la teneur relative en eau des plants

B73 et celle des plants mutants *B73lox12-1* est significative au seuil  $\alpha = 5\%$ . Par ailleurs, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinare significativement plus basse que celle des plants W438 de  $17,50 \pm 4,6\%$  au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 23C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une teneur relative en eau caulinare significativement plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement  $12,29 \pm 0,27\%$  et  $11,92 \pm 1,86\%$  au seuil  $\alpha = 5\%$ . Par contre, la teneur relative en eau caulinare des plants B73 est identique à des plants W438 estimée à  $55,50 \pm 3,35\%$  (Figure 23C).

En l'absence de stress hydrique, pour toutes les lignées testées excepté la lignée W438, il n'y a pas de différence significative entre la teneur relative en eau caulinare de leurs plants mycorhizés et celle de leurs plants non mycorhizés au seuil  $\alpha = 5\%$ . À l'inverse, la teneur relative en eau caulinare des plants W438 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants W438 non mycorhizés estimée à  $8,75 \pm 1,18\%$  au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 23C).

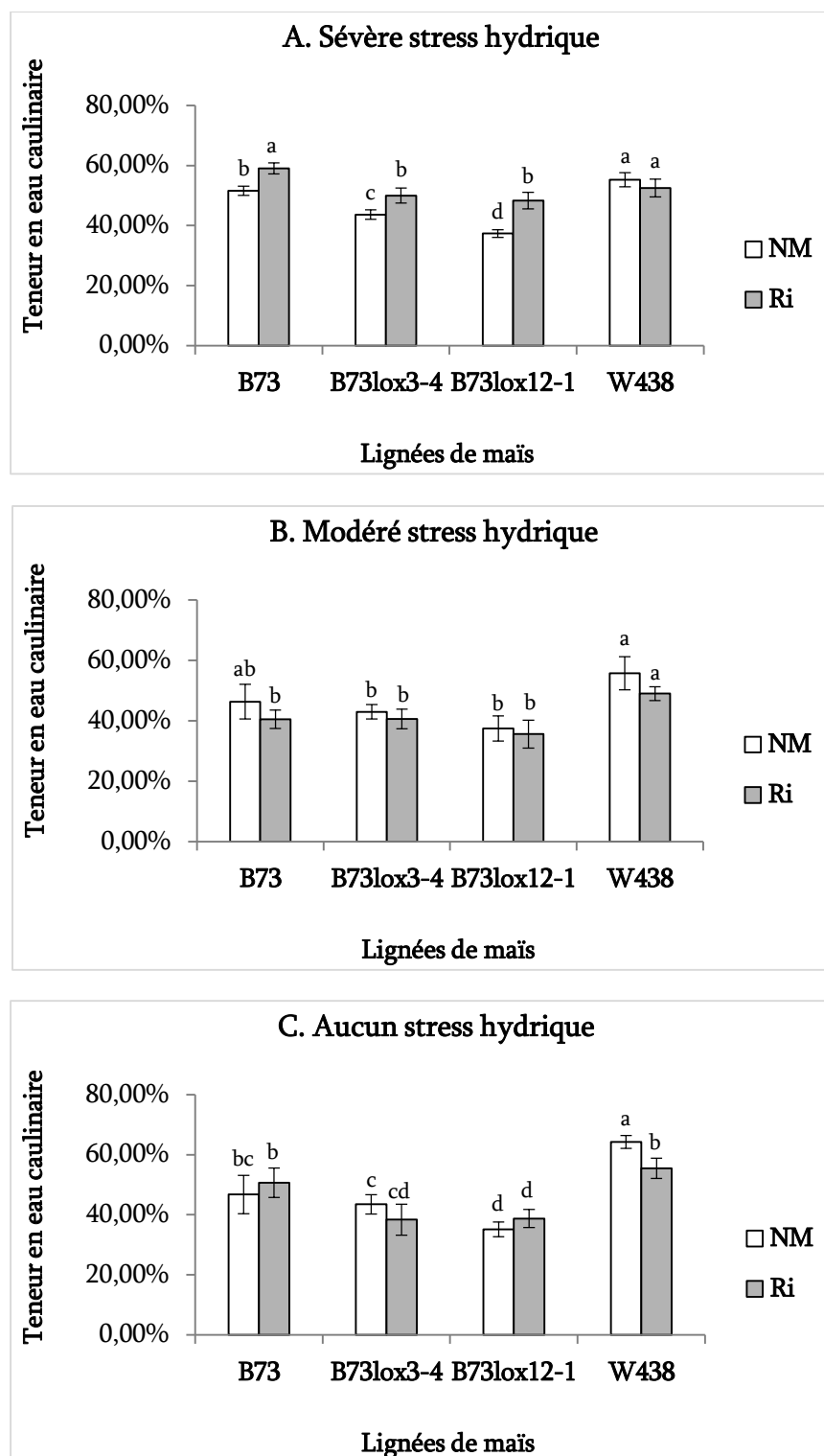


Figure 23. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur relative en eau caulinaire  
 Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux réplifications de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.3. Biomasses sèche et teneur relatives en eau des racines

Les résultats de la MANOVA (p-value du lambda de Wilks < 0,01) indiquent que les différences dans les réponses mesurées sont expliquées et causées par les différences dans les modalités des traitements.

#### 12.3.1. Biomasses sèche des racines

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 obtiennent une masse sèche racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $1,37 \pm 0,30$  g et  $0,25 \pm 0,06$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. En outre, la masse sèche racinaire des plants B73 est significativement plus basse que celle des plants W438 de  $0,30 \pm 0,08$  g (Figure 24A).

Lorsque la mycorhization est présente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $2,45 \pm 0,16$  g et  $0,19 \pm 0,05$  g. En outre, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus basse que celle des plants W438 de  $0,76 \pm 0,12$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 24A).

Sous stress hydrique sévère, la masse sèche racinaire des plants B73 mycorhizés est identique à celle des plants B73 non mycorhizés estimée à  $1,61 \pm 0,19$  g. La masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $1,03 \pm 0,13$  g. Par contre, la masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est identique à celle des mutants *B73lox12-1* non mycorhizés estimée à  $1,86 \pm 0,12$  g. Quant à W438, la masse sèche racinaire des plants mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants non mycorhizés de  $0,42 \pm 0,03$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 24A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 obtiennent une masse sèche racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox2-1* de  $1,06 \pm 0,41$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les plants B73 ont eu une masse sèche racinaire identique à celle des mutants *B73lox3-4* estimée à  $4,59 \pm 0,70$  g. En sus, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus basse que celle des plants W438 de  $6,65 \pm 0,75$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 24B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus élevée que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $3,11 \pm 0,45$  g et  $3,70 \pm 0,73$  g au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, la masse sèche racinaire des plants B73 est identique à celle des plants W438 estimée à  $8,60 \pm 0,64$  g (Figure 24B).

Sous stress hydrique modéré, la masse sèche racinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants B73 non mycorhizés de  $3,06 \pm 0,28$  g. La masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est identique à celle des mutants *B73lox3-4* non mycorhizés estimée à  $4,87 \pm 0,71$  g. Par contre, la masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $0,42 \pm 0,03$ . Quant à la masse sèche racinaire des plants W438 mycorhizés, elle est identique à celle des plants W438 non mycorhizés ( $10,75 \pm 1,32$  g) au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 24B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une masse sèche racinaire identique à celles des mutants *B73lox3-4* et des plants W438 estimées respectivement à  $10,08 \pm 0,31$  g et  $11,60 \pm 1,00$  g. Par contre, elle est significativement plus élevée que celle des mutants *B73lox12-1* de  $5,75 \pm 0,97$  g au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 24C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus élevée que celles des mutants *B73lox12-1* de  $2,35 \pm 0,22$  g. Par contre, la masse sèche racinaire des plants B73 est identique à celle des mutants *B73lox3-4* estimée à  $7,20 \pm 0,33$  g. Par ailleurs, les plants B73 ont une masse sèche racinaire significativement plus basse que celles des plants W438 de  $5,35 \pm 0,82$  g au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 24C).

En l'absence de stress hydrique, la masse sèche racinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $3,31 \pm 0,50$  g. Pareillement, la masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $2,88 \pm 0,02$  g. À l'inverse, la masse sèche racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est identique à celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés estimée à  $4,73 \pm 0,29$  g. De même, la masse sèche racinaire des plants W438 mycorhizés est identique à celle des plants W438 non mycorhizés estimée à  $12,43 \pm 1,34$  g (Figure 24C).

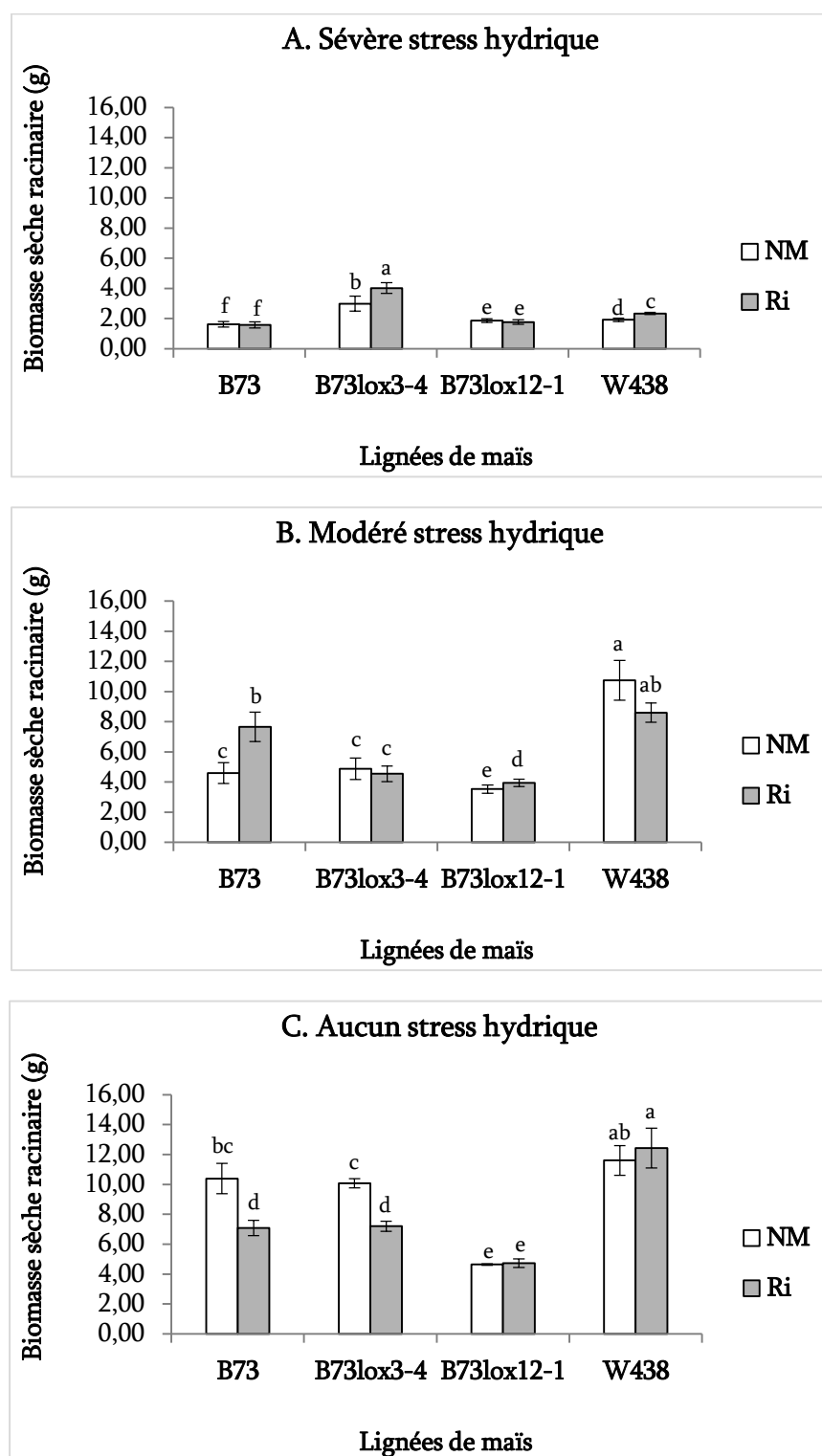


Figure 24. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse racinaire de lignées de maïs. Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répétitions de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.3.2. Teneur relative en eau des racines

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont eu une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $7,80 \pm 0,40$  % et  $18,80 \pm 1,97$  % au seuil  $\alpha = 5$  %. Par ailleurs, la teneur en eau racinaire des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $10,45 \pm 1,57$  % (Figure 25A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox12-1* de  $14,43 \pm 0,26$  %. Par contre, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire identique à celle des mutants *B73lox3-4* ( $54,17 \pm 1,97$  %). Par ailleurs, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire significativement plus élevée que celles des W438 de  $12,67 \pm 1,47$  % au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25A).

Sous stress sévère, la teneur en eau racinaire des plants B73 mycorhizés n'est pas différente de celle des plants B73 non mycorhizés estimée à  $54,17 \pm 1,97$  %. La teneur en eau racinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $8,25 \pm 0,74$  %. De même, la teneur en eau racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $3,40 \pm 0,86$  %. Par contre, la teneur en eau racinaire des plants W438 mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants W438 non mycorhizés ( $42,75 \pm 1,25$  %) au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox12-1* de  $11,42 \pm 3,28$  %. Par contre, la teneur en eau racinaire des plants B73 n'est significativement pas différente de celle des mutants *B73lox3-4* ( $67,75 \pm 3,40$  %) (Figure 22). Par ailleurs, les plants B73 ont eu une teneur en eau racinaire significativement plus élevée que celles des plants W438 de  $16,33 \pm 1,53$  % au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox2-1* respectivement de  $12,25 \pm 0,57$  % et  $19,65 \pm 2,33$  % au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $6,25 \pm 0,15$  g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25B).

Sous stress modéré, la teneur en eau racinaire des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $10,58 \pm 0,84$  %. La teneur en eau racinaire des plants mutants



*B73lox3-4* mycorhizés est identique à celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés estimée à  $68,00 \pm 2,54$  %. Par contre, la teneur en eau racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $2,35 \pm 0,10$  %. De même, la teneur en eau racinaire des plants W438 mycorhizés est identique à celle des plants W438 non mycorhizés ( $50,00 \pm 2,42$  %) au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celle des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $11,75 \pm 0,49$  % et  $18,25 \pm 1,00$  %. Par contre, elle est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $5,25 \pm 0,58$  % au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 25C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une teneur en eau racinaire significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement  $4,92 \pm 1,19$  % et  $14,42 \pm 1,05$  %. Par contre, la teneur en eau racinaire des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $8,33 \pm 0,04$  % (Figure 25C).

En l'absence de stress hydrique, la teneur en eau racinaire des plants B73 mycorhizés est significativement pas plus élevée que celle des plants B73 non mycorhizés de  $5,33 \pm 0,58$  %. La teneur en eau racinaire des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés ( $65,75 \pm 2,11$  %). De même, la teneur en eau racinaire des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés n'est significativement pas différente de celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés ( $73,75 \pm 1,15$  %). Par ailleurs, la teneur en eau racinaire des plants W438 mycorhizés est identique plus à celle des plants W438 non mycorhizés estimée à  $51,00 \pm 2,24$ % (Figure 25C).

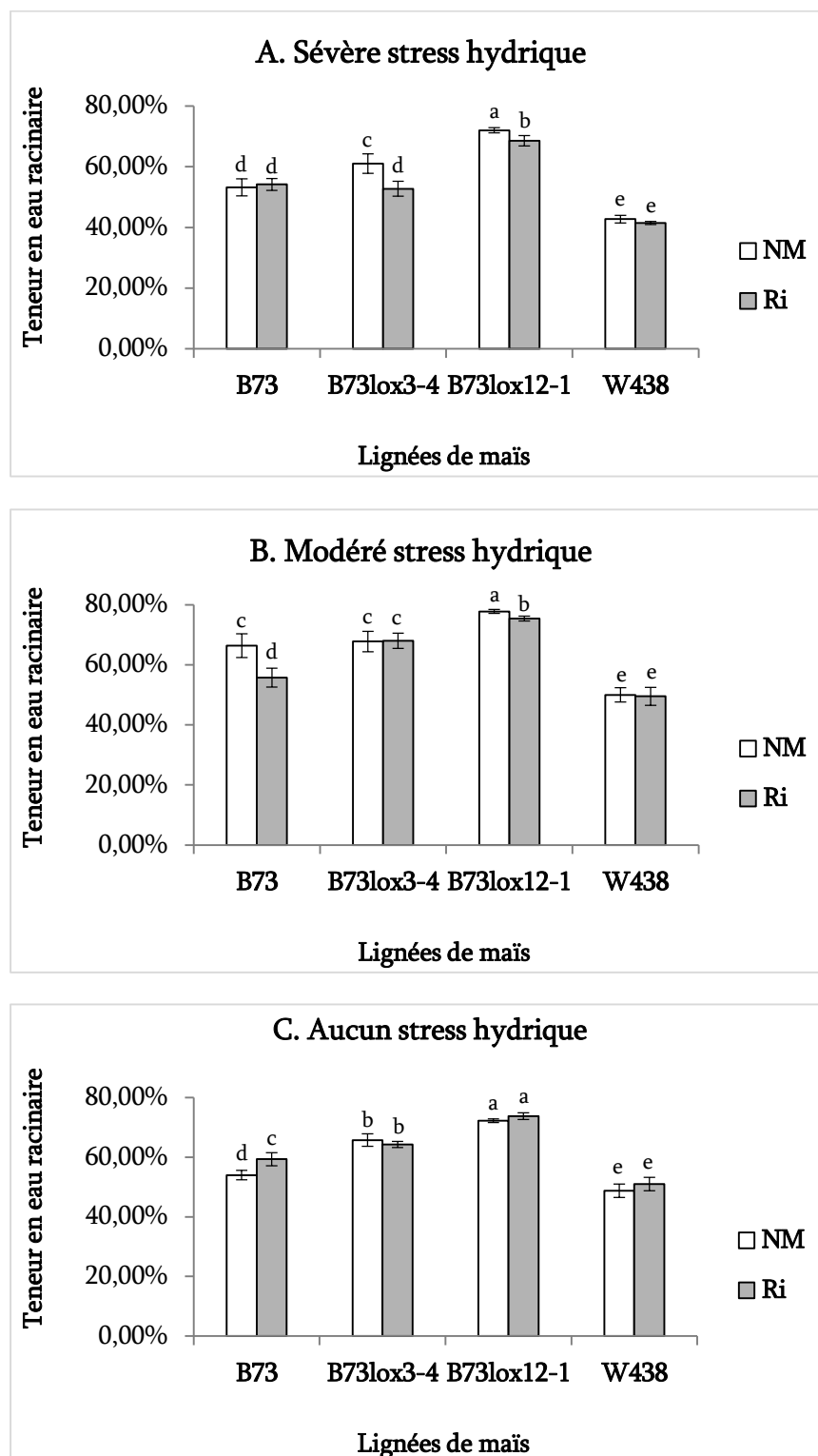


Figure 25. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur relative en eau racinaire

Les plants des types sauvages et des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répétitions de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

#### 12.4. Efficience agronomique de l'utilisation de l'eau

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau identique à celle des mutants *B73lox3-4* estimée à  $1,02 \pm 0,06$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  %. À l'opposé, cette efficience agronomique de l'utilisation de l'eau est significativement plus basse que celle des mutants *B73lox12-1* de  $0,07 \pm 0,02$  g/g. Par ailleurs, l'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $0,11 \pm 0,02$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les plants B73 ont une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus basse que celle des mutants *B73lox3-4* de  $0,41 \pm 0,04$  g/g. Par contre, les plants B73 ont une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus élevée que à celle des mutants *B73lox3-4* de  $0,16 \pm 0,01$  g/g). En outre, les plants B73 ont une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus basse que celles des W438 de  $0,25 \pm 0,03$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26A).

Sous stress sévère, l'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés de  $0,25 \pm 0,01$  g/g. L'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,18 \pm 0,02$  g/g. À l'inverse, l'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $0,49 \pm 0,04$  g/g. Par ailleurs, l'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants W438 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants W438 non mycorhizés de  $0,11 \pm 0,00$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* respectivement de  $0,20 \pm 0,01$  g/g et  $0,33 \pm 0,00$  g/g. Par contre, l'efficience agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 n'est significativement pas différente de celle des plants W438 estimée à  $0,92 \pm 0,05$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une efficience agronomique de l'utilisation de l'eau identique à celle des deux mutants au seuil  $\alpha = 5$  %. Par contre, les

plants B73 ont une efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $0,170 \pm 0,003$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26B).

Sous stress modéré, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants B73 non mycorhizés de  $0,24 \pm 0,01$  g/g. L'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants mutants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,21 \pm 0,02$  g/g. Par contre, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $0,16 \pm 0,01$  g/g. Par ailleurs, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants W438 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants W438 non mycorhizés de  $0,13 \pm 0,01$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau identique à celle des mutants *B73lox3-4* estimée à  $1,02 \pm 0,09$  g/g. Par contre, elle est significativement plus basse que celle des mutants *B73lox12-1* de  $0,17 \pm 0,05$  g/g. En outre, elle est significativement plus élevée que celle des plants W438 de  $0,38 \pm 0,1$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau significativement plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* de  $0,60 \pm 0,02$  g/g. Par contre, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 est identique à celle des mutants *B73lox12-1* et statistiquement plus élevée que celle des plants W438 (Figure 26C).

En l'absence de stress hydrique, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants B73 mycorhizés est identique à celle des plants B73 non mycorhizés. L'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants *B73lox3-4* non mycorhizés de  $0,53 \pm 0,07$  g/g. À l'inverse même, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est significativement plus basse que celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés de  $0,22 \pm 0,11$  g/g. De même, l'efficacité agronomique de l'utilisation de l'eau des plants W438 mycorhizés est significativement plus élevée que celle des plants W438 non mycorhizés de  $0,13 \pm 0,04$  g/g au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 26C).

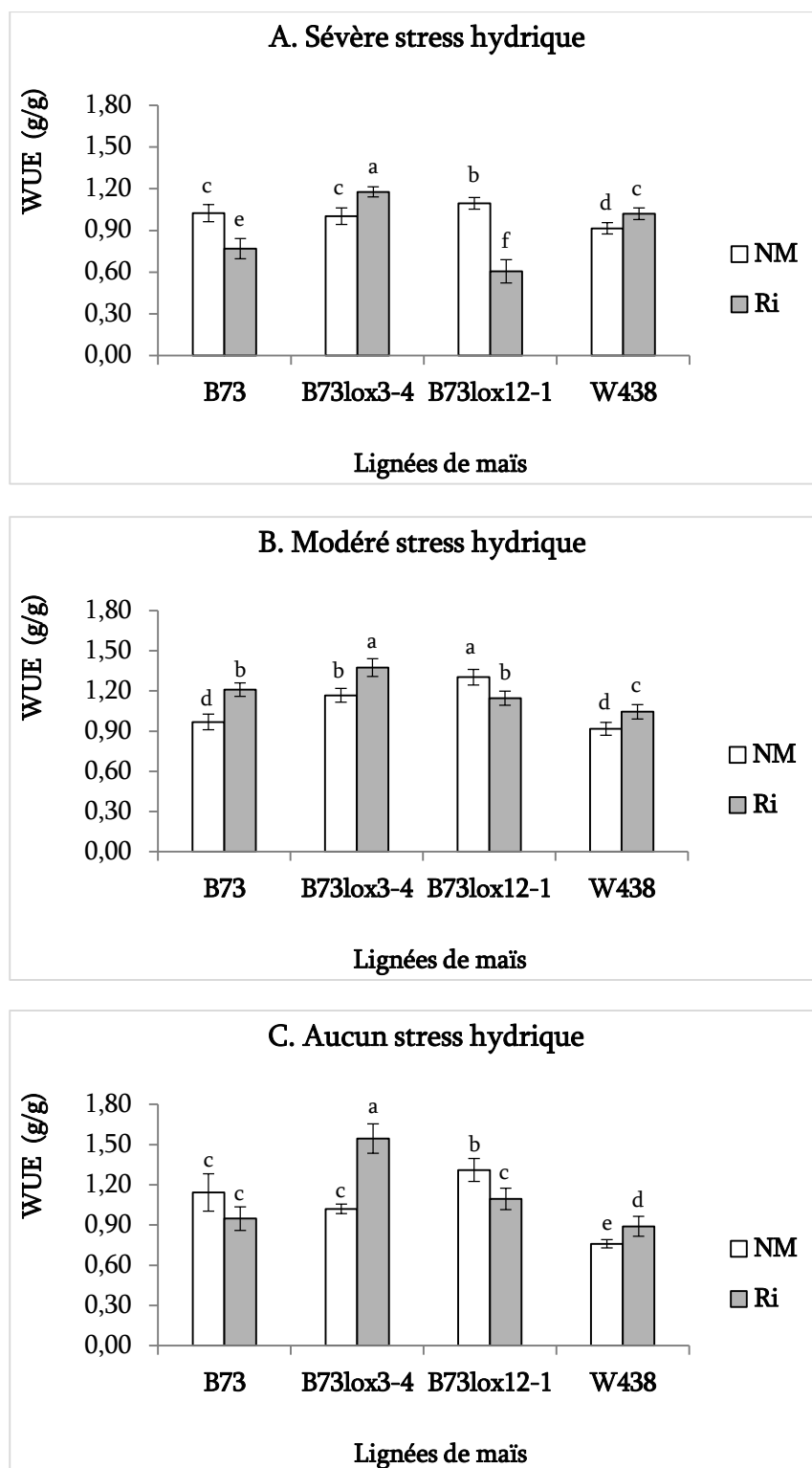


Figure 26. Effets du stress hydrique et de la mycorrhization sur l'efficacité de l'utilisation de l'eau WUE : efficacité de l'utilisation de l'eau. Les plants des lignées de maïs non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répliquations de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.5. Dépendance mycorhizienne sous stress hydrique

Sous stress hydrique sévère, seules les lignées *B73lox12-1* et W438 ont une dépendance mycorhizienne négative (-5,71 et -11,65 respectivement). Par contre, la dépendance mycorhizienne des plants B73 est 2,24 fois celle des mutants *B73lox3-4* (Figure 27).

Sous stress modéré, seules les lignées B73 et *B73lox12-1* ont une dépendance mycorhizienne négative (-13,90 et -9,86 respectivement). Par contre, la dépendance mycorhizienne des plants *B73lox3-4* est estimée à 3,63 et celle de W438 à 15,33 (Figure 27).

En l'absence de stress hydrique, seules les lignées B73 et *B73lox12-1* ont une dépendance mycorhizienne négative (-28,82 et -41,14 respectivement). Par contre, la dépendance mycorhizienne des plants *B73lox3-4* est estimée à 17,09 et celle de W438 à 4,88 (Figure 27).

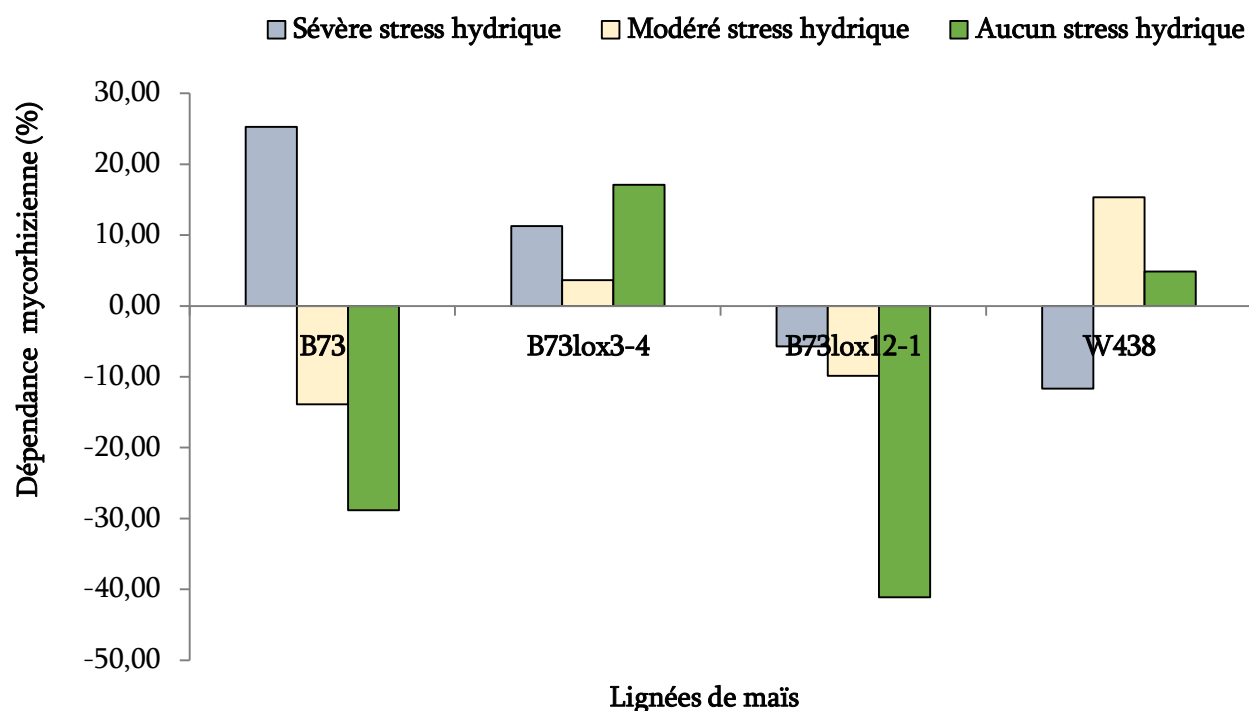


Figure 27. Dépendance mycorhizienne de lignées de maïs sous stress hydrique

Les plants au stade végétatif "trois feuilles" ont été soumis à aucun stress hydrique (100 % CR, capacité de rétention d'eau maximale du sol), à un stress hydrique modéré (50 % CR du sol) ou à un stress hydrique sévère (10 % CR du sol).

### 12.6. Teneur foliaire en polyphénols totaux sous stress hydrique

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une teneur foliaire en polyphénols totaux identique à celle des mutants *B73lox3-4*. Par contre, cette teneur est significativement 1,15 fois celle des mutants *B73lox12-1*. Par ailleurs, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants W438 est significativement 1,25 fois celle des plants B73 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 28A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les plants B73 ont une teneur foliaire en polyphénols totaux identique à celles des deux mutants. Par contre, les plants W438 ont une teneur en polyphénols totaux significativement 1,46 fois celle des plants B73 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 28A).

Sous stress sévère, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est identique à celle des plants B73 non mycorhizés. Les teneurs foliaires en polyphénols totaux des mutants *B73lox3-4* et *B73lox121* mycorhizés sont significativement 1,10 et 1,25 fois respectivement celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés. De même, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants W438 mycorhizés est significativement 1,21 fois celle des plants W438 non mycorhizés (Figure 28A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une teneur foliaire en polyphénols totaux significativement 1,12 et 1,04 fois plus basse que celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1*, respectivement. Pareillement, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants B73 est significativement 1,11 fois plus basse que celle des plants W438 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 28B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une teneur en polyphénols totaux identique à celle des mutants *B73lox3-4*. Par contre, les plants B73 ont une teneur en polyphénols totaux équivalant à 1,24 fois celle des mutants *B73lox12-1*. En sus, elle est 1,43 fois plus basse que celle des plants W438 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 28B).

Sous stress modéré, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est significativement 1,17 fois celle des plants B73 non mycorhizés. La teneur en polyphénols totaux des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est significativement 1,06 fois celle des plants mutants *B73lox3-4* non mycorhizés. Par contre, la teneur en polyphénols totaux des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés est significativement 1,10 fois celle des mutants *B73lox12-1* mycorhizés. Par ailleurs, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants W438 mycorhizés est significativement 1,50 fois celle des plants W438 non mycorhizés (Figure 28B).

Lorsque la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une teneur foliaire en polyphénols totaux identique à celle des deux mutants. Par contre, elle est significativement 1,09 fois plus basse que celle des plants W438 au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 28C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une teneur foliaire en polyphénols totaux respectivement 1,21 fois et 1,06 fois celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1*. Par contre, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants B73 est 1,19 fois plus basse que celle des plants W438 au seuil  $\alpha = 5 \%$  (Figure 28C).

En l'absence de stress hydrique, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est 1,19 fois celle des plants B73 non mycorhizés. La teneur foliaire en polyphénols totaux des plants mutants *B73lox12-1* mycorhizés est 1,08 fois celle des plants mutants *B73lox12-1* non mycorhizés. À l'inverse, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants mutants *B73lox3-4* non mycorhizés est 1,05 fois celle des plants *B73lox3-4* mycorhizés. En outre, la teneur foliaire en polyphénols totaux des plants W438 mycorhizés est 1,25 fois celle des plants W438 non mycorhizés (Figure 28C).



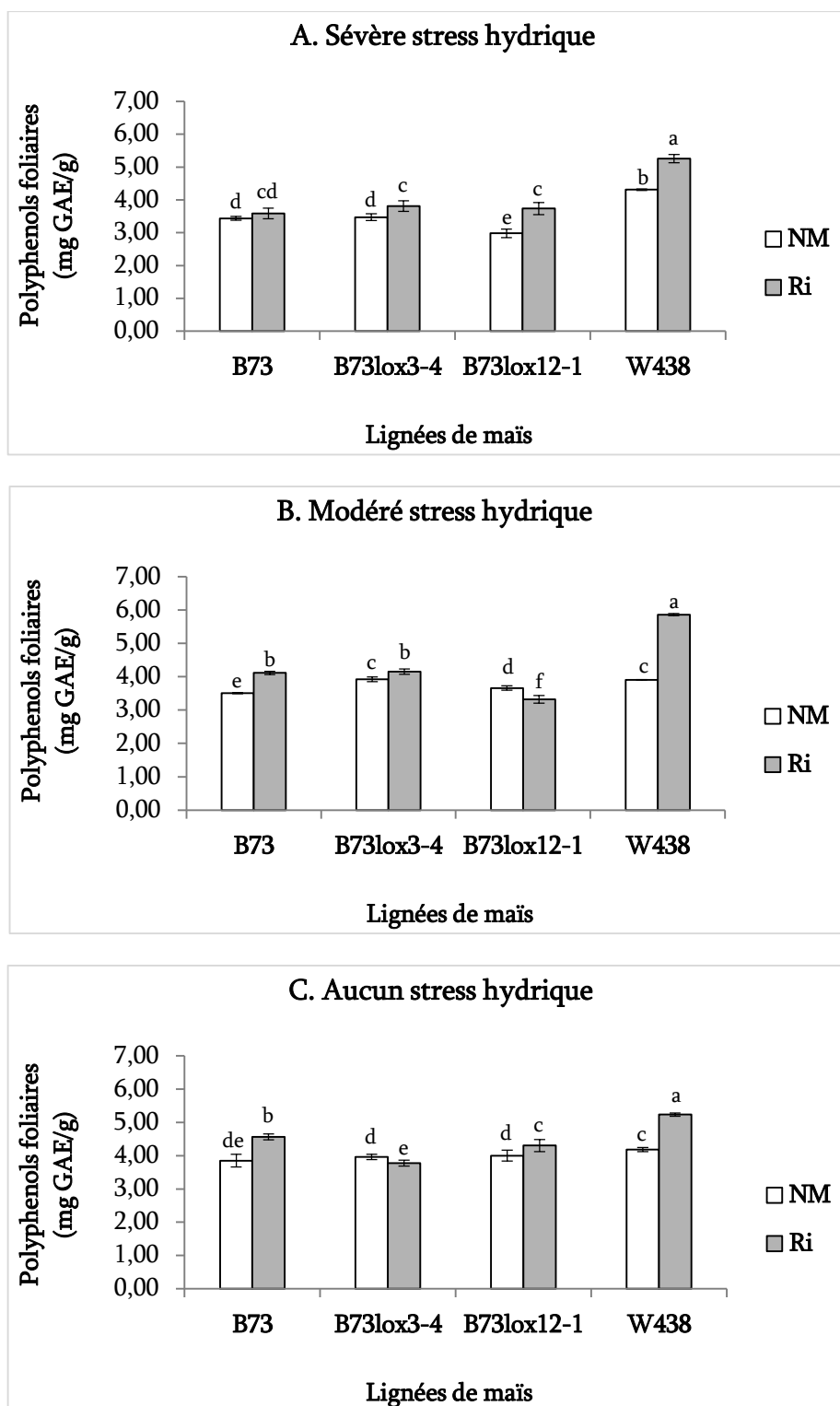


Figure 28. Effets du stress hydrique et de la mycorrhization sur la teneur foliaire en polyphénols totaux. Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répliques de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.7. Teneur racinaire en polyphénols totaux sous stress hydrique

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les plants B73 ont une teneur racinaire en polyphénols totaux identique à celle des mutants *B73lox3-4*. Par contre, cette teneur est respectivement 1,57 et 1,67 fois plus basse que celles des mutants *B73lox12-1* et des plants W438 (Figure 29A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les plants B73 ont une teneur racinaire en polyphénols totaux respectivement 2,53 et 1,27 fois plus basse que celles des plants mutants et W438 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 29A). Sous stress hydrique sévère, la teneur racinaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est 1,40 fois plus basse que celle des plants B73 non mycorhizés. De même, la teneur racinaire en polyphénols totaux des plants W438 mycorhizés est 1,84 fois plus basse celle des plants W438 non mycorhizés. Les teneurs racinaires en polyphénols totaux des mutants *B73lox3-4* et *B73lox121* mycorhizés sont significativement 2,24 et 1,12 fois respectivement celles des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (Figure 29A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les plants B73 ont eu une teneur racinaire en polyphénols totaux respectivement 2,50 et 1,67 fois celles des plants du mutant *B73lox3-4* et de W438 au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 26B). Par contre, les mutants *B73lox12-1*, n'ont pas produit une teneur mesurable. En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les plants B73 ont eu une teneur en polyphénols totaux qui représente 6,00 fois celles des deux lignées mutantes au seuil  $\alpha = 5\%$ . Par contre, les plants W438 n'ont pas produit une teneur en polyphénols totaux racinaires mesurable (Figure 29B). Sous stress hydrique modéré, la teneur racinaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est 2,40 fois celle des plants B73 non mycorhizés. La teneur en polyphénols totaux racinaires des plants mutants *B73lox3-4* mycorhizés est identique à celle des plants mutants *B73lox3-4* non mycorhizés (Figure 29B).

Quand la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont une teneur racinaire en polyphénols totaux respectivement 1,14 fois plus basse et 6,99 fois plus élevée que celles des plants du mutant *B73lox12-1* et de W438. Les mutants *B73lox12-1*, n'ont pas produit une teneur en polyphénols totaux racinaires mesurable (Figure 29C). Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont une teneur en polyphénols totaux racinaires estimée à 0,57 mg GAE/g. Les plants des mutants et de W438 n'ont pas produit une teneur en polyphénols totaux racinaires mesurable (Figure 29C). En l'absence de stress hydrique, la teneur racinaire en polyphénols totaux des plants B73 mycorhizés est 2,14 fois celle des plants B73 non mycorhizés au seuil de signification de 5% (Figure 29C).

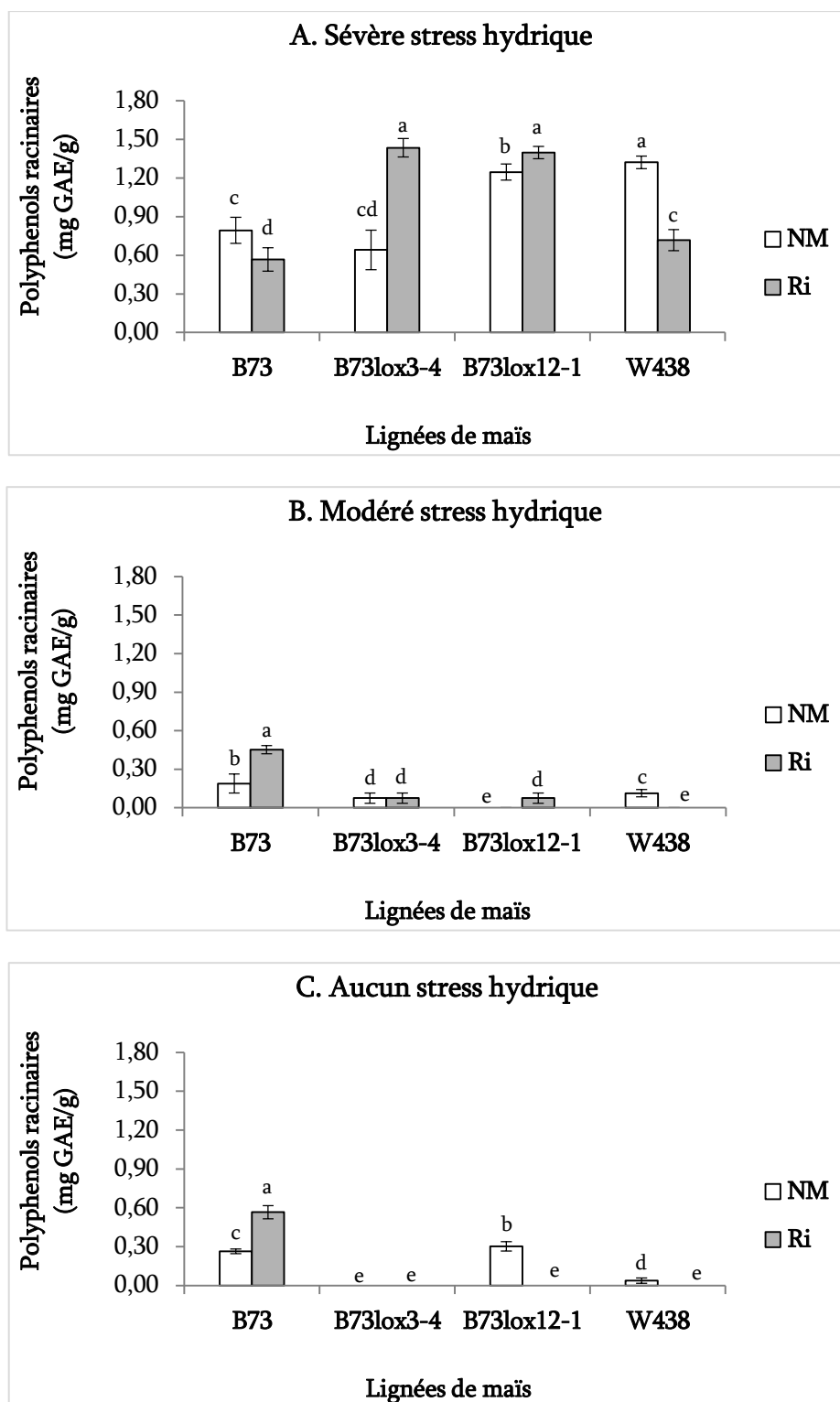


Figure 29. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur racinaire en polyphénols totaux. Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répliques de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.8. Potentiel antioxydant des polyphénols totaux foliaires sous stress hydrique

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique sévère, les polyphénols totaux foliaires des plants B73 ont un potentiel antioxydant qui est 1,20 celui du mutant *B73lox12-1*. Il est aussi 1,10 fois plus bas que celui de W438. Par contre, cette teneur est identique à celui des mutants *B73lox3-4* (Figure 30A).

En présence de stress hydrique sévère et de la mycorhization, les polyphénols totaux foliaires des plants B73 ont un potentiel antioxydant qui est 1,12 celui du mutant *B73lox12-1*. Il est aussi 1,26 fois plus bas que celui de W438. Par contre, cette teneur est identique à celui des mutants *B73lox3-4* (Figure 30A).

Sous stress hydrique sévère, Le potentiel des plants B73 mycorhizés est identique à celle des plants B73 non mycorhizés. Le potentiel des mutants *B73lox3-4* mycorhizés est 1,13 fois celui des *B73lox3-4* non mycorhizés. Le potentiel des mutants *B73lox12-1* mycorhizés est 1,11 fois celui des *B73lox12-1* non mycorhizés. Le potentiel des W438 mycorhizés est 1,19 fois celui des W438 non mycorhizés (Figure 30A).

Lorsque la mycorhization est absente sous stress hydrique modéré, les polyphénols totaux foliaires des plants B73 ont un potentiel antioxydant qui est 1,36 celui du mutant *B73lox12-1*. Il est aussi 1,18 fois plus bas que celui de W438. Par contre, cette teneur est identique à celui des mutants *B73lox3-4* (Figure 30B).

En présence de stress hydrique modéré et de la mycorhization, les polyphénols totaux foliaires des plants B73 ont un potentiel antioxydant qui est 1,04 celui du mutant *B73lox12-1*. Il est aussi 1,31 fois plus bas que celui de W438. Par contre, cette teneur est identique à celui des mutants *B73lox3-4* (Figure 30B).

Sous stress hydrique modéré, Le potentiel des plants B73 mycorhizés est identique à celle des plants B73 non mycorhizés. Le potentiel des mutants *B73lox3-4* mycorhizés est aussi identique à celui des *B73lox3-4* non mycorhizés. Quant aux mutants *B73lox12-1*, le potentiel des plants mycorhizés est 1,30 fois celui des plants non mycorhizés. Le potentiel des W438 mycorhizés est 1,10 fois celui des W438 non mycorhizés (Figure 30B).

Quand la mycorhization et le stress hydrique sont absents, les plants B73 ont un potentiel antioxydant de par leur teneur en polyphénols totaux foliaires respectivement 1,12 et 1,23 fois plus élevée que ceux des deux mutants. Ce potentiel est, par ailleurs, le même que celui des plants W438 (Figure 30C).

Lorsque la mycorhization est présente en l'absence de stress hydrique, les plants B73 ont un potentiel identique à celui des mutants *B73lox3-4*. Ce potentiel est toutefois, 1,06 fois celui des mutants *B73lox12-1*, mais est 1,10 fois plus bas que celui des plants W438 au seuil de signification de 5 % (Figure 30C).

En l'absence de stress hydrique, le potentiel des plants B73 non mycorhizés est 1,10 fois celui des plants B73. Le potentiel des mutants *B73lox3-4* mycorhizés est le même que celui des mutants *B73lox3-4* non mycorhizés. Le potentiel des mutants *B73lox12-1* mycorhizés est 1,05 fois celui des mutants *B73lox12-1*

non mycorhizés. Quant aux feuilles des plants W438, le potentiel antioxydant des polyphénols totaux des plants non mycorhizés est 1,05 fois celui des plants mycorhizés au seuil  $\alpha = 5\%$  (Figure 30C).

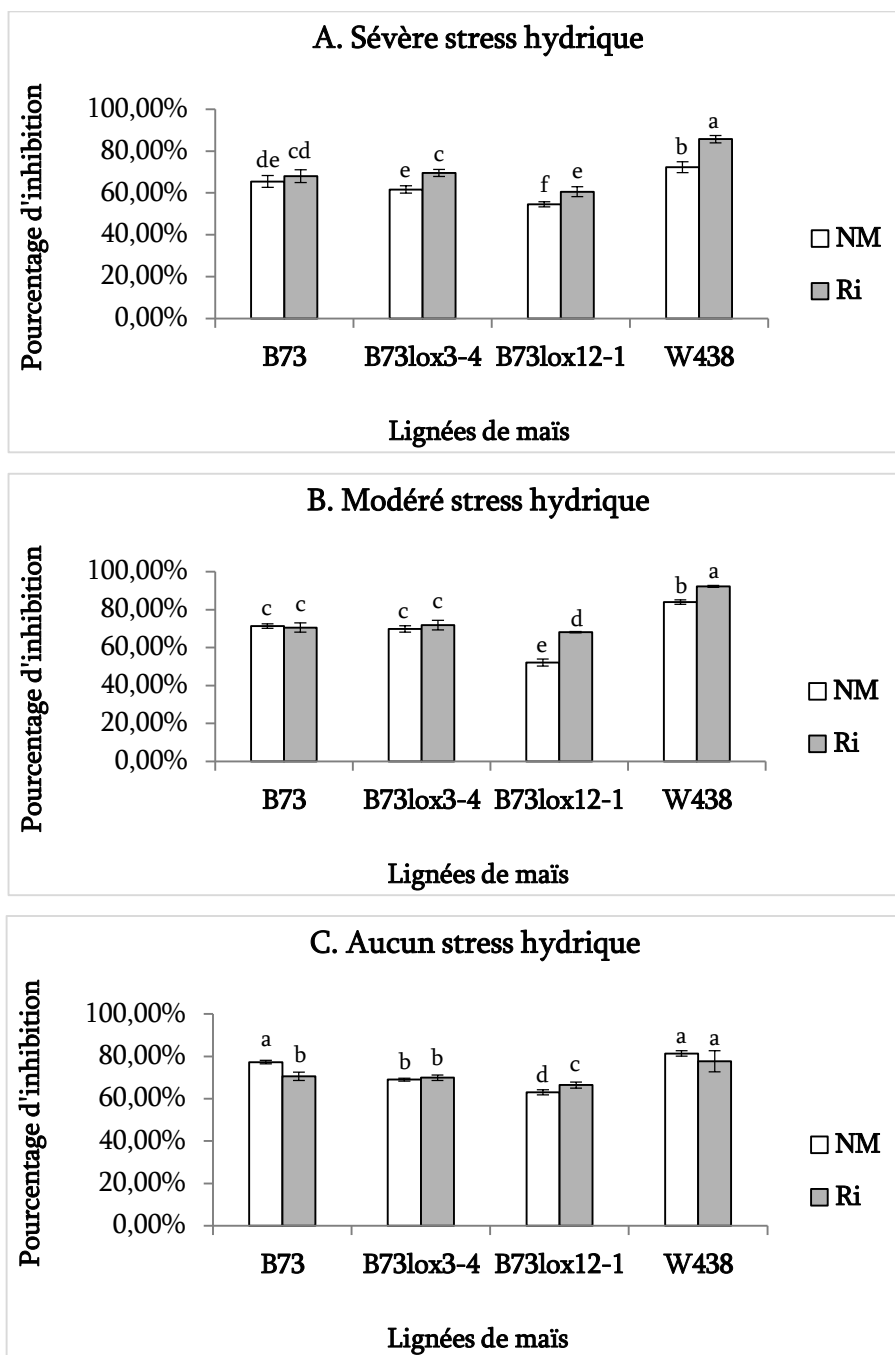


Figure 30. Activité antioxydante des polyphénols totaux des feuilles des lignées de maïs

Les plants des types sauvages et des mutants *B3lox3-4* et *B73lox12-1* non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculations compilées des deux répliques de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un niveau de stress hydrique donné.

### 12.9. Indice de tolérance au stress hydrique

Sous stress hydrique sévère et en l'absence de mycorhization, les indices de tolérance au stress (STI) des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* sont respectivement 2,57 fois et 1,59 fois supérieurs à celui de B73. Le STI de B73 vaut 1,28 fois celui de W438 (Figure 31A).

Sous stress hydrique sévère et en présence de la mycorhization, les indices de tolérance au stress (STI) des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* sont respectivement 4,71 fois et 1,51 fois supérieurs à celui de B73. Le STI de W438 vaut 1,42 fois celui de B73 (Figure 31A).

Sous stress hydrique modéré et en l'absence de mycorhization, les indices de tolérance au stress (STI) des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* sont respectivement 1,98 fois et 1,61 fois supérieurs à celui de B73. Le STI de W438 est identique à celui de B73 (Figure 31B).

Sous stress hydrique modéré et en présence de la mycorhization, les indices de tolérance au stress (STI) des mutants *B73lox3-4* et *B73lox12-1* sont respectivement 1,97 fois et 1,18 fois supérieurs à celui de B73. Le STI de B73 vaut 1,11 fois celui de W438 (Figure 31B).

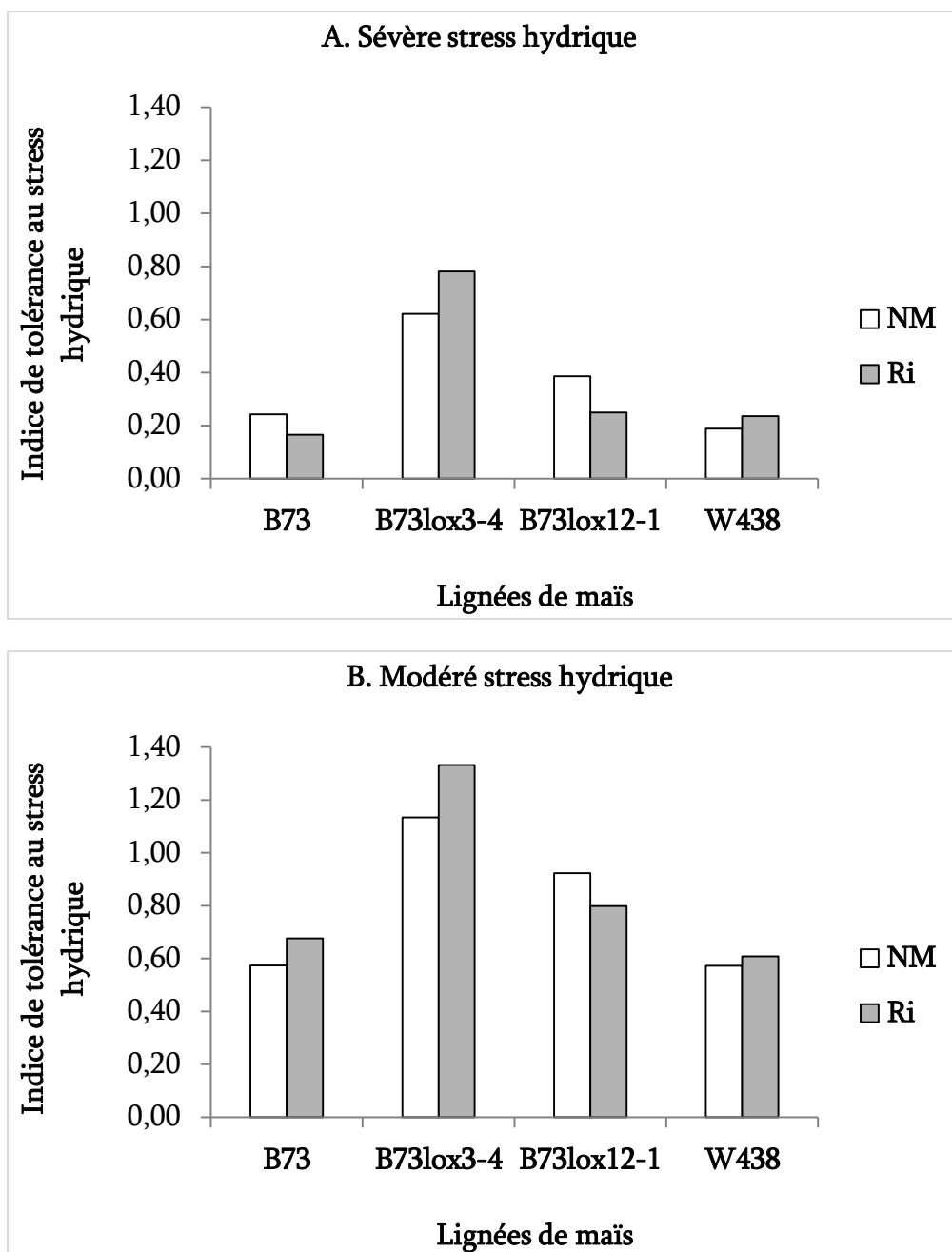


Figure 31. Effets de la mycorhization sur l'indice de tolérance au stress hydrique des lignées de maïs. Les plants non mycorhizés (NM) et les plants mycorhizés (Ri) n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %).

### 12.10. Estimation de la colonisation mycorhizienne sous stress hydrique

L'intensité de la mycorhization des lignées B73 et W438 a augmenté avec la sévérité du stress hydrique, respectivement de  $50,08 \pm 1,08$  % à  $59,13 \pm 3,88$  % et de  $52,04 \pm 3,57$  % à  $62,42 \pm 2,68$  %. Toutefois, elle n'est pas différente sous les modalités "modéré" et "sévère" du stress hydrique pour chaque lignée donnée. Pareillement, elle n'est pas différente sous les modalités "aucun" et "sévère" du stress hydrique entre les lignées B73 et W438 entre les lignées B73 et W438 (Figure 32A).

Chez B73, l'intensité de mycorhization sous stress hydrique est 1,18 fois celle obtenue en absence de stress hydrique. Chez W438, l'intensité de mycorhization sous stress hydrique est 1,27 fois celle obtenue en absence de stress hydrique (Figure 29). Sous stress hydrique modéré, l'intensité de mycorhization de W438 vaut 1,16 celle de B73 au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 32A).

L'abondance arbusculaire des lignées B73 et W438 a augmenté avec la sévérité du stress hydrique, respectivement de  $43,00 \pm 1,96$  % à  $51,11 \pm 5,15$  % et de  $44,95 \pm 3,60$  % à  $57,29 \pm 3,88$  %. Toutefois, elle n'est pas différente sous les modalités "modéré" et "sévère" du stress hydrique pour chaque lignée donnée. Pareillement, elle n'est pas différente sous les modalités "aucun" et "sévère" du stress hydrique entre les lignées B73 et W438 (Figure 32B).

Chez B73, l'abondance arbusculaire sous stress hydrique est 1,19 fois celle obtenue en absence de stress hydrique. Chez W438, l'abondance arbusculaire sous stress hydrique est 1,32 fois celle obtenue en absence de stress hydrique (Figure 29). Sous stress hydrique modéré, l'abondance arbusculaire de W438 vaut 1,25 celle de B73 au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 32B).



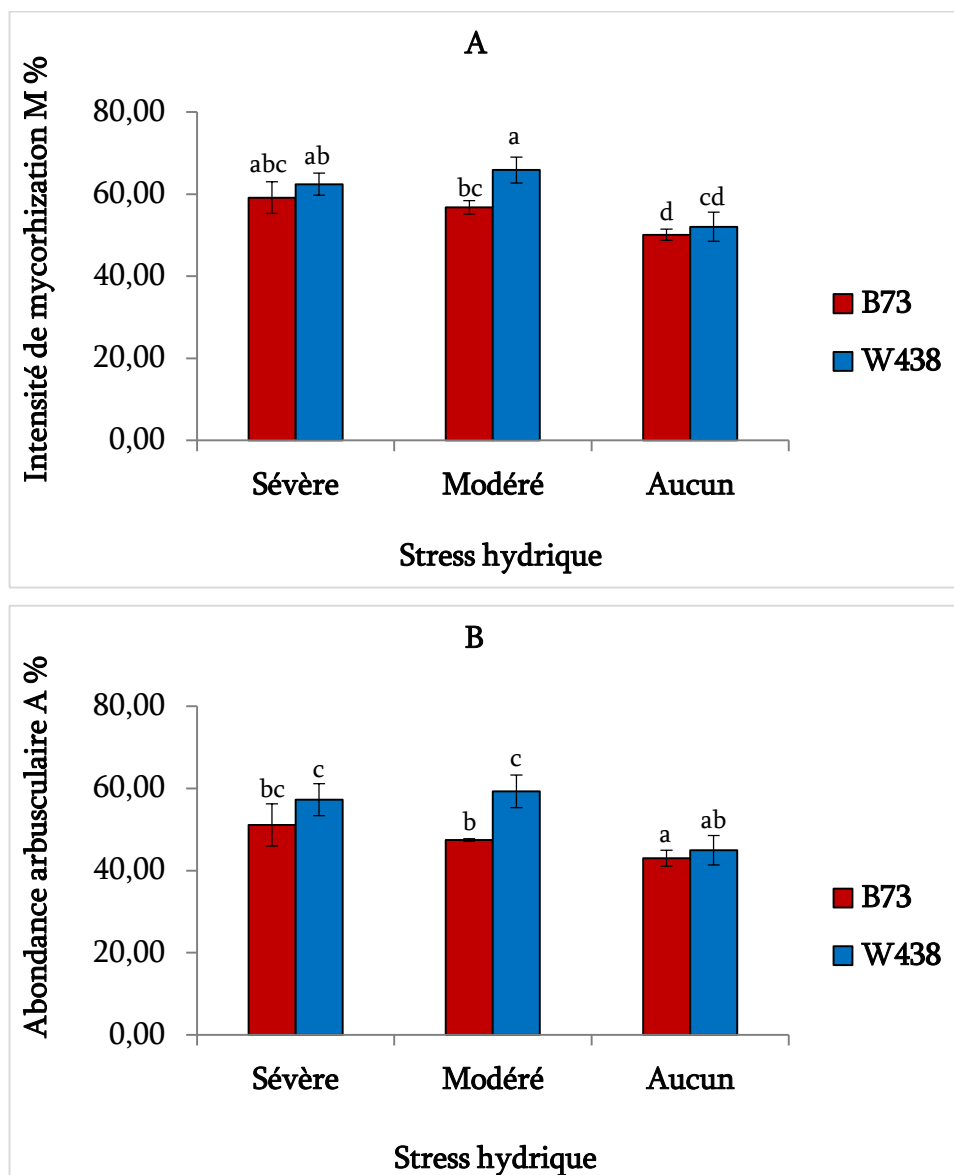


Figure 32. Effets du stress hydrique sur deux paramètres de mycorhization de *Rhizophagus irregularis*. L'intensité de mycorhization M % (A) et l'abondance arbusculaire A % (B) ont été estimées chez des plants mycorhizés qui n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les diagrammes à barres représentent la moyenne de 12 répétitions biologiques  $\times$  15 répliques techniques  $\pm$  erreur standard prises à 33 jours post inoculation et compilées des deux reproductions de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD pour un paramètre de mycorhization donné.

### 12.11. Densité de spores mycorhiziennes viables sous stress hydrique

La densité de spores viables de *Rhizophagus irregularis* dans la rhizosphère des lignées B73 et W438 a diminué avec la sévérité du stress hydrique, respectivement de  $95,58 \pm 3,50$  % à  $31,58 \pm 1,69$  % et de  $116,83 \pm 22,18$  % à  $44,83 \pm 5,64$  %. Toutefois, elle n'est pas différente sous stress hydrique modéré et en absence de stress hydrique entre les lignées B73 et W438 (Figure 30). Sous stress hydrique sévère, la densité sporale de W438 vaut 1,42 celle de B73 au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 33).

Chez B73, la densité sporale en l'absence de stress hydrique est respectivement 1,47 fois et 3,03 supérieure fois celles obtenues sous stress hydrique modéré et sévère. Chez W438, la densité sporale en l'absence de stress hydrique est respectivement 1,69 fois et 2,61 supérieure à fois celles obtenues sous stress hydrique modéré et sévère au seuil  $\alpha = 5$  % (Figure 33).

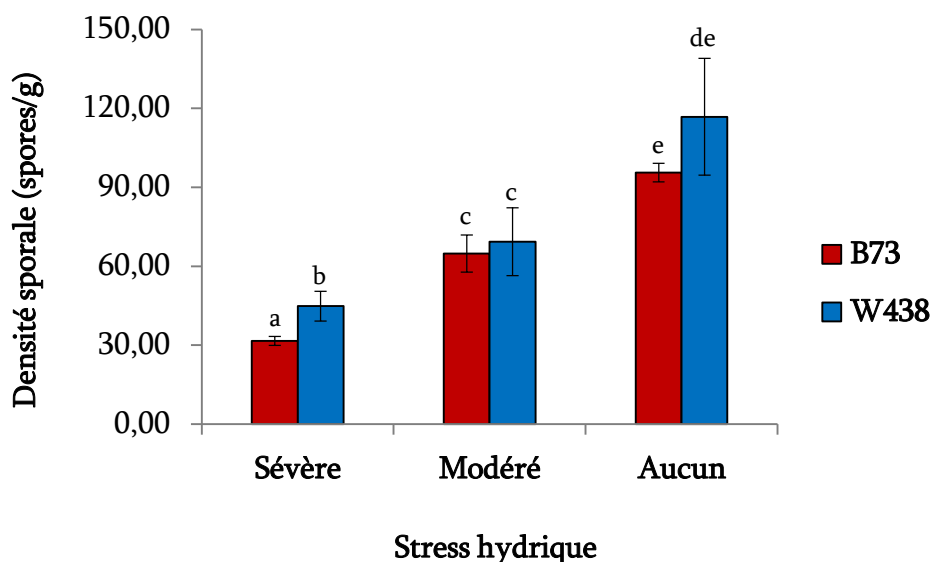


Figure 33. Effets du stress hydrique sur la densité sporale de *Rhizophagus irregularis* dans le substrat. La densité sporale par gramme de spores viables a été estimée chez des plants mycorhizés qui n'ont subi aucun stress hydrique (capacité maximale de rétention d'eau du sol, CR, à 100 %), un stress hydrique modéré (CR à 50 %) ou un stress hydrique sévère (CR à 10 %). Les barres représentent la moyenne de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard mesurées à 33 jours post inoculation et compilées des deux reproductions de l'essai. Les barres surmontées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD.

## CHAPITRE 13 : EFFETS DE LA MYCORHIZATION DE LA TOMATE SUR LA BACTÉRIOSE DUE À *CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM* ET SON PSYLLE VECTEUR

### 13.1. Estimation de la colonisation racinaire des plants de tomate

La colonisation des racines par *Rhizophagus irregularis* a été évaluée 12 semaines après inoculation des plants. Les données sur les pourcentages de longueurs colonisées de racines étaient légèrement, mais significativement différentes d'un traitement à l'autre au seuil  $\alpha = 5\%$  :  $82,0 \pm 0,1 > 75,0 \pm 0,1 > 69,0 \pm 0,1\%$ , respectivement pour les plants traités avec des psylles infectés par LsoB, non traités avec des psylles et traités avec des psylles infectés par LsoA.

### 13.2. Effets de la mycorhization sur le développement des symptômes et sur la croissance des plants

Les plants qui n'ont pas été infestés de psylles n'ont présenté aucun symptôme de maladie pendant toute la durée de ces expérimentations. Aucun symptôme de la maladie ne s'est manifesté au cours des trois premières semaines suivant l'infestation sur les autres plants (Tableau 9).

À six semaines après infestation (SAI), les plants mycorhizés et non mycorhizés infestés de psylles présentaient des symptômes de maladie (flétrissement, croissance déformée, et spécialement raccourcissement des entre-nœuds ou rabougrissement ...), indépendamment de l'haplotype Lso. Toutefois, les symptômes de flétrissement ont d'abord été observés sur des plants non mycorhizés (le 3<sup>ème</sup> jour de la 4<sup>ème</sup> SAI). L'incidence de la maladie à 6 SAI était de 100 % pour les plants non mycorhizés traités avec des psylles Lso-infectés comparativement à 42 % pour les plants mycorhizés traités avec des psylles Lso-infectés (Tableau 9, Figure 34). À 8 SAI, l'incidence de la maladie pour les plants mycorhizés était de 58%, et ces résultats étaient constants entre les deux expérimentations. Cependant, il n'y avait aucune différence entre l'indice moyen de sévérité de maladie des plants non mycorhizés et celui des plants mycorhizés (Tableau 9, Figure 34). La mycorhization a réduit l'incidence de la maladie, mais une fois que les plants mycorhizés présentaient des symptômes associés à une infection à Lso, ces symptômes ont atteint le même degré de sévérité. Précisément, 4 des 14 plants mycorhizés qui n'avaient aucun symptôme à 6 SAI ont développé des symptômes avancés à 8 SAI. En outre, les symptômes dus à LsoB étaient plus sévères que ceux dus à la LsoA (Tableau 9, Figure 34).

L'effet de l'inoculation mycorhizienne (MIE %) sur le développement de la maladie à Lso a été calculé à 6 SAI. Indépendamment de l'haplotype Lso, MIE a été évalué à -33,33% indiquant que la mycorhization a réduit l'occurrence de la maladie à Lso.

Tableau 9. Incidence et sévérité de la maladie due à *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Quantification de la maladie		Lso et mycorhization	3 SAI	6 SAI	8 SAI
Incidence de la maladie	LsoA	Plants non mycorhizés	0,0 %	100,0 %	100,0 %
		Plants mycorhizés	0,0 %	42,0 %	58,0 %
	LsoB	Plants non mycorhizés	0,0 %	100,0 %	100,0 %
		Plants mycorhizés	0,0 %	42,0 %	58,0 %
Indices ou scores de sévérité de la maladie	LsoA	Plants non mycorhizés	0,0	3,0 ± 0,1 b	3,5 ± 0,1 b
		Plants mycorhizés	0,0	3,0 ± 0,1 b	3,7 ± 0,1 b
	LsoB	Plants non mycorhizés	0,0	3,5 ± 0,1 a	4 ± 0,0 a
		Plants mycorhizés	0,0	3,6 ± 0,0 a	4 ± 0,0 a

SAI : Semaine Après Infestation. L'incidence a été mesurée en tant que nombre de plants qui présentaient des symptômes de maladie sur un total de 24 plants par traitement, c'est-à-dire que le score de sévérité de la maladie est  $\geq 1$ . La sévérité de la maladie a été évaluée uniquement sur les plants présentant des symptômes et est exprimée par la moyenne  $\pm$  erreur standard. L'incidence de la maladie était identique dans les deux expériences. Les données sur la sévérité de la maladie ont été compilées des deux expérimentations. Pour chaque date (SAI), les moyennes marquées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD.

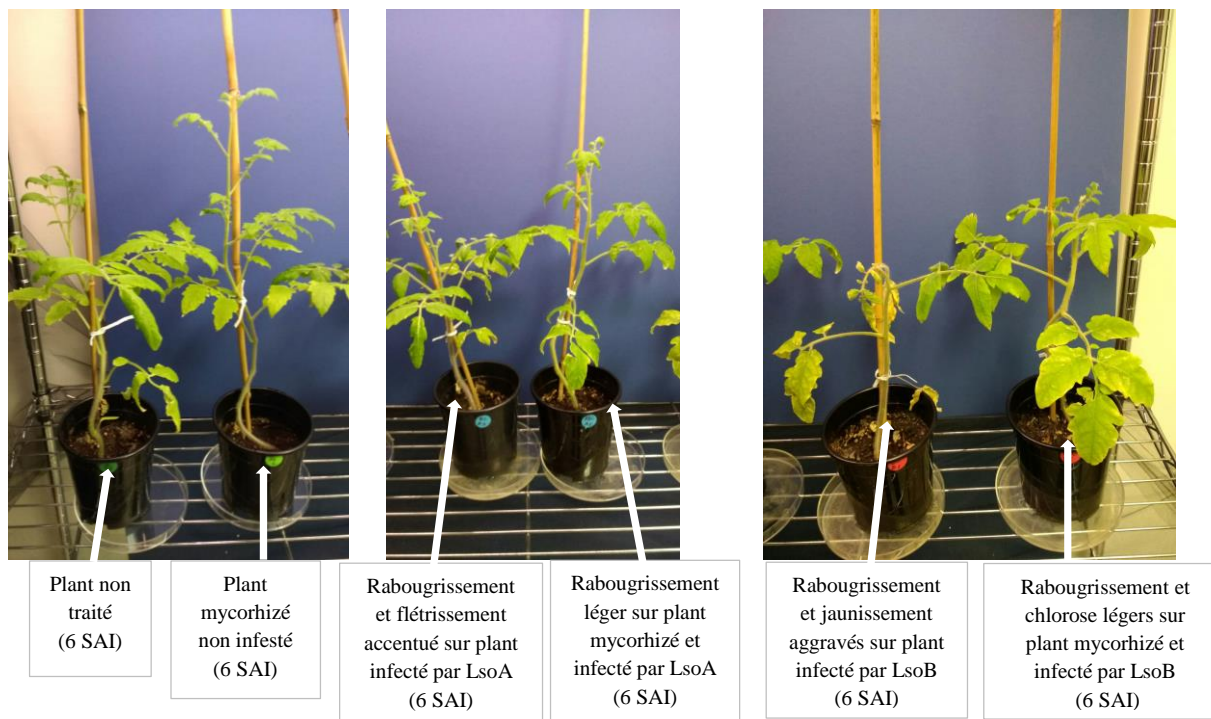
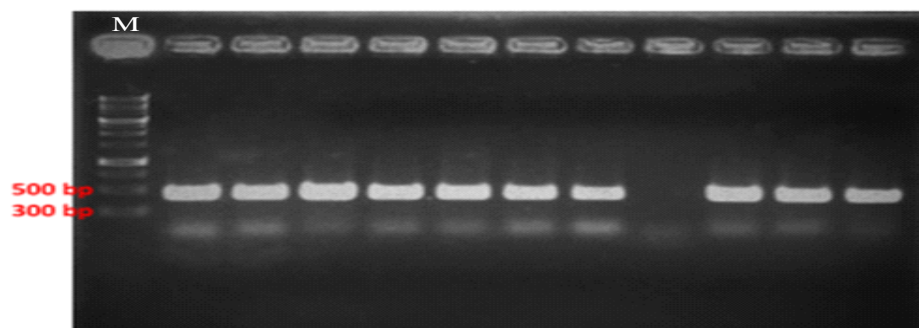


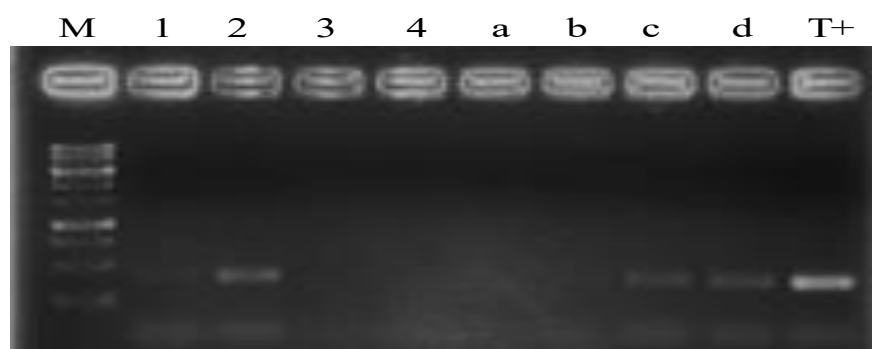
Figure 34. Effets de la mycorhization sur les symptômes de la maladie six semaines après infestation. Les plants mycorhizés ou non mycorhizés ont été infestés par trois couples d'adultes mâles et femelles du psylle *B. cockerelli* hébergeant un haplotype de Lso (LsoA ou LsoB). Les plants témoins sont des plants mycorhizés ou non mycorhizés non qui n'ont pas été infestés par des psylles.

La bactérie Lso était détectable par PCR à 3 WAI, et environ la moitié des plants symptomatiques était Lso-positive. À 6 SAI, 83% des plants symptomatiques ont été testés Lso-positifs par PCR, mais seulement 50 % des plants asymptomatiques infestés de psylle étaient Lso-positifs (Figure 35).

(A) Détection de Lso dans les psylles



(B) Détection de Lso dans les feuilles du tiers supérieur à 3 SAI



(C) Détection de Lso dans les feuilles du tiers supérieur à 6 SAI

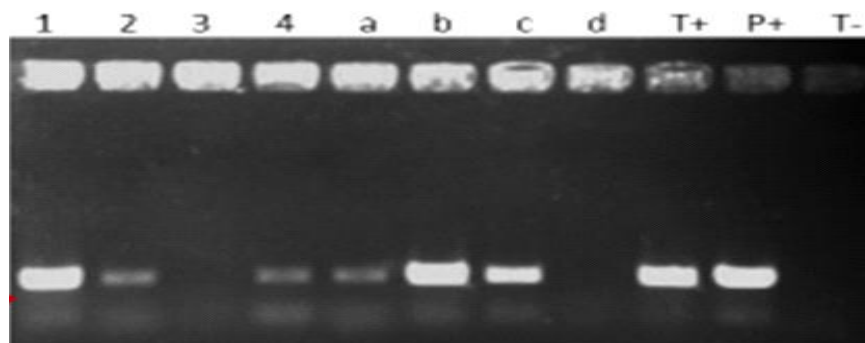


Figure 35. Détection par PCR et translocation de Lso dans les plants de tomate

Les psylles Lso-infectés ont été déposés sur les feuilles du tiers médian du feuillage. SAI : Semaine Après Infestation. M est un marqueur d'ADN de 1kb (300 - 10 000 bp), les bandes indiquées sont à 300 bp (A) et 500 bp (B et C) respectivement. 1 - 2 : ADN de deux plantes mycorhizées symptomatiques, 3 - 4 : ADN de deux plants mycorhizés asymptomatiques. a - d : ADN de quatre plants non mycorhizés. T+ : ADN d'une tomate préalablement authentifiée comme étant Lso-infectée (témoin positif), T- : ADN de tomate préalablement examinée comme étant exempte d'ADN à Lso (témoin négatif). P+ = ADN de psylle infecté par Lso (témoin positif).

L'analyse statistique a indiqué un effet significatif d'interaction entre le traitement Lso et le traitement de mycorhization ( $p < 0,05$ ), mais seulement pour la production de biomasse sèche des tiges. Ces résultats indiquent que la mycorhization améliore la production de biomasse caulinaire des plants non infectés, mais pas des plants infectés par Lso, qui sont significativement de plus faible masse que les plants non infectés (Figure 36A).

Pour toutes les autres variables, le traitement de mycorhization a eu un effet principal significatif ( $p < 0,05$ ), qui a entraîné une augmentation de la biomasse racinaire, de la hauteur des plantes et du nombre de feuilles chez les plantes mycorhizées (NM vs. Ri dans les figures 36B-D).

Un effet principal significatif ( $p < 0,05$ ) a également été observé pour le traitement au Lso pour ces trois variables, à savoir la biomasse racinaire, la hauteur des plants et le nombre de feuilles. Les comparaisons multiples ont indiqué que les plants infectés par le LsoB avaient une croissance racinaire moindre, étaient plus courts et produisaient / conservaient moins de feuilles que les plants non infectés, et étaient plus courts et produisaient moins de feuilles que les plants infectés par le LsoA.

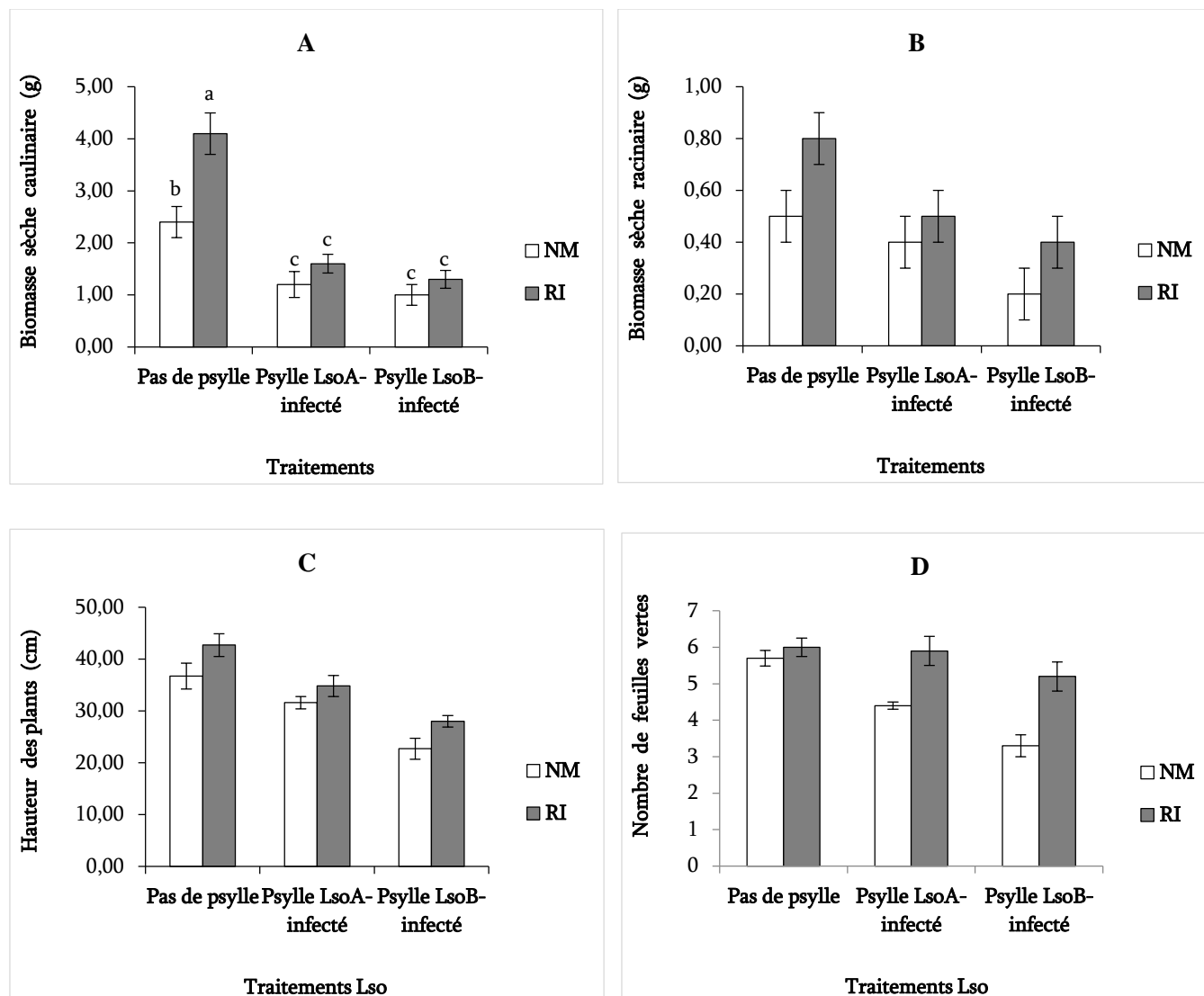


Figure 36. Influence de la mycorhization et de l'infection à Lso sur des plants de tomate

NM représente les plants non mycorhizés et Ri, les plants mycorhizés. Les données sur la biomasse sèche caulinare (A), la biomasse sèche racinaire (B), la hauteur des plants (C) et le nombre de feuilles (D) ont été compilées des deux expérimentations. Pour le paramètre de croissance "biomasse sèche caulinare", un effet significatif d'interaction traitement Lso × traitement de mycorhization a été observé, et les barres portant des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon les comparaisons multiples réalisées à partir du test t de Student. Pour tous les autres paramètres, il n'y a eu que des effets principaux significatifs du traitement de mycorhization et du traitement Lso ( $p < 0,05$ ). Des comparaisons multiples ( $p < 0,05$ ) ont été utilisées pour tester les différences entre les traitements Lso. Les résultats sont les suivants : RI > NM, Biomasse sèche racinaire : sans psylle  $\geq$  LsoA  $\geq$  LsoB, hauteur de la plante : sans psylle = LsoA > LsoB, nombre de feuilles : sans psylle > LsoA > LsoB.

### 13.3. Effets de la mycorhization et de l'haplotype bactérien sur le développement des nymphes

La mycorhization par *Rhizophagus irregularis* a également influencé le succès de l'oviposition des psylles, mais l'effet de la mycorhization différait selon l'haplotype Lso que portaient les psylles. En l'absence de mycorhization, les psylles vecteurs de LsoA ont pondus significativement beaucoup plus d'œufs que les psylles vecteurs de LsoB. Cependant, la mycorhization a réduit de façon significative le nombre d'œufs pondus par les psylles hébergeant LsoA, mais n'a eu aucun effet sur le nombre d'œufs pondus par les psylles hébergeant LsoB (Tableau 10). Tous les œufs ont éclos neuf jours après infestation (JAI) quel que soit les traitements. Prévisible sur la base du nombre d'œufs, il y avait plus de nymphes issues de parents *B. cockerelli* infectés par LsoA sur les plants non mycorhizés que sur les plants mycorhizés. Cependant, une diminution significative du nombre de nymphes vivantes infectées par LsoA de 9 JAI à 11 JAI a été observée sur les plants mycorhizés, mais aucune diminution de ce type n'a été observée sur les plants non mycorhizés. Le nombre d'œufs éclos de parents LsoB-infectés a donné des populations de nymphes statistiquement similaires à 9 et 11 JAI, indépendamment du traitement de mycorhization. Les adultes nouvellement apparus ont d'abord été observés à 9 JAI, et presque tous ont émergé à 13 JAI. La taille de l'échantillon (47 adultes pour les 4 traitements compilées des deux expériences) était trop petite pour permettre des comparaisons significatives.

Tableau 10. Effet de la mycorhization sur le cycle de vie des psylles

Traitements		Œufs	Nymphes à 9 JAI	Nymphes à 11 JAI
LsoA	Plants non mycorhizés	50,6 ± 3,4 a	37,7 ± 4,3 a	30,5 ± 3,6 a
	Plants mycorhizés	25,1 ± 1,9 b	15,0 ± 2,0 b*	8,2 ± 1,4 b*
LsoB	Plants non mycorhizés	19,3 ± 4,2 c	6,3 ± 0,9 c	4,9 ± 0,8 b
	Plants mycorhizés	14,9 ± 2,0 c	7,3 ± 1,2 c	6,2 ± 1,1 b

Influence de la mycorhization et de l'haplotype Lso sur la ponte d'œufs et la survie des nymphes. Les données sont compilées des deux expériences. Nombre d'œufs et nombre de nymphes 9 et 11 jours après infestation (JAI) par feuille. Pour chaque colonne, les moyennes ± erreur standards marquées de lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) selon le test de Tukey HSD. Les astérisques indiquent un changement significatif du nombre de nymphes de 9 à 11 JAI tel que déterminé par la MANOVA.

Les résultats indiquent que la mycorhization a réduit de façon significative la ponte des psylles vecteurs de LsoA et la survie des nymphes de ces œufs. Cependant, la mycorhization n'a eu aucun effet sur l'oviposition par les psylles vecteurs de LsoB ou la survie des nymphes issues de parents vecteurs de LsoB.



## CHAPITRE 14 : MITIGATION DES EFFETS DU STRESS HYDRIQUE DE L'HÉVÉA PAR LA MYCORHIZATION ARBUSCULAIRE

### 14.1. Invalidation de l'hypothèse de l'effet anti-mycorhizien des exsudats racinaires de l'hévéa

Les figures 37 - 38 montrent la présence de structures mycorhiziennes dans des racines d'hévéa et de pieds de tomate ayant poussé dans un même pot contenant un sol préalablement inoculé avec des spores du champignon mycorhizien *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198.

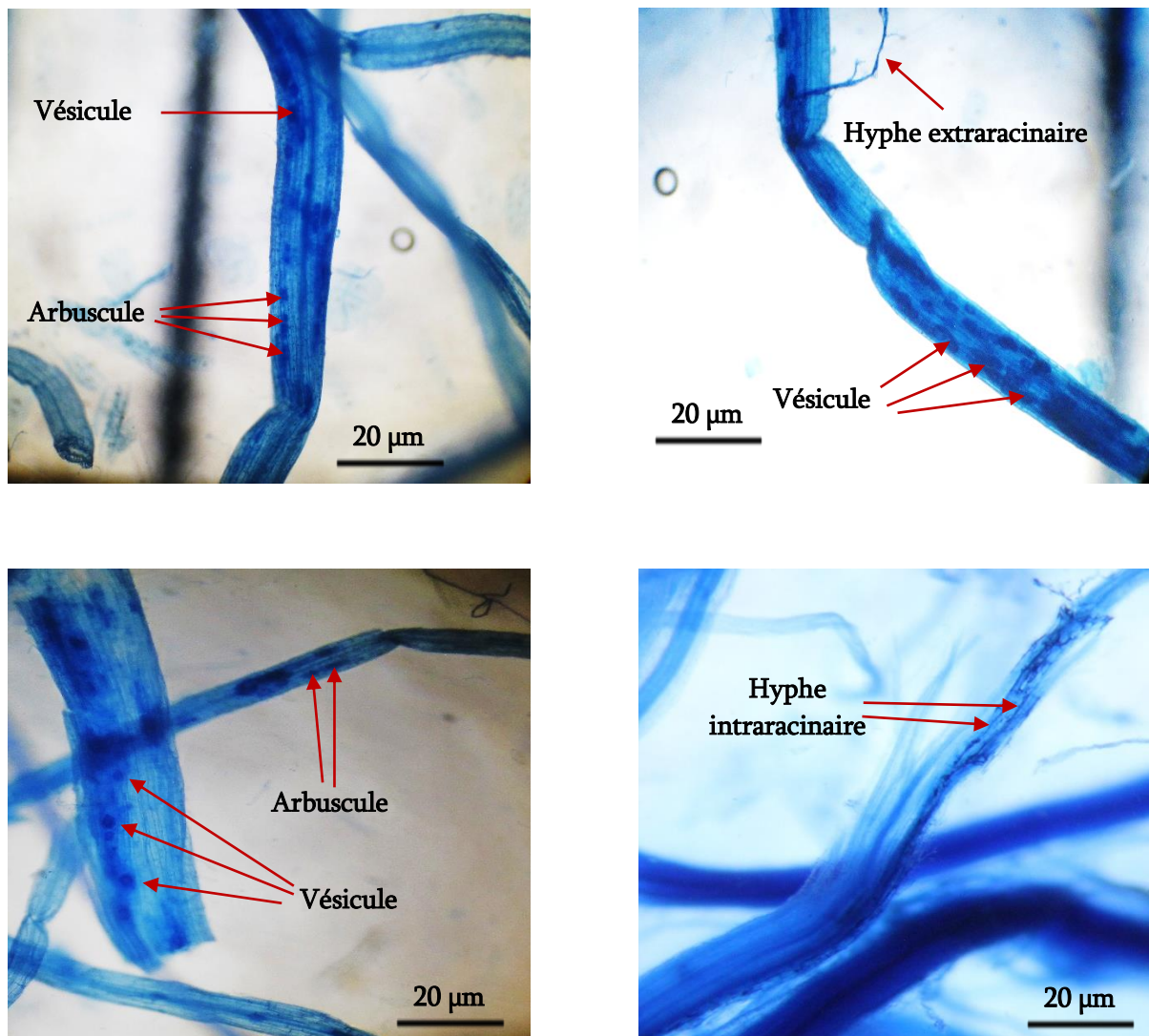


Figure 37. Racines mycorhizées de tomates issues de substrat contenant aussi des pieds d'hévéa  
Grossissement  $\times 400$

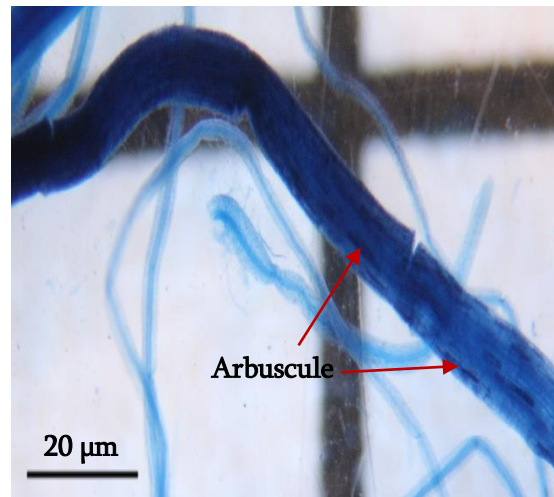
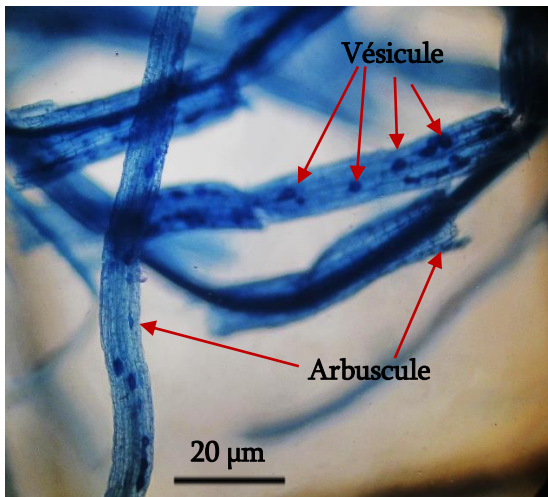
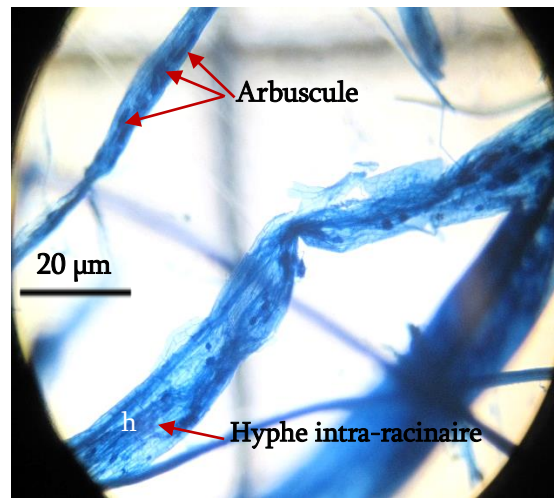
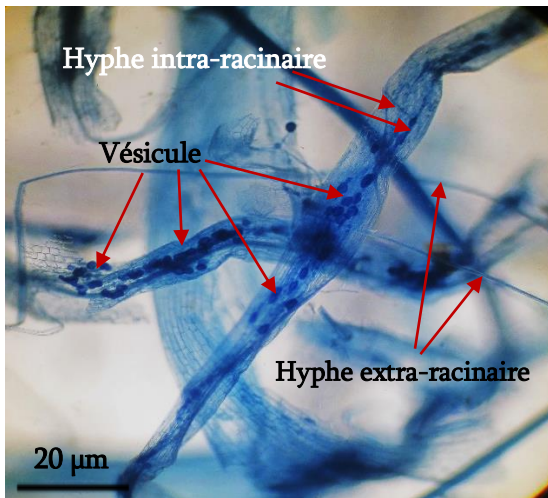


Figure 38. Racines mycorhizées de pieds d'hévéa issues de substrat contenant aussi de la tomate  
Grossissement  $\times 400$

Le porte-greffe du clone d'hévéa IRCA 331 a obtenu la même intensité de mycorhization ( $74,33 \pm 2,67 \%$ ) que la tomate réputée mycotrophe ( $67,36 \pm 4,39 \%$ ) quand les deux espèces ont crû dans des pots individuels (Figure 36). Cependant, lorsque les deux espèces ont crû dans le même pot, l'intensité de mycorhization du porte-greffe ( $75,74 \pm 1,60 \%$ ) était significativement supérieure à celle de la tomate ( $63,33 \pm 3,32 \%$ ) (Figure 36). Les figures 37 - 39 indiquent que les exsudats racinaires diffusibles du porte-greffe du clone IRCA 331 n'ont pas entravé sa mycorhization par *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et celle de plant de tomate dans son voisinage immédiat ( $\approx 6$  cm de distance entre les pieds dans un pot).

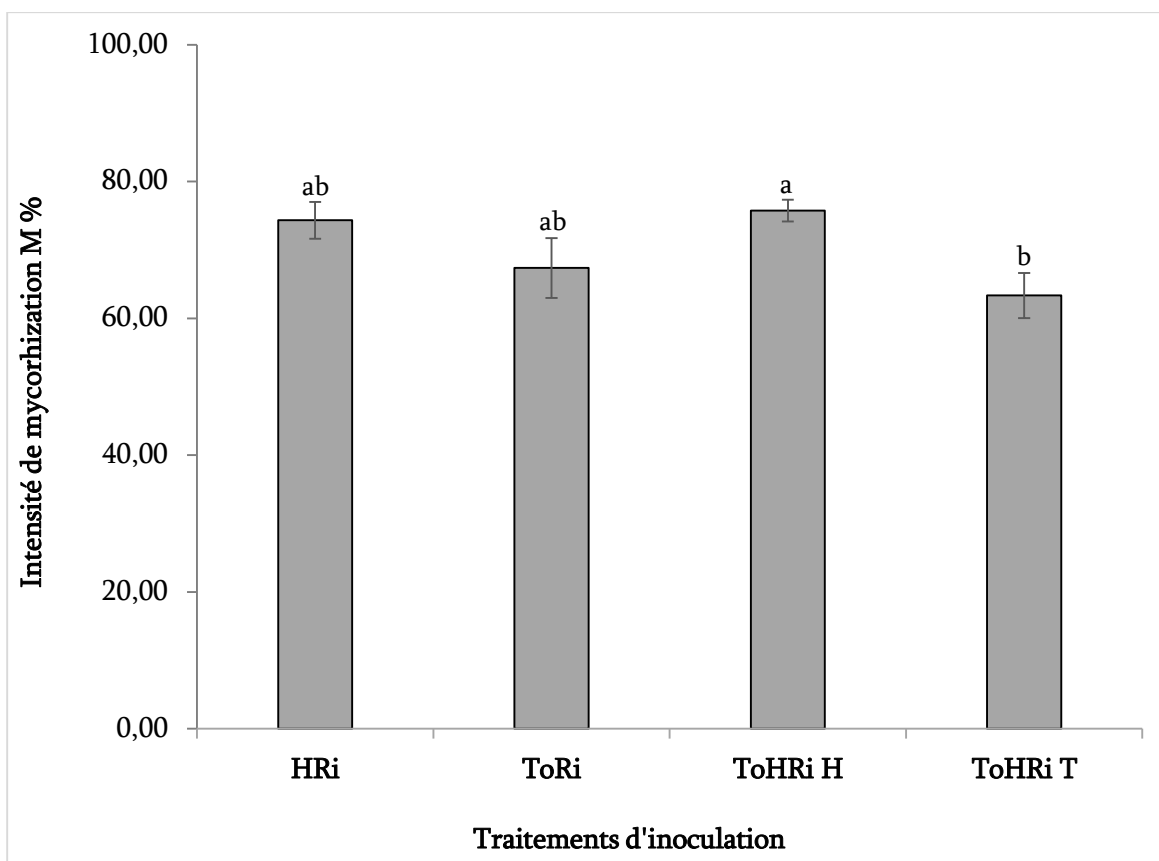


Figure 39. Infectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331

HRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds d'hévéa. ToRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds de tomate. ToHRi : Inoculation de substrat contenant à la fois des pieds de tomate et d'hévéa. ToHRi H et ToHRi T : Évaluation de l'infectivité du traitement ToHRi respectivement des racines d'hévéa et de tomate. Les barres représentent les moyennes de 10 répétitions  $\pm$  erreur standard. Les barres surmontées de différentes lettres sont significativement différentes ( $p = 0,027$ ) selon le test de Tukey HSD.

Le porte-greffe du clone IRCA 331 a obtenu une meilleure abondance arbusculaire ( $69,27 \pm 1,64$  %) que la tomate réputée mycotrophe ( $52,67 \pm 4,17$  %) (Figure 40). Les figures 34, 35, et 37 montrent par l'abondance arbusculaire de *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 dans les racines que la mycorhization est fonctionnelle et peut procurer des bénéfices au clone IRCA 331.

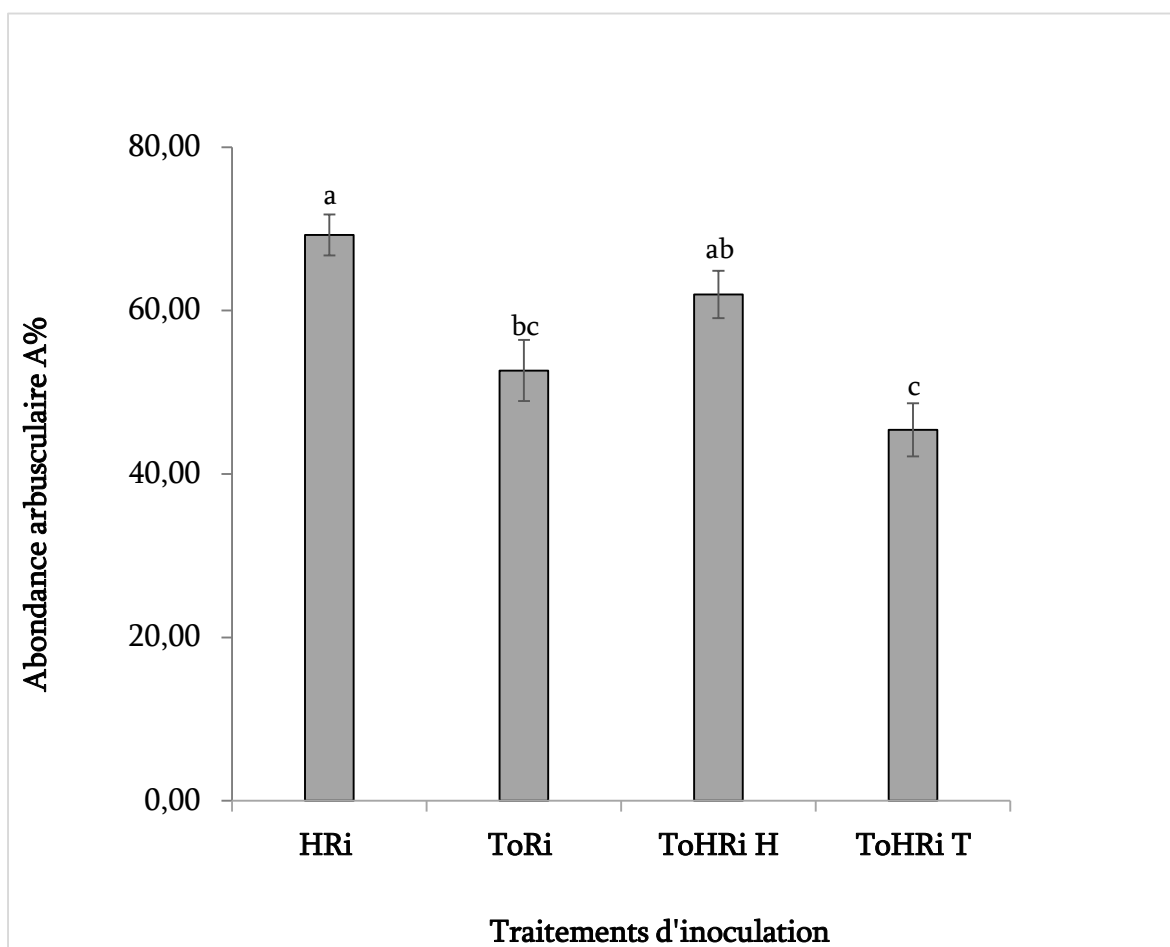


Figure 40. Effectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331

HRI : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds d'hévéa. ToRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds de tomate. ToHRi : Inoculation de substrat contenant à la fois des pieds de tomate et d'hévéa. ToHRi H et ToHRi T : Évaluation infectivité du traitement ToHRi respectivement des racines d'hévéa et de tomate. Les barres sont les moyennes de 10 répétitions  $\pm$  erreur standard. Les barres surmontées de différentes lettres sont significativement différentes ( $p = 0,0024$ ) selon le test de Tukey HSD.

## 14.2. Aspect des plants du clone d'hévéa IRCA 331 sous stress hydrique

Le phénotypage montre que les traitements ont différenciellement impacté le développement végétatif. La croissance et l'aspect des plants se sont détériorés avec la sévérité du stress hydrique. Néanmoins, comparativement aux plants non mycorhizés, les plants mycorhizés se sont mieux et plus vite développés et présentaient un meilleur aspect végétatif (Figures 41 - 43).

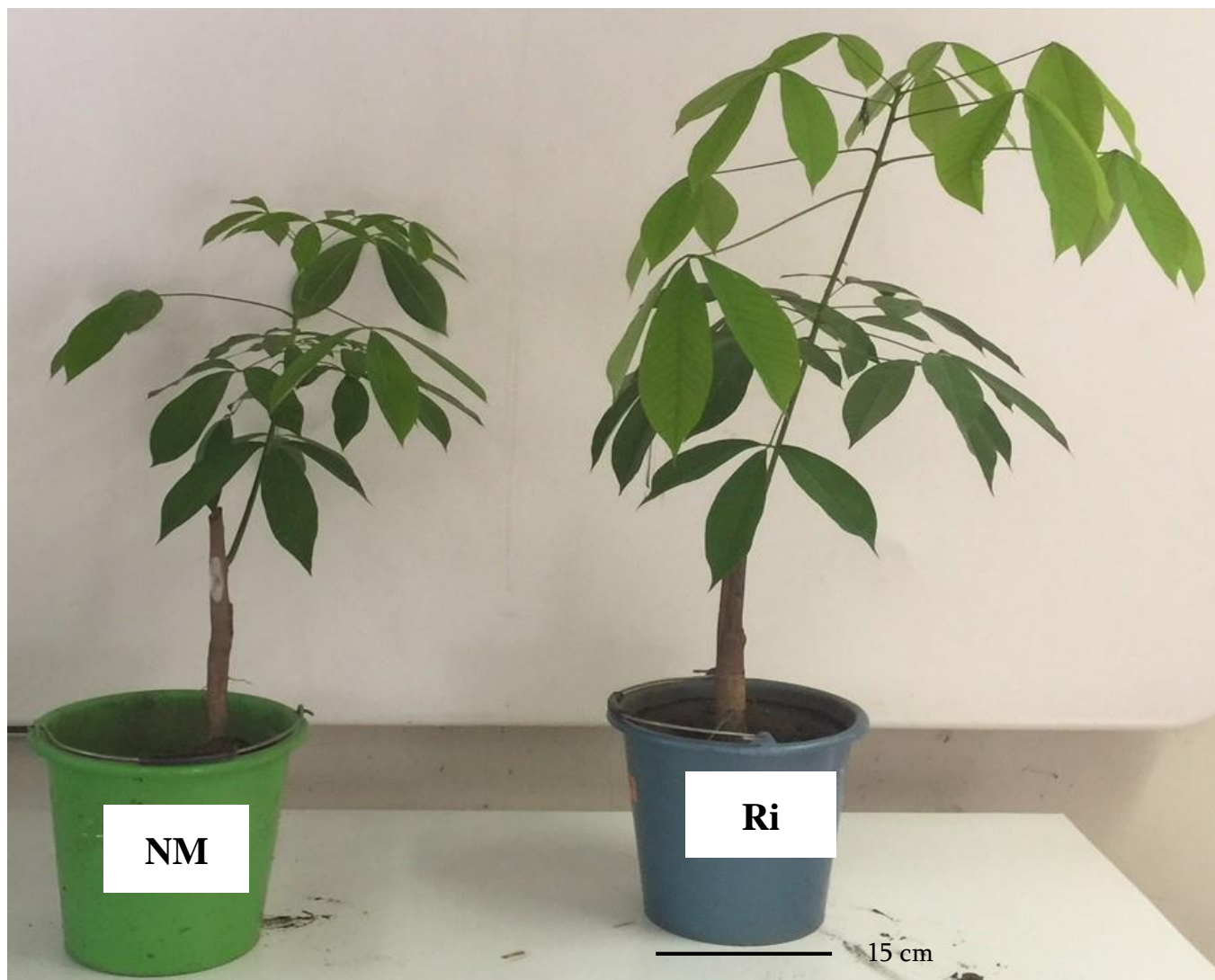


Figure 41. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 cultivés sans stress hydrique  
 Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (RI) ont été cultivées dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat pendant 14 jours.



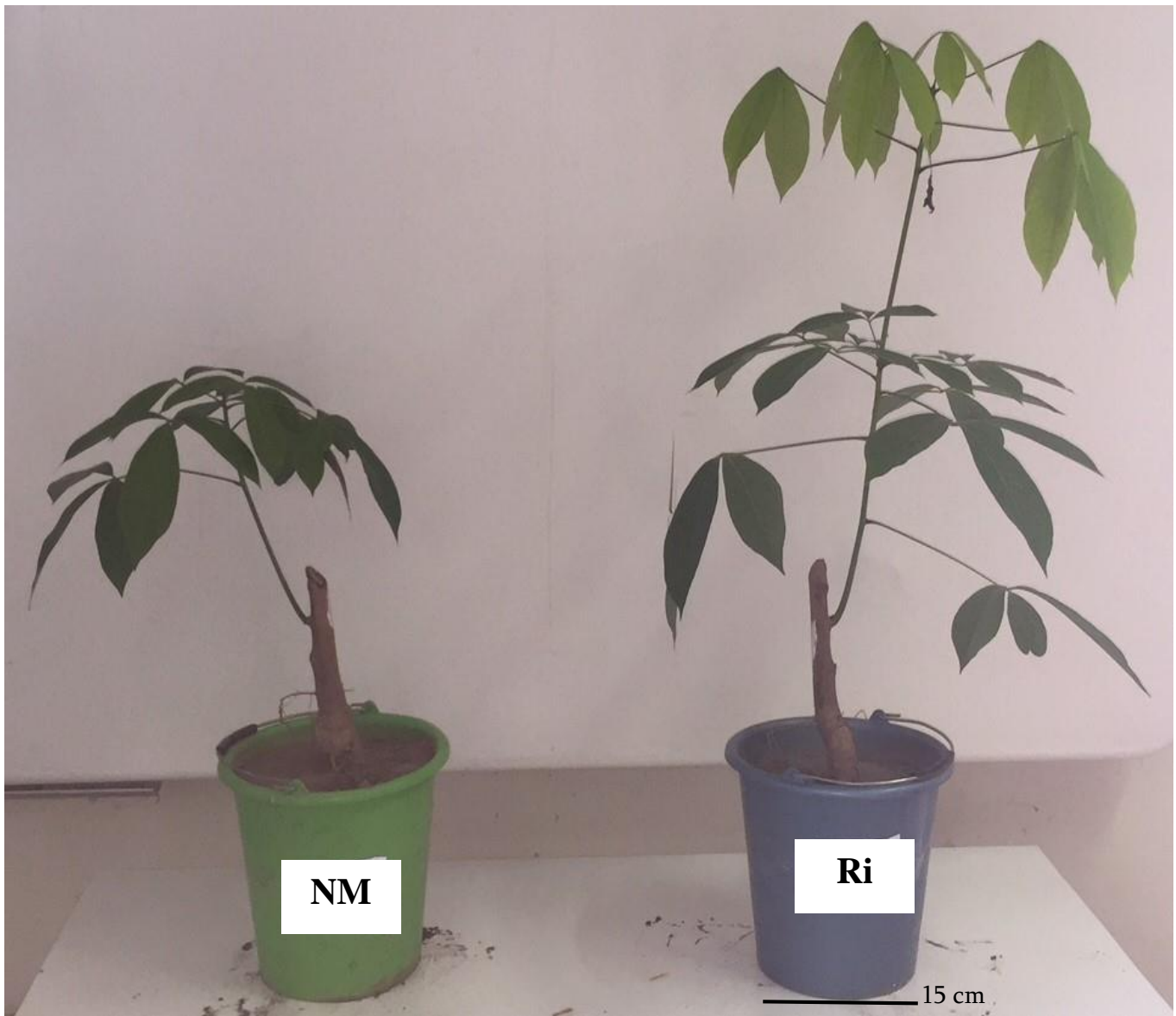


Figure 42. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 soumis à un stress hydrique modéré  
Les plants non mycorrhizés (NM) ou mycorrhizés (Ri) ont été cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat pendant 14 jours.

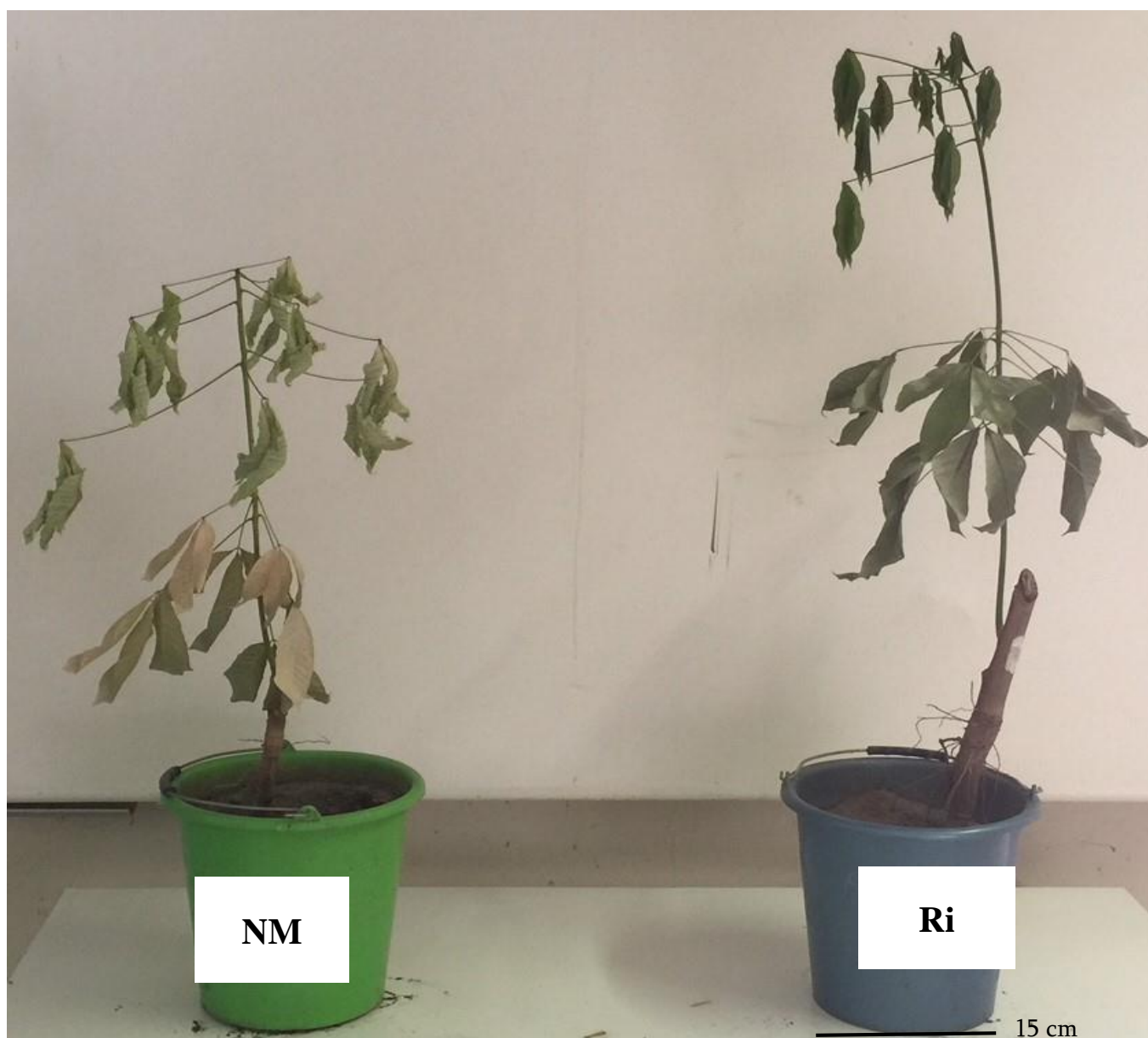


Figure 43. Plants du clone d'hévéa IRCA 331 soumis à un stress hydrique sévère  
Les plants non mycorhizés (NM) ou mycorhizés (Ri) ont été cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat pendant 14 jours.

### 14.3. Humidité du substrat de culture

L'humidité du sol a diminué naturellement et significativement avec le niveau de stress hydrique imposé. Le substrat portant les plantes mycorhizées avait un meilleur taux d'humidité (13,8 - 85,4 %) que celui des plantes non mycorhizées en présence de stress hydrique (8,6 - 81,0 %) (Figure 44).

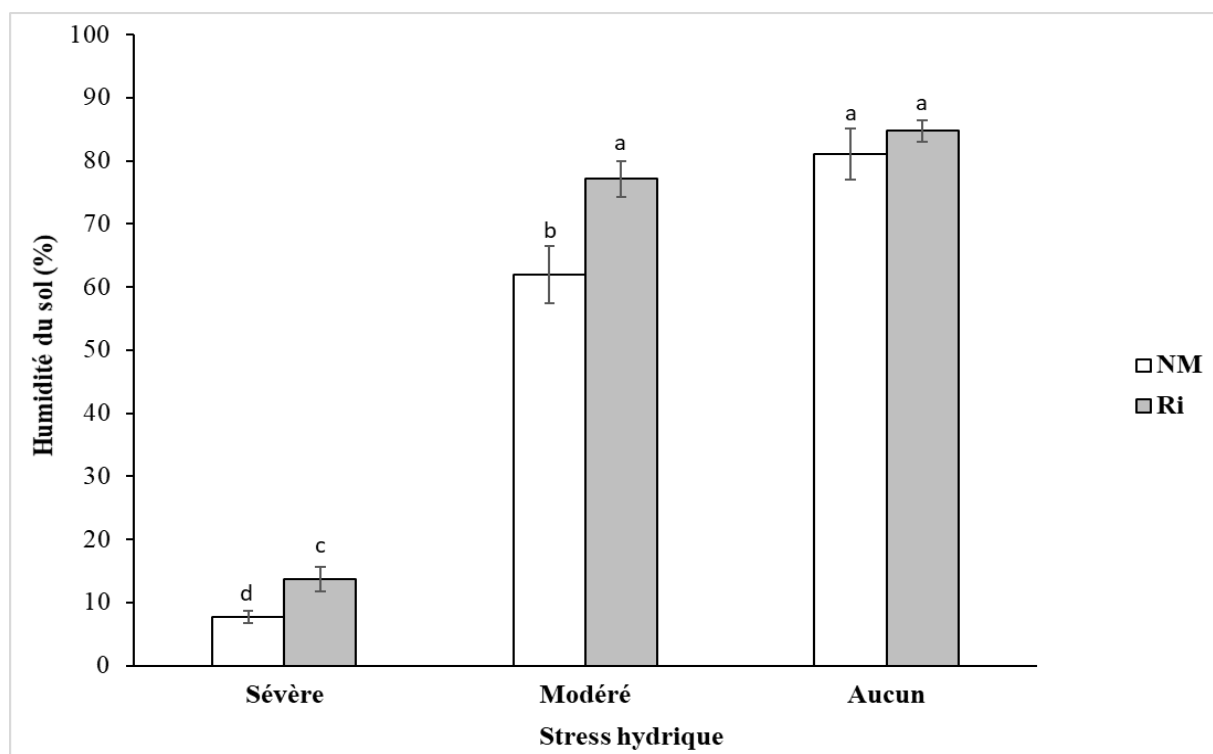


Figure 44. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'humidité du substrat.

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.



#### 14.4. Indice de réflectance photochimique

L'indice de réflectance photochimique des plants du clone IRCA 331 mycorhizés était au moins 1,35 fois plus élevé que celui des plants non mycorhizés quel que soit le niveau de stress hydrique (Figure 45).

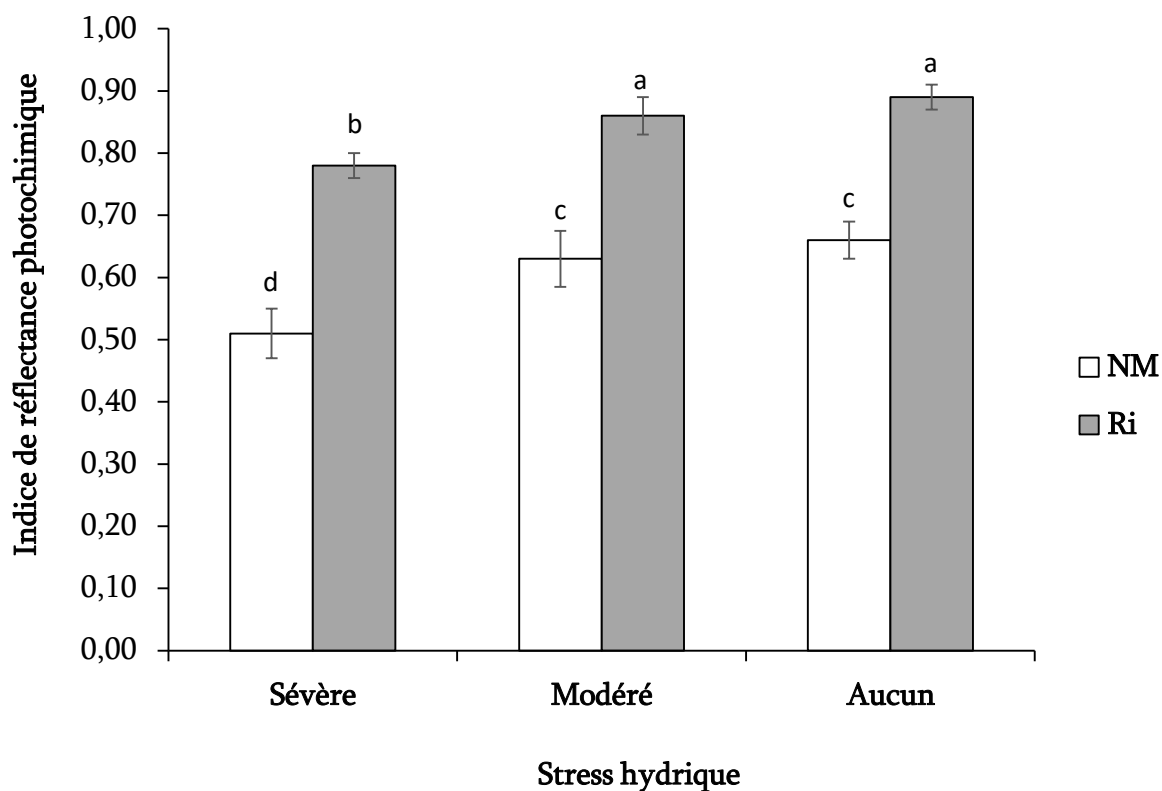


Figure 45. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'indice de réflectance photochimique

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

### 14.5. Température foliaire des plants d'hévéa

Les plants mycorhizés avaient une température foliaire (34,5 - 34,7 °C) significativement inférieure à celle des plants non mycorhizés (36,2 - 36,6 °C) sous stress hydrique sévère et modéré (Figure 48).

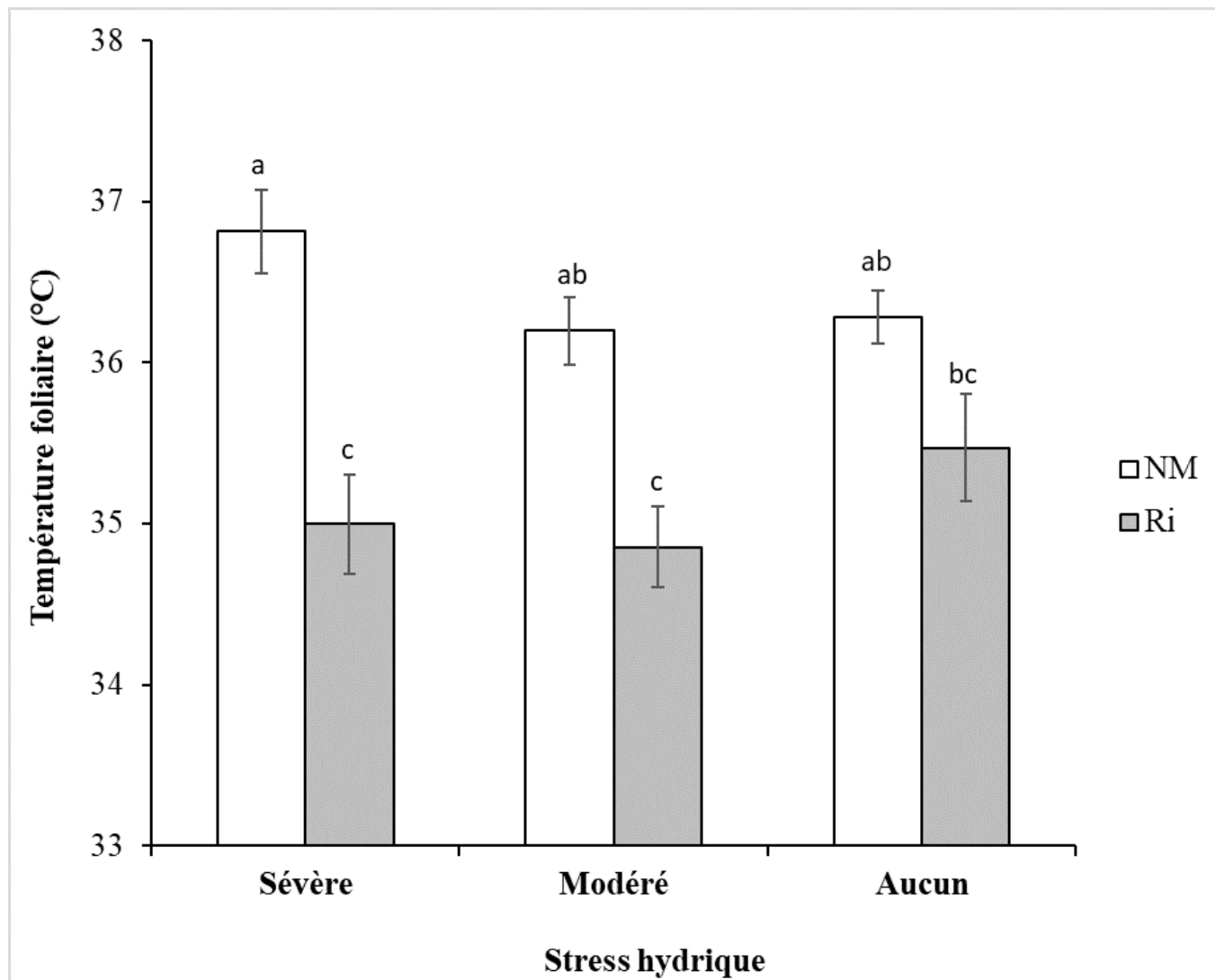


Figure 46. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la température foliaire d'hévéa

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

### 14.6. Évolution de la longueur et du diamètre de la tige issue du greffon

La mycorhization n'a amélioré la croissance en longueur et en épaisseur de la tige issue du greffon qu'en condition de stress hydrique sévère, où le gain a été au moins le double de celui des plants non mycorhizés (Figure 47 et 48). Il n'y a pas de différence significative entre plants mycorhizés et plants non mycorhizés en absence de stress hydrique ou sous stress hydrique modéré (Figure 47 et 48).

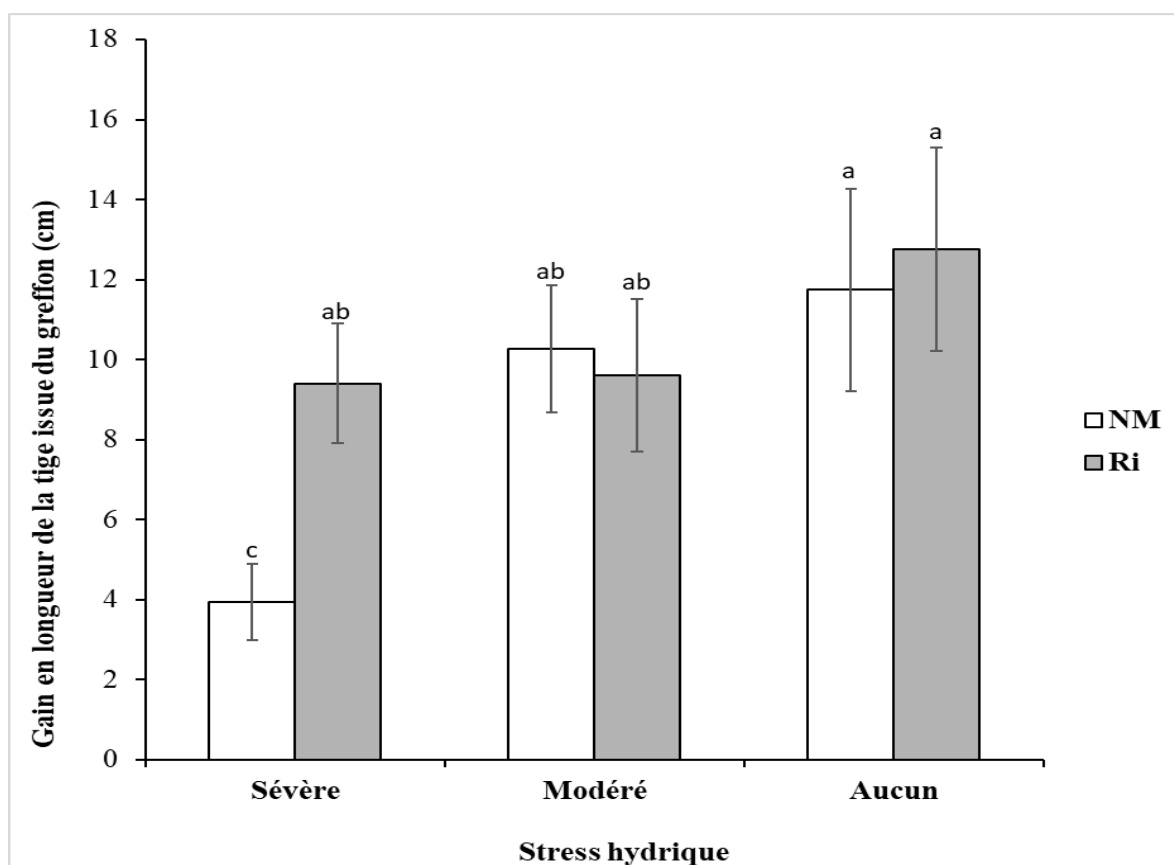


Figure 47. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur l'élongation des plants d'hévéa

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont significativement différentes ( $p = 0,038$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

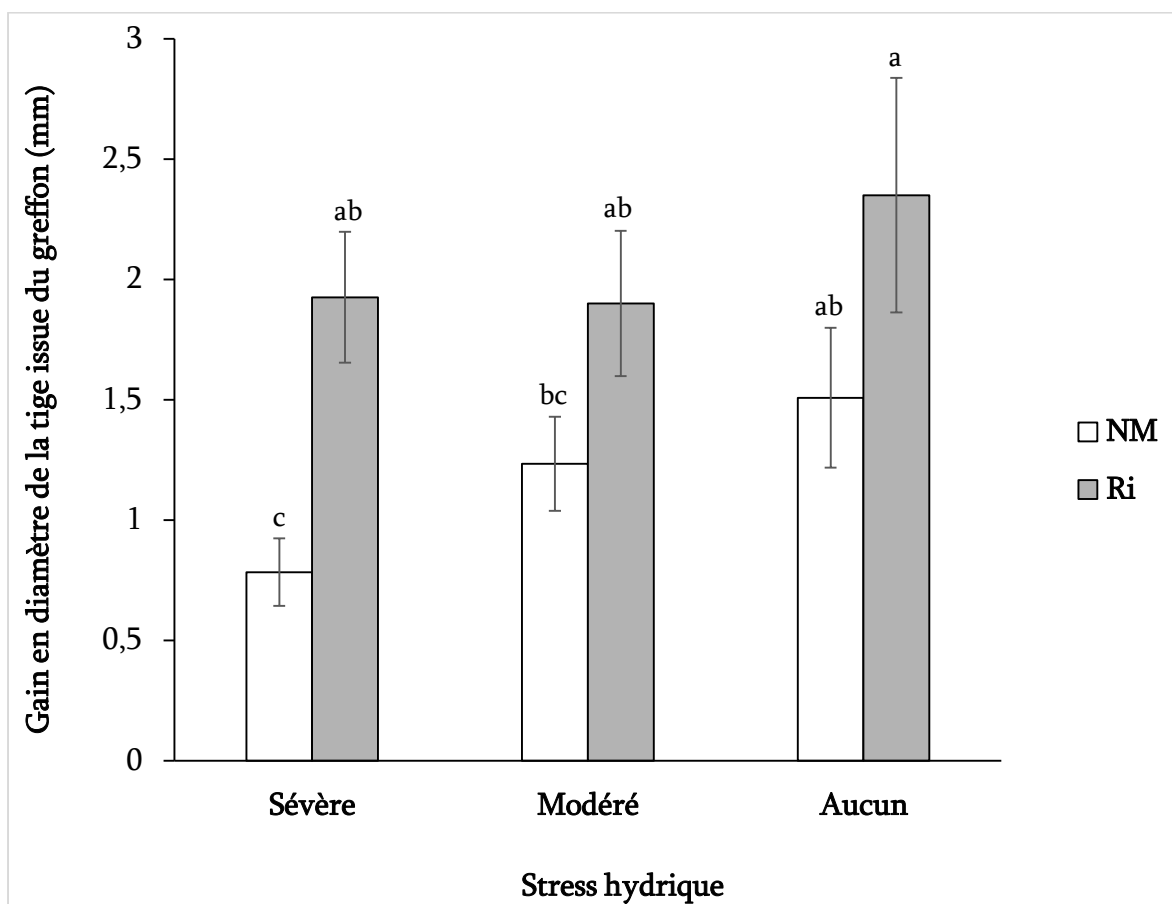


Figure 48. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur le diamètre de la tige issue du greffon. Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

### 14.7. Nombre de feuilles vertes et surfaces foliaires des plants d'hévéa

Le nombre moyen de feuilles vertes (non wiltées) des plants mycorhizés (8,5) a été significativement supérieur à celui des plants témoins (5,1) en condition de stress hydrique sévère (Figure 49). Il n'y a pas eu de différence significative entre plants mycorhizés et plants non mycorhizés cultivés en sous stress hydrique modéré (Figure 49). En absence de stress hydrique, le nombre de feuilles vertes des plants non mycorhizés ( $\approx 22$ ) a été significativement supérieur à celui des plants mycorhizés ( $\approx 18$ ) (Figure 49).

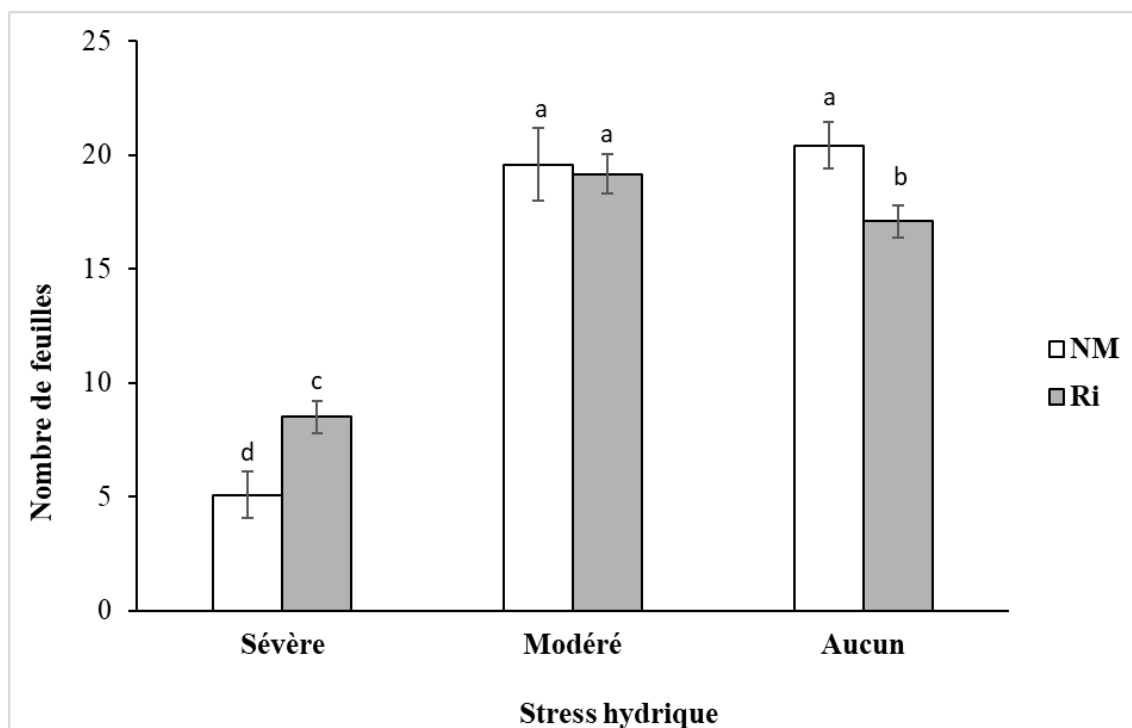


Figure 49. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur le développement foliaire

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

L'examen des surfaces foliaires a montré un effet différentiel des traitements. Les plants mycorhizés ont développé une surface foliaire ( $138,57 \pm 9,53 \text{ cm}^2$ ) significativement plus grande que celle des plants non mycorhizés (contre  $109,43 \pm 10,40 \text{ cm}^2$ ) que sous stress hydrique modéré (Figure 50). Autrement, il n'y a pas eu de différence significative entre plants mycorhizés et plants non mycorhizés cultivés en absence de stress hydrique et sous stress hydrique sévère (Figure 50).

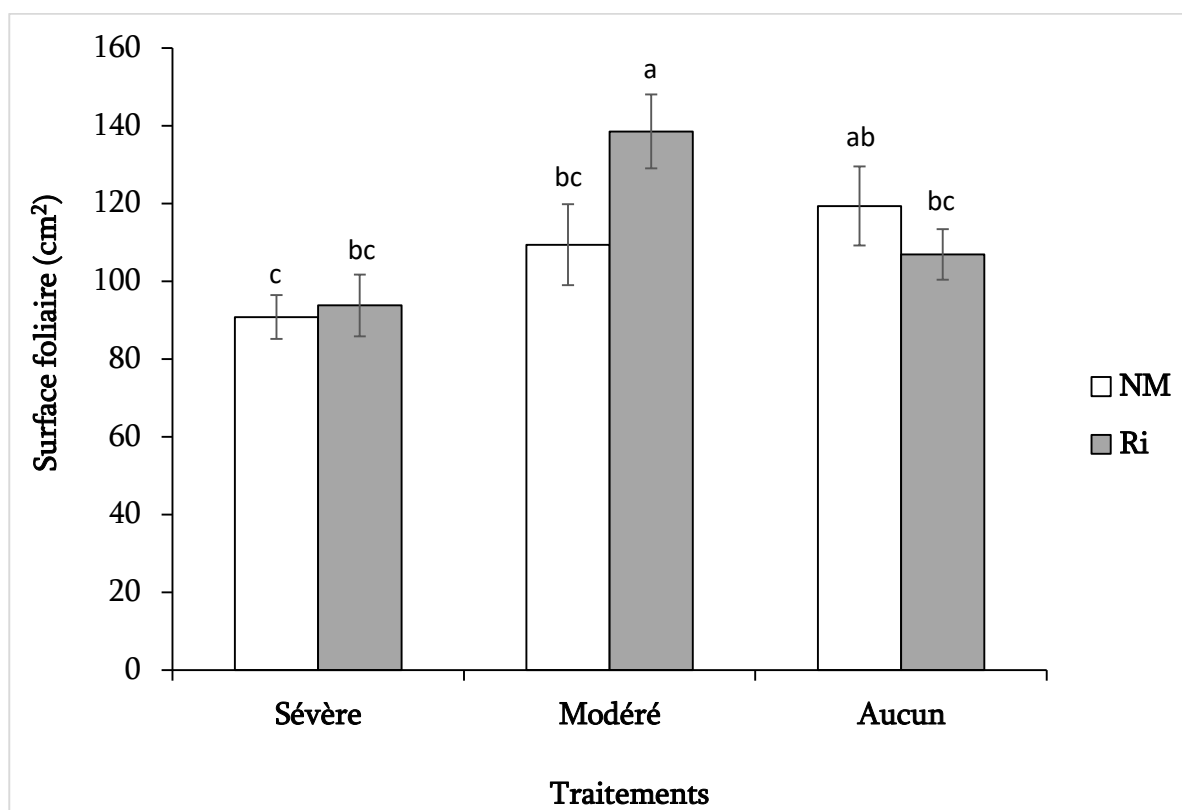


Figure 50. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la surface foliaire de plants d'hévéa. Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

### 14.8. Indice de la teneur en chlorophylle et intégrité membranaire des cellules foliaires d'hévéa

Les teneurs en chlorophylle des plants mycorhizés (35,13 – 48,52 unités SPAD) ont été significativement plus élevées que celles des plants non-mycorhizés (31,33 – 42,18 unités SPAD) quel que soit le niveau de stress hydrique (Figure 51).

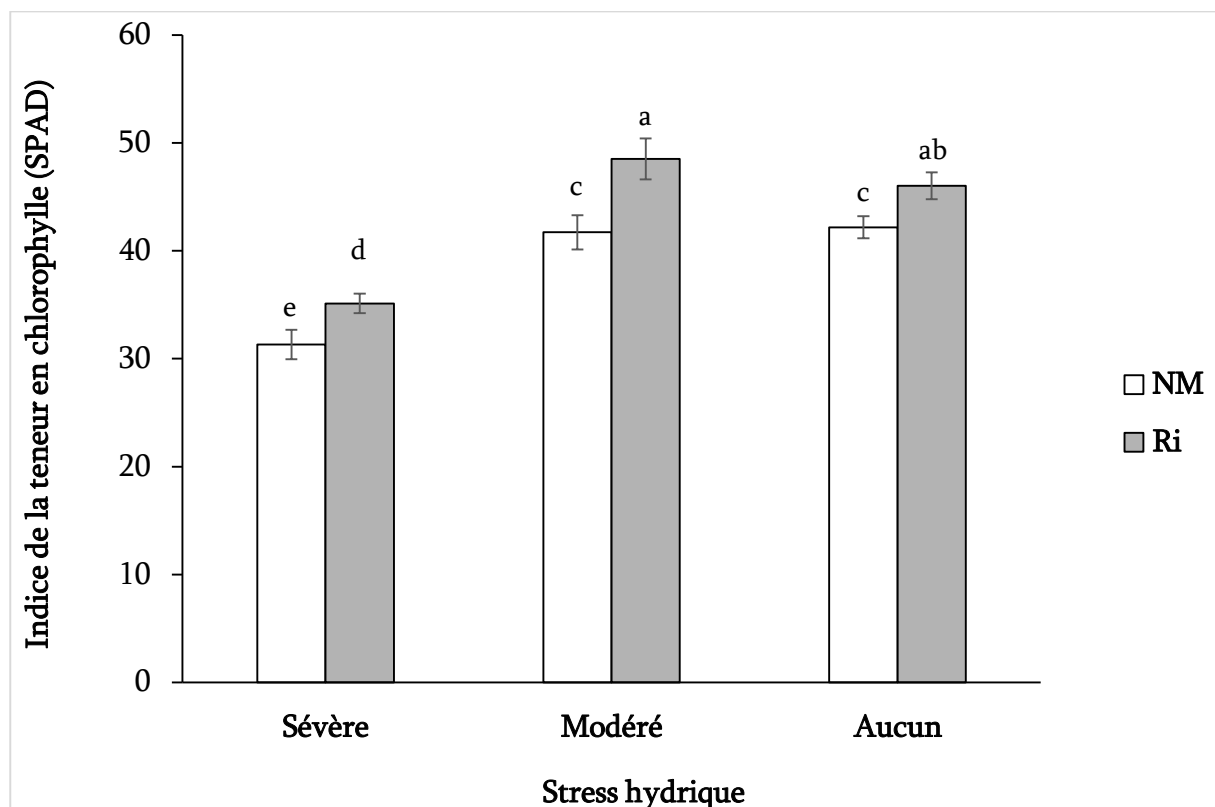


Figure 51. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en chlorophylle de plants d'hévéa. Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

La conductivité chez les plants mycorhizés a été significativement plus basse que celle des plants non mycorhizés quel que soit la sévérité du stress hydrique (Figure 52).

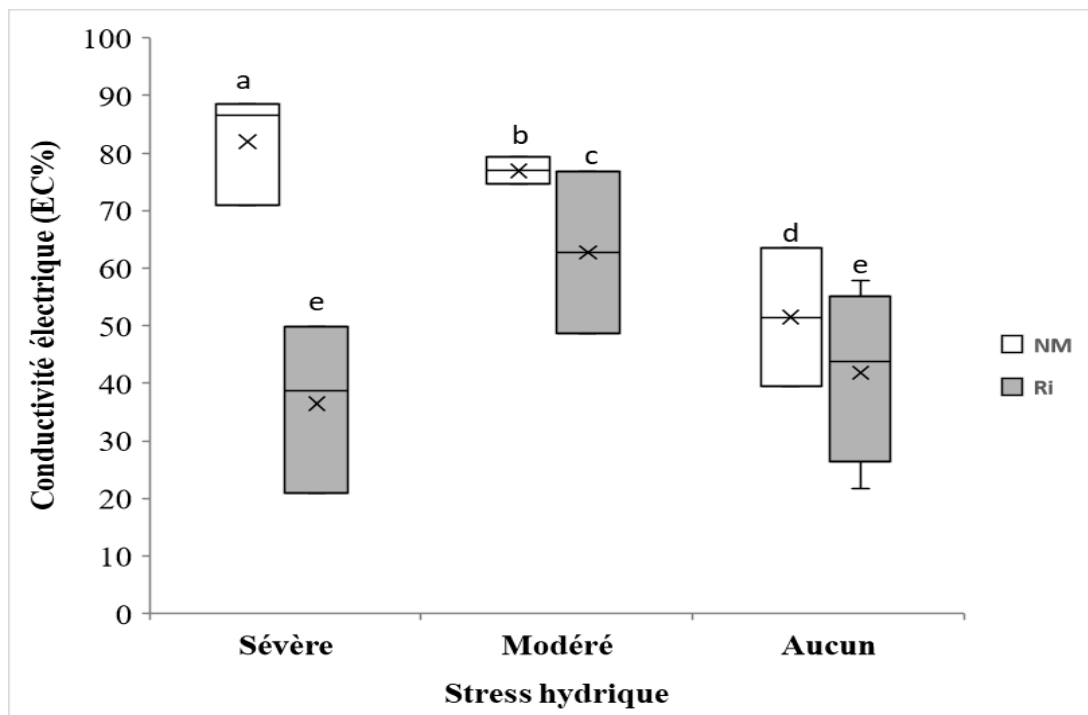


Figure 52. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la fuite d'électrolytes des cellules foliaires. Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.



### 14.9. Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles de plants d'hévéa

Quel que soit le niveau de stress hydrique, la biomasse foliaire sèche était statistiquement identique entre plants non mycorhizés (7,3 - 13,4 g) et plants mycorhizés (4,9 - 12,7 g) (Figure 53).

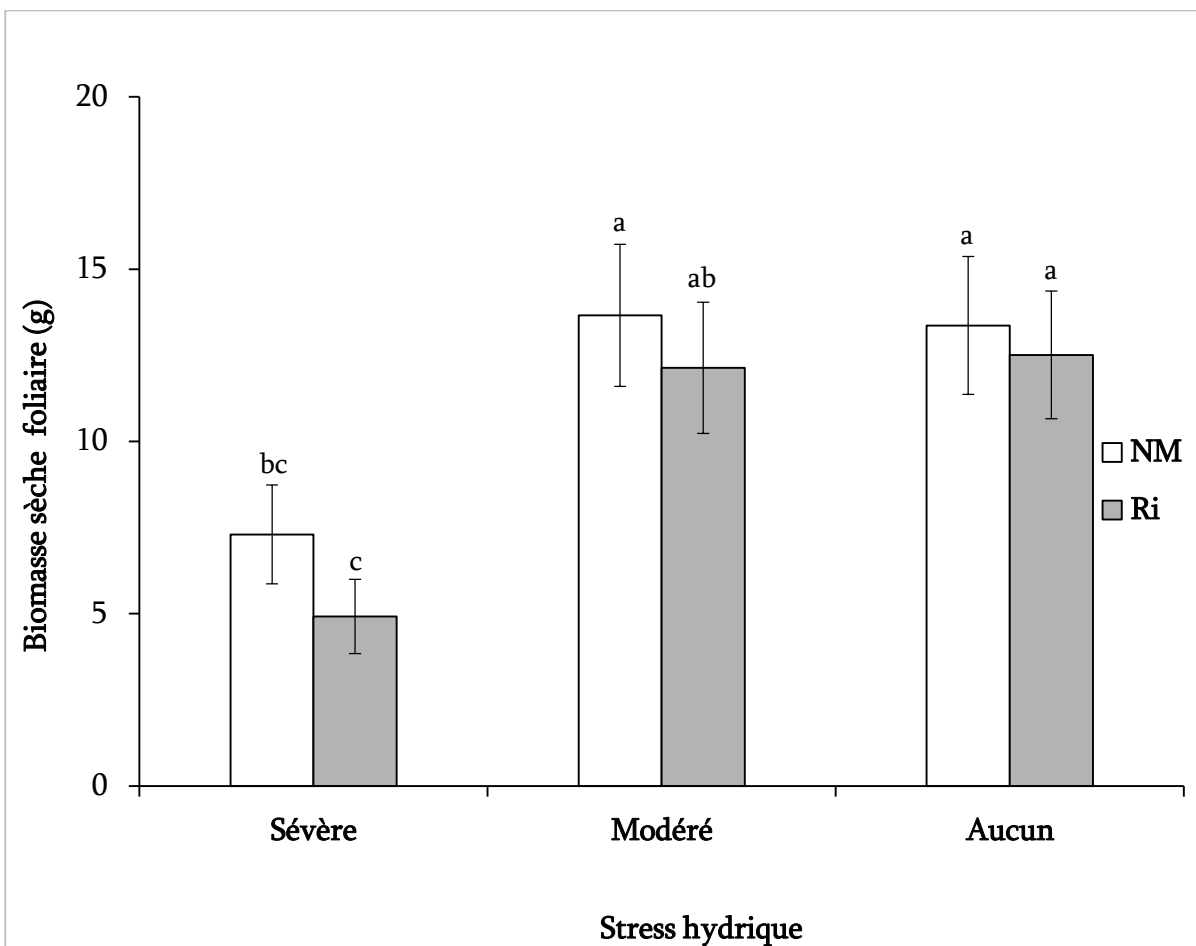


Figure 53. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse sèche des feuilles

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

En conditions de non stress et de stress hydrique sévère, les plants mycorhizés avaient une plus grande teneur relative en eau foliaire ( $72,04 \pm 1,61$  % et  $59,30 \pm 1,49$  % respectivement) que celles des plants non mycorhizés ( $67,71 \pm 0,81$  et  $35,90 \pm 2,98$  % respectivement). Il n'y a pas eu de différence statistique entre plants mycorhizés et plants non mycorhizés soumis au stress hydrique modéré (Figure 54).

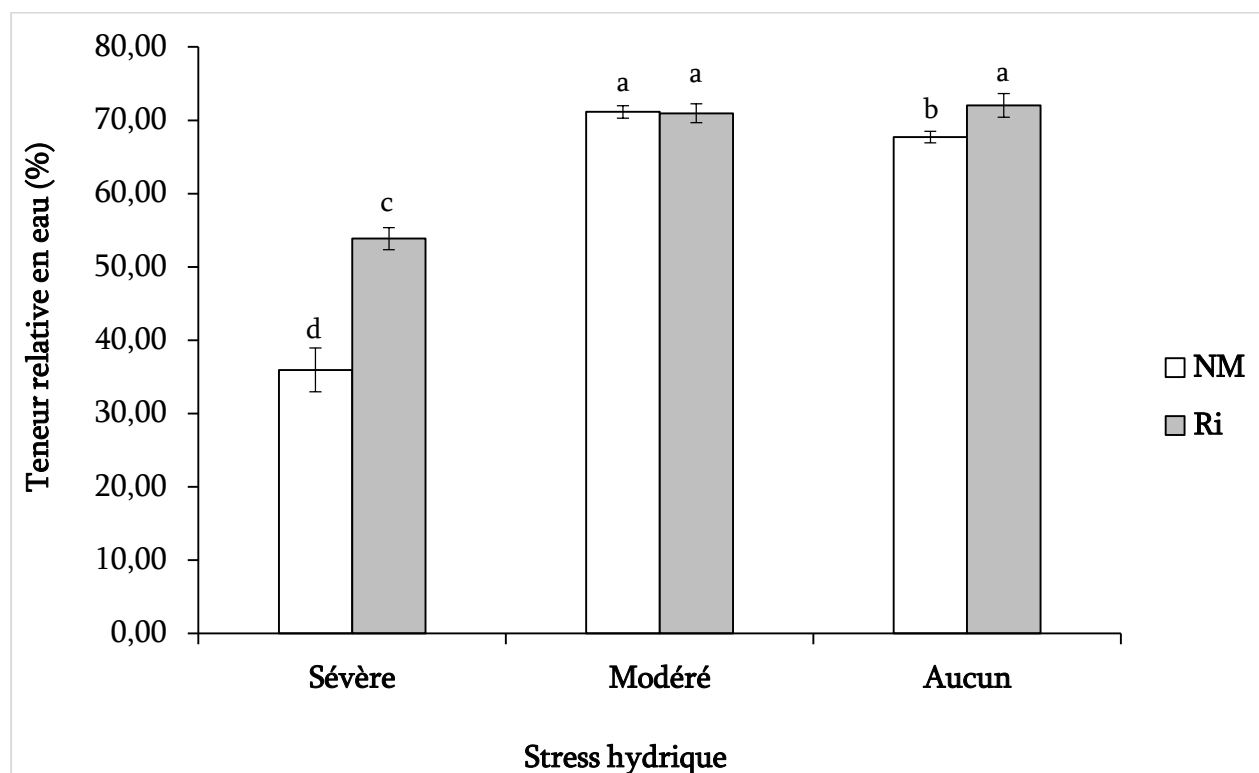


Figure 54. Effets du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en eau des feuilles d'hvéa

Les barres sont les moyennes de 12 répétitions  $\pm$  erreur standard prises en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres surmontées de différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ) selon le test de Tukey HSD. Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat), à un stress hydrique modéré (50 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) ou à aucun stress hydrique (100 % de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat) pendant 14 jours.

### CONCLUSION PARTIELLE

Cette troisième partie de ces travaux de recherche a mis en évidence d'importants résultats dont les principaux sont les effets de l'inactivation du gène *9-ZmLOX12* et de l'inoculation de microsymbiotes sur l'antracnose foliaire du maïs, les effets de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* et de l'inoculation de CMA sur la résistance du maïs au stress hydrique, les effets de la mycorhization de la tomate sur la bactériose due à *Candidatus Liberibacter solanacearum* et son psylle vecteur et l'évaluation de la résistance induite par la mycorhization arbusculaire de l'hvéa au stress hydrique. Les résultats montrent la promotion par des microsymbiotes de la santé de plantes soumises à des stress biotiques et abiotiques. Ces résultats sont discutés dans la partie suivante.

# **QUATRIÈME PARTIE :**

## **DISCUSSION**

- **Effets de l'inactivation du gène *9-ZmLOX12* et des phénazines dans l'interaction Maïs - CMA et PGPP - Agent causal de l'antracnose foliaire (ALB)**

Les résultats de cette étude indiquent que le PGPP *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 et le CMA *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 ont considérablement réduit la virulence de *Colletotrichum graminicola* M1.001 sur la lignée de maïs sensible B73. Il existe de nombreux travaux où une rhizobactérie microsymbiote seul ou en combinaison avec d'autres rhizobactéries a pu inhiber des maladies sur différents hôtes. Par exemple, il a été démontré que des combinaisons de *Pseudomonas* comprenant *P. chlororaphis* 30-84 suppriment la maladie du piétin échaudage causée par le champignon pathogène *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Mazzola *et al.*, 1995 ; Weller *et al.*, 2007). Le maïs préinoculé avec *P. putida* KT2440 et infecté ultérieurement par *C. graminicola* a développé une résistance à la nécrose des feuilles, et la croissance du pathogène fongique a été significativement réduite par rapport aux témoins non-bactérisées (Planchamp *et al.*, 2015). *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 contrôle la pourriture des tiges et des racines des tomates causées par *Fusarium oxysporum* f. s. *radicis-lycopersici* (Chin-A-Woeng *et al.*, 2001 ; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003). Les champignons mycorhiziens arbusculaires *Rhizophagus irregularis* et *Funneliformis mosseae* ont montré un antagonisme envers l'agent de l'antracnose foliaire, *C. gloeosporioides* sur plants de *Cyclamen* sp. La prémycorhization par *R. irregularis* BEG110 a réduit la sévérité de la maladie causée par *C. orbiculare* sur plants de concombre (Jeun *et al.*, 2008). Les plants de concombre préinoculés avec *P. putida* et *Micrococcus luteus* ou *Serratia marcescens* 90-166 et *P. fluorescens* 89B61 étaient résistants à l'antracnose due à *C. orbiculare* (Jeun et Lee, 2005 ; Jeun *et al.*, 2007, 2008).

Les résultats de cette étude révèlent, en outre, que *P. chlororaphis* 30-84 interfère directement avec la croissance mycélienne de *C. graminicola*, principalement par la production de phénazines. Bien que l'importance de cette interaction n'ait pas été testée au champ, cet antagonisme direct a des implications potentielles pour la gestion de ce pathogène puisque *C. graminicola* peut infecter les racines et le collet des plants, comme l'ont démontré les travaux de Badda *et al.* (2015). Les deux agents de lutte biologique réduisent les symptômes de l'antracnose foliaires (ALB) causés par les infections à *C. graminicola* sur B73, mais à un degré différent. La précolonisation de B73 par *P. chlororaphis* 30-84 a entraîné une réduction de la sévérité, de l'incidence et de la biomasse fongique de la maladie, tandis que la précolonisation de *R. irregularis* a entraîné une réduction de la sévérité de la maladie et de la croissance fongique mais a influé faiblement sur l'incidence de la maladie. La suppression de la maladie par *P. chlororaphis* 30-84 semble également dépendre de la production de phénazines.

En outre, le contrôle de la maladie et de la croissance fongique résultant de la coinoculation a reflété l'effet de l'inoculation de *R. irregularis* sur toutes les lignées de maïs. Ces résultats suggèrent que les deux agents bénéfiques n'agissent pas d'une manière additive pour affecter la suppression de la maladie et peuvent supprimer la maladie par des mécanismes différents et potentiellement compétitifs. Cette hypothèse est étayée par les observations d'une sévérité accrue de la maladie sur les plants W438 et mutants *B73lox12-1* précolonisés par *P. chlororaphis* par rapport à ceux précolonisés par *R. irregularis*. Chez W438, *P. chlororaphis* 30-84 semble réguler négativement le(s) mécanisme(s) intrinsèque(s) de suppression de maladies, probablement par la modulation des hormones végétales et/ou des voies de défense spécifiques. Chez le mutant *B73lox12-1*, la perte de suppression de la maladie chez les plants précolonisés par *P. chlororaphis* peut être directement liée à l'inactivation du gène *ZmLOX12*. Parallèlement, Constantino *et al.* (2013) ont rapporté que *Trichoderma virens* GV29-8 entraîne la suppression de *C. graminicola* chez B73 mais pas dans les mutants *9-zmlox3-4*. Ces résultats démontrent que différents agents bénéfiques peuvent induire une résistance à *C. graminicola* par l'action de diverses lipoxygénases dans la voie dépendant de l'acide jasmonique (JA). Chez les plants mycorhizés, la perte de *ZmLOX12* et par conséquent de l'acide jasmonique n'affecte pas la suppression des maladies. Une possibilité est que l'acide salicylique et/ou les voies dépendantes de l'acide abscissique qui contribuent à la résistance systémique acquise soient impliquées (Balmer *et al.*, 2013a). De nombreux auteurs appuient cette hypothèse selon laquelle la résistance induite par la mycorhize ("MIR") partage les caractéristiques de la résistance systémique acquise ("SAR") et de la résistance systémique induite ("ISR") (Morris *et al.*, 1998 ; Cameron *et al.*, 2013 ; Field *et al.*, 2015). Dans le cas de *P. chlororaphis* et de *R. irregularis*, la résistance systémique à la maladie semble avoir été déclenchée par des signaux différents. Cependant les mécanismes particuliers de contournement de la reconnaissance par l'hôte et/ou les réponses de défense des plantes pour coloniser efficacement l'hôte végétal ne sont pas encore connus. La suite de ces travaux consistera donc à analyser par des méthodes transcriptomiques, l'expression des gènes codant pour les lipoxygénases et des gènes de défense régulés par les voies de l'acide salicylique (SA) et de l'acide jasmonique (JA) afin d'y apporter une réponse à cette préoccupation.

Dans la nature, les plantes recrutent et sont colonisées par une diversité de micro-organismes bénéfiques. Par conséquent, la coinoculation par les microbes bénéfiques est susceptible d'être courante. Dans l'ensemble, ces travaux indiquent que l'application concomitante de *P. chlororaphis* et de *R. irregularis* a le potentiel de renforcer la résistance des plantes aux pathogènes hémibiotrophes tels que *C. graminicola*. Toutefois, la réaction de la plante peut être spécifique au cultivar. Par ailleurs, il faut tenir compte de la

possibilité d'interactions négatives entre les organismes bénéfiques, tant en ce qui concerne leurs effets sur les réactions de défense des plantes que sur l'établissement de l'un et de l'autre dans la rhizosphère. L'originalité de cette étude réside dans l'examen de l'interaction indirecte entre les microsymbiotes en utilisant un split-root system. Une influence neutre sur le taux de colonisation racinaire de chaque organisme de l'autre sur toutes les lignées testées a été notée. L'interaction indirecte neutre observée corrobore les conclusions d'études antérieures utilisant des souches de CMA et de PGPR du même genre ou de la même famille selon lesquelles les interactions entre les organismes bénéfiques peuvent être très spécifiques aux partenaires. En effet, Pivato *et al.* (2009) ont révélé que la double inoculation de *P. fluorescens* C7R12 a favorisé la croissance saprophytique de *Glomus mosseae* et sa mycorhization de *Medicago truncatula* et *Lycopersicon esculentum* mais pas celles de *Gigaspora rosea*. Dans ses travaux sur la luzerne en split-root system, Catford *et al.* (2003) ont noté que la nodulation par *Sinorhizobium meliloti* a eu une influence systémique négative sur la mycorhization par *Glomus mosseae* et vice versa. La même autorégulation négative a été observée lorsque des facteurs Nod (lipochitooligosaccharides) purifiés de *S. meliloti* ont été appliqués avant la formation de nodules et de la mycorhization (Catford *et al.*, 2003). L'analyse de l'allocation de carbone C14 exclut la concurrence pour les glucides en tant que mécanisme de régulation, indiquant que d'autres mécanismes de régulation systémiques sont responsables de l'interaction négative apparemment par la voie de signalisation commune des deux symbioses (Catford *et al.*, 2003). Dans ce travail, les microsymbiotes ont aussi été introduits ensemble sur un système racinaire indivisé. Il n'est, certes, pas aisé dans ce cadre d'y voir un résultat d'interaction directes ou indirectes (*via planta*). Cependant, la coinoculation a eu des effets différentiels sur le taux de colonisation de l'un ou l'autre des microsymbiotes en fonction du génotype de la plante hôte et de celui des microsymbiotes.

Outre ces résultats concernant les effets de la mutation du gène *9-ZmLOX12* sur la résistance systémique induite vis-à-vis de l'ALB, ceux des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* sur la résistance au stress hydrique induite par mycorhization du maïs ont été étudiés.

- **Effets de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* sur la résistance au stress hydrique induite par la mycorhization du maïs**

Le stress hydrique est une contrainte récurrente pour l'agriculture et il existe une forte demande de moyens financiers et techniques pour réduire son impact sur les cultures. Il est bien connu que les champignons mycorhiziens arbusculaires renforcent la résilience des plantes face aux stress environnementaux tel que le déficit en eau (Pioufle et Declerck, 2018). Cela signifie que l'utilisation de champignon mycorhizien arbusculaire (CMA) représente une approche innovante pour résoudre le problème du déclin de la

production agricole dans des conditions de sécheresse. Bien que les effets bénéfiques de CMA sur les plantes soumises à un stress hydrique aient été signalés (Hamza, 2014 ; Recchia *et al.*, 2018), notre étude est le premier rapport sur le rôle des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* et la nature de leurs interactions avec la mycorhization dans la résistance du maïs au stress hydrique.

Les contraintes hydriques adoptées imposent significativement différents niveaux de stress aux plantes comme en témoignent les différentes variables morphométriques et physiologiques de réponse mesurées. Par exemple, les niveaux de stress hydrique réduisent différemment la biomasse sèche des feuilles par rapport à la biomasse sèche obtenue sous le régime hydrique conféré par la capacité de rétention d'eau du substrat fixée à 100 %.

La lignée B73 non mycorhizée sous stress hydrique modérée a une température foliaire sensiblement identique à celle qu'elle a quand elle n'est pas sous stress hydrique. Ceci suggère que cette lignée a le potentiel d'être résistante au stress thermique. Cependant, ce potentiel est inefficace lorsque le stress devient sévère. Le fait que, quel que soit le niveau de stress hydrique appliqué, les températures foliaires des mutants *B73lox12-1* non mycorhizés sont toujours inférieures à celles des mutants sauvages non mycorhizés de type B73 suggère que l'inactivation du gène *9-ZmLOX12* permet une meilleure régulation du refroidissement superficiel des feuilles, la transpiration et l'ouverture des stomates. Le gène *9-ZmLOX12* serait un facteur génétique de vulnérabilité dans la prédisposition à cet aspect délétère des effets du stress hydrique. Le fait que, quel que soit le niveau de stress hydrique imposé, la température foliaire des mutants *B73lox3-4* non mycorhizés reste essentiellement la même que celle des plants B73 non mycorhizés et non stressés indique que le gène *9-ZmLOX3* ne joue pas de rôle ou joue un rôle mineur dans le refroidissement de la surface des feuilles sous l'effet de la chaleur et du stress hydrique. En outre, les données montrent que la mycorhization réduit significativement la température des feuilles de B73. La diminution de la température des feuilles indique une atténuation du réchauffement des feuilles dû au stress thermique et à la fermeture des stomates sous l'effet du stress hydrique comme l'ont démontré plusieurs travaux (Zhu *et al.*, 2017 ; Sarazin *et al.*, 2017 ; Recchia *et al.*, 2018 ; Zardak *et al.*, 2018). La mycorhization régule ainsi l'ouverture des stomates en cas de stress hydrique et pourrait stimuler l'activité photosynthétique par l'entrée de CO<sub>2</sub> (Recchia *et al.*, 2018 ; Zardak *et al.*, 2018). Le fait que les mutants mycorhizés *B73lox12-1* aient une température foliaire plus basse que les B73 mycorhizés indique que le gène *9-ZmLOX12* aurait une interaction négative avec la mycorhization pour ce paramètre.

Quel que soit le niveau de stress appliqué, la teneur relative en eau des tiges feuillées de mutants *B73lox12-1* non mycorhizés est généralement inférieure à celle du type sauvage non mycorhizé. Le contraire a été noté pour les racines. Ce résultat suggère que le gène *9-ZmLOX12* contribuerait au mouvement de l'eau à partir des racines pour accumulation dans les tiges feuillées. La teneur relative en eau des tiges feuillées des mutants *B73lox3-4* non mycorhizés est identique à celle des B73 non mycorhizés, quel que soit le niveau de stress hydrique. L'inverse a été noté dans les racines où le contenu est plus élevé. Le gène *9-ZmLOX3* aurait une expression différentielle selon les organes. Il s'exprimerait davantage dans les racines pour éviter l'accumulation d'eau.

La détermination de la dépendance mycorhizienne résume les effets de l'interaction entre les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* et la mycorhization sur la biomasse sèche de la plante entière. En l'absence de stress et en présence d'un stress hydrique modéré, l'accumulation de biomasse sèche dans les plantes B73 ne dépend pas de la mycorhization. Par ailleurs, les gènes *9-ZmLOX* étudiés répriment les bénéfices de la mycorhization dans la lignée B73. Quant au mutant *B73lox3-4*, il semble plus dépendant de la mycorhization que le mutant *B73lox12-1*, qui ne l'est à aucun niveau de stress hydrique. La lignée W438 perd sa dépendance mycorhizienne lorsque le stress hydrique est sévère. En ce qui concerne la performance des lignées, on peut dire que la dépendance mycorhizienne n'est pas seulement fonction du génotype mais aussi du niveau de stress.

L'analyse des indices de tolérance au stress STI révèle que l'inactivation des gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* confère une plus grande résistance ou tolérance au stress hydrique. Cette inactivation permet une interaction positive beaucoup plus prononcée chez les mutants *B73lox3-4* avec la mycorhization pour conférer une plus grande résistance induite par rapport aux types sauvages. Les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* semblent donc être des facteurs génétiques de vulnérabilité au stress hydrique. En ce qui concerne leur interaction avec la mycorhization, deux hypothèses ont été avancées. Ces premiers résultats, qui peuvent être étayés par des études de qPCR (quantitative PCR) et de protéomique, y compris sur les mutants doubles pour quantifier l'expressivité de ces gènes, suggèrent que ces gènes n'interfèrent pas avec la mycorhization ou que la mycorhization réduit leur effet négatif sur la résistance au stress hydrique.

L'impact du déficit hydrique sur la reproduction et la colonisation de *R. irregularis* DAOM 197198 associé aux deux lignées B73 et W438 a également été analysé. Le déficit en eau a été établi en donnant des quantités décroissantes d'eau en fonction de la capacité maximale de rétention d'eau du substrat de culture à maintenir (100, 50 et 10 % de la capacité de rétention d'eau du substrat).



L'observation de racines colorées au bleu de trypan a révélé la présence de différentes structures spécifiques à la mycorhization, telles que des hyphes extra- et intra-racines, des vésicules et des arbuscules tels que décrits par Smith et Read (2008) et Smith *et al.* (2011). La présence de ces structures témoigne d'une colonisation efficace des racines de maïs par le CMA. Le CMA *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 a démontré une grande capacité à coloniser les racines de maïs quel que soit le régime hydrique appliqué. L'application du stress hydrique n'a pas d'impact sur l'infectivité de *R. irregularis* DAOM 197198 comme d'autres auteurs l'ont constaté avec différents CMA et espèces végétales. Toutefois, notre résultat obtenu dans les cultures en pot contraste avec les résultats *in vitro* de Pioufle et Declerck (2018) qui ont testé certes les effets du stress hydrique mais sur la souche *R. irregularis* MUCL 41833 et ont mesuré des paramètres différents des nôtres tels que la longueur des hyphes et le taux de germination des spores. Meddich *et al.* (2015) avaient auparavant trouvé le contraire de nos résultats, mais encore une fois dans un contexte *in vivo* d'essais au champ dans des zones arides avec des CMA endogènes à *Phoenix dactylifera*, révélant un déclin des paramètres de colonisation induits par la sécheresse. Ces résultats contrastés suggèrent un effet en fonction de l'espèce ou de la souche CMA et confirment la nécessité de comparer l'impact du déficit en eau sur les mêmes paramètres d'infectivité et d'effectivité, de morphoanatomie, d'absorption des nutriments et de capacités de transport des autres CMA potentiellement plus résistantes à la sécheresse (par exemple, ceux isolés des milieux secs). Ce travail a noté que l'abondance arbusculaire augmentait avec le niveau de stress. Les arbuscules étant l'interface d'échanges entre le CMA et sa plante hôte, l'abondance croissante avec la sévérité du stress hydrique indique une régulation positive des mécanismes de résistance ou de défense induites par mycorhization (MIR) en cas de stress (Li *et al.*, 2014 ; Recchia *et al.*, 2018). Le potentiel du CMA en tant qu'agent de lutte biologique de la bactériose à Lso a été aussi analysé.

### **Effets de la mycorhization de la tomate sur le développement de la bactériose due à *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) et du psylle vecteur**

Les efforts de gestion des maladies des plantes de la famille des Solanacées causées par *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) ont été compliqués par la présence de deux haplotypes de Lso qui diffèrent par l'intensité des symptômes qu'ils provoquent. Cette étude a aussi examiné l'atténuation par la mycorhization des symptômes de la maladie sur tomate causée par les haplotypes LsoA et LsoB. Pour éviter tout biais dû au génotype du vecteur, tous les insectes *B. cockerelli* utilisés dans cette étude provenaient de l'haplotype du nord-ouest des Etats-Unis. Les symptômes de la maladie se sont développés chez 100 % des plants non mycorhizés, traités par les psylles. Tels que rapportés précédemment par Mendoza-Herrera *et al.* (2018), les symptômes de la maladie chez les plants non mycorhizés infectés par le LsoB étaient beaucoup

plus sévères que chez les plants infectés par le LsoA. Dans l'étude sus-mentionnée, le développement de symptômes avancés était associé à un titre Lso élevé, tel que mesuré par la PCR quantitative en temps réel.

Cette étude a démontré que la mycorhization réduisait systématiquement et systématiquement l'incidence de la maladie. Alors que 100 % des plants non mycorhizés ont développé une maladie sévère, au moins 40 % des plants mycorhizés ne présentaient toujours pas de symptômes de maladie discernables après 8 semaines, ce qui a été confirmé dans deux expériences distinctes. Les avantages de la mycorhization sont particulièrement importants pour les tomates infectées par LsoB qui ne survivent généralement pas plus de 8 semaines sous serre (Mendoza-Herrera *et al.*, 2018). La différence du taux de mycorhization individuel des plants de tomate peut expliquer pourquoi 60% des plants mycorhizés ont développé des symptômes de maladie et 40 % ne l'ont pas fait. Par ailleurs, les données de cette étude indiquent que la mycorhization n'a pas empêché l'infection à Lso, car Lso était détectable dans les plantes non symptomatiques. Cependant, comme indiqué précédemment (Levy *et al.*, 2011), la PCR conventionnelle n'est pas assez sensible pour détecter la Lso dans les feuilles nouvellement développées de toutes les plantes symptomatiques. La bactérie Lso n'a été donc détecté que dans environ 50 % des plants mycorhizés asymptomatiques. Des études futures devraient examiner si la réduction de la sévérité de la maladie observée dans les plantes inoculées est associée à une réduction du titre de Lso.

Des rapports précédents suggéraient que la mycorhization atténue la maladie en améliorant la vigueur des plantes et les effets du MIR sur l'évolution de la maladie, la fertilité des psylles ou des deux (Jung *et al.*, 2012). Comme attendu, la mycorhization a favorisé la production de biomasse des tiges en l'absence d'infection à Lso et de biomasse racinaire, la hauteur des plantes et la production/rétention des feuilles en l'absence ou en présence de psylles (Smith *et al.*, 2011 ; Smith et Smith, 2012). Ces résultats concordent avec l'hypothèse selon laquelle la mycorhization a contribué à la vigueur des plantes et à l'atténuation des symptômes des maladies causées par LsoA et LsoB (Liu *et al.*, 2007). L'absorption accrue du phosphore est l'un des principaux avantages apportés par les mycorhizes aux plantes (Javot *et al.*, 2007), et l'injection de phosphate de potassium (en combinaison avec d'autres composés) dans les agrumes infectés par *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs) a supprimé les symptômes de la maladie et réduit le titre du CLAs (Hu *et al.*, 2017). De plus en plus de preuves suggèrent que la mycorhization provoque une réaction MIR qui amorce des réactions de défense dépendantes de l'acide jasmonique (JA) chez les plantes (Jung *et al.*, 2012). Conformément à cette hypothèse, il a été démontré que la mycorhization atténue les contraintes phytosanitaires causées par les pathogènes nécrotrophes et les insectes broyeurs, tandis que les plantes mycorhizées peuvent être plus sensibles aux biotrophes et potentiellement aux insectes se nourrissant dans

le phloème et qui plus est sont ciblés par les défenses régulées par l'acide salicylique (SA) (Pozo *et al.*, 2010 ; D'Amelio *et al.*, 2011). Ce schéma est en corrélation avec une activation des défenses dépendantes du JA et une répression des défenses dépendantes du SA (Jung *et al.*, 2012). Les réactions de défense dépendantes de JA peuvent également réduire la croissance, le développement et la survie sur les plantes d'insectes se nourrissant dans le phloème (Howe et Jander, 2008). Cependant, le comportement et le développement des insectes sur les plantes sont susceptibles d'être compliqués par l'effet des endosymbiotes et des agents pathogènes des plantes sur la physiologie des insectes ainsi que sur les défenses végétales régulées par le JA et le SA une fois ces pathogènes transmis aux plantes. Bien qu'elles n'aient pas été étudiées dans le cadre de cette expérience "no-choice test", des études antérieures ont démontré une corrélation positive entre la mycorhization des plantes et la performance de l'alimentation dans le phloème (Pozo *et al.*, 2002, 2010, 2015 ; Pozo et Azcón-Aguilar, 2007 ; Koricheva *et al.*, 2009 ; Jung *et al.*, 2012 ; Barber *et al.*, 2013). Il était question de savoir si la mycorhization influencerait d'autres comportements chez les psylles. Cette étude a documenté des changements dans le comportement de ponte dus aux effets MIR, mais cet effet dépendait fortement de l'haplotype Lso hébergé par le parent. Sur les plants non mycorhizés, le nombre d'œufs pondus par les femelles hébergeant LsoA était significativement plus élevé que celui observé chez les femelles hébergeant LsoB. Sur les plantes mycorhizées, le nombre d'œufs pondus par les femelles hébergeant LsoA n'était pas différent du faible nombre d'œufs pondus par les femelles hébergeant LsoB sur les plantes mycorhizées ou non. La mycorhization a également réduit la survie des nymphes issues des œufs de parents infectés par LsoA. Le nombre de nymphes provenant des œufs de parents infectés par LsoB était généralement faible et pas significativement différent entre plants non mycorhizés et mycorhizés. Le mécanisme qui sous-tend les effets du MIR sur le comportement d'oviposition des parents ou de survie des nymphes hébergeant LsoA n'est pas encore élucidé. L'hypothèse plausible est que l'alimentation des adultes et des nymphes pourrait être directement affectée par la production induite par MIR de composés organiques volatils, de phytoalexines ou d'autres molécules de défense par les plantes (Ahmad *et al.*, 2011).

Différents haplotypes de Lso peuvent également induire des réponses distinctes chez les plantes et les insectes, ce qui influence les différences observées dans le comportement des psylles entre parents infectés par LsoA et LsoB. Ces résultats constituent le premier rapport indiquant que la mycorhization atténue la maladie sur tomate causée à la fois par LsoA et LsoB. Ces résultats renforcent l'idée que la mycorhization confère une résistance aux pathogènes limités au phloème (Pozo *et al.*, 2010 ; D'Amelio *et al.*, 2011). Cependant, la maladie à Lso implique des interactions complexes entre pathogène, vecteur et hôte, et les

mécanismes par lesquels la mycorhization affecte ces interactions ne sont pas connus. De futures expériences en serre et en plein champ seront nécessaires pour déterminer si la mycorhization peut protéger suffisamment les plantes pour améliorer le rendement commercialisable et pour disséquer s'il y a des différences dans les résultats des essais de rendement dues aux différents haplotypes Lso.

Les réponses de plants d'hévéa à la mycorhization et au stress hydrique ont également été analysées.

- **Mitigation des effets du stress hydrique de l'hévéa par la mycorhization arbusculaire**

L'observation microscopique des racines du porte-greffe GT1 et de celles de la tomate, cultivés dans un même substrat, contenant des spores mycorhiziennes inoculées dans le système racinaire de GT1, a révélé la présence typique de structures mycorhiziennes telles que des hyphes extra et intracellulaires et des arbuscules. Le statut mycorhizien du porte-greffe GT1 est donc établi : il peut établir une symbiose mycorhizienne fonctionnelle avec une très bonne intensité de mycorhization (> 70 %) et abondance arbusculaire (> 60 %). Ceci suggère que *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 posséderait un mécanisme de résistance ou mieux de détoxification des exsudats antifongiques du type hévéine. Bien que contraire aux résultats *in vitro* sur le clone PB 260 par la souche *R. irregularis* MUCL 41833 obtenus par Van Parijs *et al.* (1991), Sosa Rodriguez *et al.* (2013) et Slavokhotova *et al.* (2014), nos résultats confortent ceux d'autres chercheurs. En effet, ceux-ci ont plutôt observé un bon pourcentage de colonisation (> 60 %) des clones RRIM par des isolats de *Glomus* et/ou d'*Acaulospora* (Basumatary *et al.*, 2014 ; Herrmann *et al.*, 2016). Ces résultats contrastés seraient fonction du génotype d'hévéa et/ou des isolats mycorhiziens utilisés. Il semble donc nécessaire d'étudier les mécanismes de résistance aux antifongiques du type hévéine qui sous-tendent l'établissement de la symbiose chez l'hévéa.

Après confirmation du statut mycorhizien du clone d'hévéa IRCA 331, les bénéfices de l'inoculation mycorhizienne vis-à-vis des effets du déficit hydrique ont été analysés. L'humidité du sol de culture a baissé naturellement et de façon drastique avec le niveau de stress hydrique imposé. Elle varie évidemment avec la température et l'humidité relative de l'air ambiant. Toutefois, le substrat portant les plantes mycorhizées avait un meilleur taux d'humidité que celui des plantes non mycorhizées quel que soit la sévérité du stress hydrique appliqué. La mycorhization contribuerait ainsi à une meilleure rétention d'eau dans le sol. Il est bien documenté que les hyphes extraracinaires mycorhiziens produisent de la glomaline, une protéine qui augmente la stabilité et l'agrégation des particules du sol de sorte à augmenter sa capacité de rétention d'eau (Rillig et Mummey, 2006 ; Wu *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2014 ; Rillig *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2015 ; Martín-

Robles *et al.*, 2018 ; Morris *et al.*, 2019). Cette production de glomaline est un fait intéressant qui contribuerait à la résistance des plants mycorhizés au stress hydrique.

La plante souffre de stress hydrique surtout quand l'eau absorbée pour ses fonctions métaboliques est en grande partie perdue par transpiration au niveau des feuilles. Généralement, les feuilles transpirent pour refroidir leur surface foliaire. Ainsi, la température foliaire est un indice du niveau de stress hydrique et même thermique subit par la plante (Debona *et al.*, 2017). L'analyse des réponses du clone mycorhizé aux différents régimes hydriques a révélé une réduction significative de la température foliaire, de la fuite d'électrolytes des cellules foliaires, et une augmentation significative de l'indice de réflectance photochimique donc de l'efficacité de la lumière photosynthétique, comparativement aux plants non mycorhizés. Ces trois phénomènes suggèrent que la mycorhization contribue non seulement à améliorer significativement la tolérance ou la résistance du clone IRCA 331 au stress hydrique mais aussi au stress oxydatif (sous réserve de l'analyse comparée de l'activité enzymatique et non enzymatique antioxydante) et au stress thermique, donc à la sécheresse (Blokhina *et al.*, 2003 ; Porcel et Ruiz-Lozano, 2004 ; Maya et Matsubara, 2013 ; Bompadre *et al.*, 2014 ; Demidchik, 2015 ; He *et al.*, 2017 ; Venice *et al.*, 2017). Les teneurs en chlorophylle des plants mycorhizés, significativement plus élevées que les plants non mycorhizés, jointes aux constats susmentionnés, indiquent que *R. irregularis* DAOM 197198 améliore l'activité photosynthétique chez l'hévéa, même en cas de stress sévère. La mycorhization a significativement protégé la chlorophylle de la dégradation, comparativement aux plantes non mycorhizées sous la contrainte hydrique. L'amélioration de la photosynthèse se répercute en gain de biomasse, d'élongation et de croissance en épaisseur (donc du cubage de bois) (Basumatary *et al.*, 2014). Par ailleurs, la mycorhization du porte-greffe du clone IRCA 331 a amélioré significativement la teneur relative en eau des plants, donc la capacité d'absorption de l'eau et la réduction de la transpiration. Ainsi, la mycorhization pourrait participer à la réduction des zones marginales à la culture d'hévéa due la raréfaction ou à la mauvaise répartition des pluies qui sont de plus en plus marquée par le changement climatique.

L'ensemble des données de phénotypage des plants IRCA 331 dans la présente étude montre que les traitements ont différenciellement impacté leur développement végétatif. Il est intéressant de relever que les plants non mycorhizés, soumis au stress modéré, témoignent d'une résilience propre. Toutefois, les plants mycorhizés se développent mieux et présentent un meilleur aspect végétatif et un meilleur indice de réflectance photochimique (PRI). Il est bien connu que les CMA renforcent la résilience des plantes face aux stress environnementaux tel que le déficit en eau (Pioufle et Declerck, 2018). Bien que les effets bénéfiques de CMA sur les plantes soumises à un stress hydrique aient été rapportés par plusieurs auteurs

(Hamza, 2014 ; Recchia *et al.*, 2018), cette étude signale l'impact positif sur l'indice de réflectance photochimique (PRI). Cet indice est calculé avec  $R_{531}$ , la réflectance à 531 nm (la bande d'onde du signal xanthophylle) et  $R_{570}$ , la réflectance à 570 nm (une bande d'onde de référence). En comparant  $R_{531}$  à  $R_{570}$ , cet indice se normalise partiellement pour d'autres facteurs autres que le cycle xanthophyllien qui peuvent affecter la réflectance spectrale dans cette région spectrale. Ces facteurs sont entre autres, la teneur en pigment et le mouvement du chloroplaste, qui peuvent tous deux affecter  $R_{531}$  (Gamon *et al.*, 1997 ; Garbulsky *et al.*, 2011). Le PRI est positivement corrélé aux changements dans les pigments caroténoïdes qui indiquent des changements dans l'efficacité d'utilisation de la lumière ou de la radiation photosynthétique (LUE ou RUE), le taux d'absorption du  $\text{CO}_2$  par unité d'énergie absorbée. C'est donc un indice fiable du stress hydrique (Gamon *et al.*, 1997 ; Peñuelas *et al.*, 2011 ; Garbulsky *et al.*, 2011 ; Peñuelas *et al.*, 2013). Cela suggère que l'utilisation de CMA pourrait représenter une approche innovante pour résoudre le problème du déclin de la production hévéicole en conditions de sécheresse. Toutefois, ces résultats doivent être confirmés par des tests au champ.

# **CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Les champignons mycorhiziens arbusculaires et les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes conviennent pour modifier l'environnement hôte-pathogène, principalement en amorçant une résistance systémique. Cette étude a révélé que le CMA *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et le PGPP *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 suppriment individuellement les symptômes de l'antracnose foliaire causés par *Colletotrichum graminicola* sur la lignée de maïs sensible B73. La production de phénazines par *P. chlororaphis* est responsable à la fois de l'antagonisme direct de la croissance mycélienne et de la résistance systémique. La coinoculation a également entraîné la suppression de la maladie, bien qu'elle n'ait pas été significativement meilleure que les effets individuels. La sévérité de la maladie sur la lignée résistante W438 était significativement plus élevée sur les plantes précolonisées par *P. chlororaphis* que sur les témoins non traités, indiquant que la souche 30-84 peut interférer avec les mécanismes de résistance présents dans W438. En outre, ces données indiquent comment les interactions entre les "microbes bénéfiques" et les plantes hôtes peuvent être spécifiques aux cultivars. La suppression de la maladie par *P. chlororaphis* semble dépendre du gène *9-ZmLOX12* et donc de la voie de signalisation des jasmonates, comme l'indique la perte de la suppression de la maladie sur le mutant *B73lox12-1*. Cependant, la suppression de la maladie par *R. irregularis* n'est pas modifiée sur le mutant *B73lox12-1*, indiquant un mécanisme différent pour la suppression de la maladie. La double inoculation a révélé une résistance systémique efficace induite contre *C. graminicola* M1.001. Cependant, les deux agents n'interfèrent pas indirectement *via planta* sur la colonisation racinaire de l'un ou de l'autre. Par ailleurs, le CMA posséderait un mécanisme de résistance aux phénazines ou de répression de leur production et/ou sécrétion dans la même niche rhizosphérique.

Les réponses de quatre génotypes de maïs (B73, W438, le mutant *9-zmlox3*, et le mutant *9-zmlox12*) à la prémycorhization contrôlée et au stress hydrique à différents niveaux de sévérité viennent d'être caractérisées. La prémycorhization a été effectuée au stade végétatif V1 et le stress hydrique a été appliqué au stade végétatif V3. Cette étude a montré que la prémycorhization induit une résistance systémique au stress hydrique. Elle révèle aussi que les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* sont des facteurs génétiques de sensibilité au stress hydrique. Leur inactivation produit en outre une résistance systémique élevée induite par la mycorhization. Les effets du stress hydrique sur l'infectivité, l'effectivité et la reproduction de *R. irregularis* DAOM 197198 ont également été caractérisés. Bien que le stress hydrique stimule l'infectivité et l'effectivité du CMA, sa reproduction et sa survie sous forme de spores diffèrent selon les génotypes hôtes. En somme, cette étude contribue de façon significative à l'acquisition de connaissances pour



l'orientation des programmes de sélection impliquant les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* et leur interaction avec la mycorhization dans l'amélioration de la résistance du maïs au stress hydrique.

Cette étude est également la première à mettre en évidence un effet antagoniste de la mycorhization contre la bactériose due à *Candidatus Liberibacter solanacearum* sur tomate. L'interaction mycorhizienne apparaît comme une approche potentielle pour la gestion de cette maladie émergente. La résistance induite par mycorhization (MIR) a induit des retards et des réductions dans le développement des symptômes de la maladie, bien que les effets sur le vecteur dépendissent de l'haplotype Lso qui était hébergé par le psylle.

De l'étude de l'interaction entre CMA, exsudats racinaires du type hévéine et stress hydrique chez l'hévéa, il ressort que le porte-greffe GT1 est une plante mycotrophe. L'évaluation a révélé d'excellents résultats en ce qui concerne les paramètres d'infectivité et d'effectivité de *R. irregularis* DAOM 197198. Le CMA semble posséder un mécanisme de résistance aux substances antifongiques du type hévéine. L'inoculation de *R. irregularis* DAOM 197198 a significativement boosté l'indice de réflectance photochimique, la teneur en chlorophylle, même en cas de stress sévère. Elle a également induit une amélioration des capacités de rétention en eau du sol et des feuilles. Ces résultats révèlent un renforcement du niveau de résilience du clone IRCA 331 par l'inoculation de *R. irregularis* à son porte-greffe GT1. Au regard de ces résultats, la mycorhization pourrait participer à réduire la surface des zones marginalisées dans la culture de l'hévéa, par exemple au centre-est de la Côte d'Ivoire, en raison des déficits hydriques. Il est possible d'améliorer la productivité agricole par la vulgarisation de l'utilisation des champignons mycorhiziens pour faire face à l'intensification de la sécheresse due au changement climatique mais aussi et surtout, pour la réduction des dépenses liées à l'irrigation.

### PERSPECTIVES

Ces travaux ne permettent pas de cerner complètement le mécanisme moléculaire sous-jacent expliquant ces résistances induites lors des interactions. Pour mieux comprendre l'interaction entre le maïs inoculé par *R. irregularis* et *P. chlororaphis* 30-84 et l'agent pathogène *C. graminicola*, il convient d'étudier simultanément les réponses de défense moléculaire et chimique induites localement (au niveau de la racine) et systémiquement (au niveau des feuilles). Cette même approche pourrait expliciter le déterminisme génétique mis en jeu par ces gènes et l'action de leurs produits oxylipines dans le stress hydrique et salin. En effet, l'expression génique et les altérations hormonales doivent également être comparées entre organes aériens et souterrains. Des travaux de transcriptomique, de protéomique, de génétique inverse et de complémentarité peuvent donc être entrepris pour préciser les mécanismes de suppression. L'application

exogène de phénazines pures peut être faite pour étayer d'avantage leur rôle d'inducteur de résistance ou de susceptibilité systémique. En outre, le profiling métabolomique pourrait révéler des différences dans la composition des métabolites secondaires des feuilles et des racines, indiquant que les organes utilisent des systèmes de défense chimique distincts. Il est également important de voir comment les microbes bénéfiques contribuent à la productivité du maïs et à la défense des plantes au champ. Des études futures axées sur d'autres mutants de signalisation de la voie LOX pourraient s'avérer essentielles pour élucider les événements de signalisation critiques et identifier les gènes ou QTL pour la sélection des meilleures interactions plantes - microbes promoteurs de la croissance des plantes. Quant à l'interaction avec le stress du déficit hydrique, les mutants pourraient dans un programme de création variétale devenir des cultivars en tant que variété résistante à la sécheresse. Bien évidemment, après que des tests de rendement au champ et des analyses sur la valeur nutritive des grains en autres aient été concluants.

Des études de transcriptomiques et de protéomiques sont nécessaires pour préciser concrètement le procédé de mécanismes de résistance du CMA aux phénazines et aux exsudats racinaires antifongiques du type hévéine, Des tests en pépinière et en plantation d'hévéa sont attendus pour confirmer les résultats en serre.

En ce qui concernent l'interaction entre CMA, les haplotypes Lso et leur vecteur psylle, des recherches plus approfondies sont nécessaires pour éclairer les mécanismes impliqués dans le MIR. Des expériences en plein champ sont nécessaires pour confirmer le MIR et le potentiel d'applications agricoles pour lutter contre la maladie due à *Ca. Liberibacter solanacearum* sur tomate et pomme de terre, avec une attention particulière aux effets sur le rendement commercialisable. Des travaux futurs exploitant le profiling métabolomique pourraient révéler les différences entre les plants mycorhizés et non mycorhizés en ce qui concerne la composition des métabolites secondaires et les systèmes de défense chimique induits en réponse à l'alimentation de *Bactericera cockerelli* et à l'infection à Lso. Étant donné que ces travaux sont essentiellement des tests au laboratoire, en chambre de culture et en serre, il sera important de réaliser dans le futur des expérimentations en champ pour confirmer ces résultats importants que nous avons obtenus.

Par ailleurs, ces travaux seront répétés avec *P. chlororaphis* 30-84 puisque *P. putida*, un proche parent, a été capable de supprimer les symptômes de la maladie causée par un phytoplasme limité au phloème ; il produit de l'auxine, qui a stimulé la récupération des plantes après une infection du phytoplasme.

En définitive, cette étude montre que la compréhension des mécanismes moléculaires des interactions permet une meilleure gestion de stress exacerbés dans le contexte actuel de changement climatique.

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Adjé, F., Lozano, Y. F., Lozano, P., Adima, A., Chemat, F., Gaydou, E. M., 2010. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Industrial Crops and Products*, 32, 3 : 439–444.
- Ahmad, S., Veyrat, N., Gordon-Weeks, R., Zhang, Y., Martin, J., Smart, L., Glauser, G., Erb, M., Flors, V., Frey, M., Ton, J., 2011. Benzoxazinoid metabolites regulate innate immunity against aphids and fungi in maize. *Plant Physiology*, 157, 1 : 317-327. DOI : 10.1104/pp.111.180224.
- Akanza, P. K., N'da, A. H., 2018. Effets de l'engrais sur la fertilité, la nutrition et le rendement du maïs : incidence sur le diagnostic des carences du sol. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 45, : 54–66.
- Alfaro-Fernández, A., Hernández-Llopis, D., Font, M. I., 2017. Haplotypes of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' identified in Umbeliferous crops in Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 149, 1 : 127-131. DOI : 10.1007/s10658-017-1172-2.
- Al-Ghumaiz, N. S., Abd-Elmoniem, E. M., Motawei, M. I., 2017. Salt Tolerance and K/Na Ratio of Some Introduced Forage Grass Species Under Salinity Stress in Irrigated Areas. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48, 12 : 1494-1502. DOI : 10.1080/00103624.2017.1374398.
- An, G.-H., Kobayashi, S., Enoki, H., Sonobe, K., Muraki, M., Karasawa, T., Ezawa, T., 2010. How does arbuscular mycorrhizal colonization vary with host plant genotype? An example based on maize (*Zea mays*) germplasms. *Plant and Soil*, 327, 1 : 441-453. DOI : 10.1007/s11104-009-0073-3.
- Antolinez, C. A., Fereres, A., Moreno, A., 2017. Risk assessment of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' transmission by the psyllids *Bactericera trigonica* and *B. tremblayi* from *Apiaceae* crops to potato. *Scientific Reports*, 7, 1 : 1-10. DOI : 10.1038/srep45534.
- Anzala, F. J., 2006. Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*): étude de la voie de biosynthèse des acides aminés issus de l'aspartate et recherche de QTLs. Thèse, Université d'Angers, École Doctorale d'Angers, France.
- Apel, K., Hirt, H., 2004. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 1 : 373-399. DOI : 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.
- Arp, A. P., Chapman, R., Crosslin, J. M., Bextine, B., 2013. Low-Level Detection of *Candidatus Liberibacter Solanacearum* in *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: *Triozidae*) by 16s rRNA Pyrosequencing. *Environmental Entomology*, 42, 5 : 868-873. DOI : 10.1603/EN12260.
- Ashraf, M., Foolad, M. R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 2 : 206-216. DOI : 10.1016/j.envexpbot.2005.12.006.

- Atherton, J., Rudich, J. (dir.), 1986. *The Tomato Crop: A scientific basis for improvement*. Springer Netherlands. DOI : 10.1007/978-94-009-3137-4.
- Audrain, B., Farag, M. A., Ryu, C.-M., Ghigo, J.-M., 2015. Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 39, 2 : 222-233. DOI : 10.1093/femsre/fuu013.
- Augé, R. M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 1 : 3-42. DOI : 10.1007/s005720100097.
- Awatef, G., Chafia, Z., Mostefa, B., 2017. Étude de la diversité génétique de quelques variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et de blé dur (*Triticum durum* Desf.) selon la base des caractères de l'U.P.O.V. *Journal of Applied Biosciences*, 113, 1 : 11246-11256.
- Ayad, D., Aribi, D., Hamon, B., Keddad, A., Simoneau, P., Bouznad, Z., 2019. Distribution of large-spored *Alternaria* species associated with early blight of potato and tomato in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*, 58, 1 : 139-149. DOI : 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-23988.
- Azooz, M. M., 2009. Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 4 : 343–350.
- Babu, B., Paret, M. L., Dufault, N., Harmon, C. L., 2015. « *Candidatus Liberibacter solanacearum* »: An Emerging Pathogen Infecting Potato and Tomato. *PP320. Plant Pathology Department, UF/IFAS Extension*, 1, : 1-9. DOI : <http://edis.ifas.ufl.edu/pp320>.
- Badda, N., Yadav, K., Aggarwal, A., Kadian, N., 2015. Consortium Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Pseudomonas fluorescens* with Various Levels of Superphosphate on Growth Improvement of Cotton (*G. arboreum* L.). *Journal of Natural Fibers*, 12, 1 : 12-25. DOI : 10.1080/15440478.2013.879085.
- Bai, Y., Kissoudis, C., Yan, Z., Visser, R. G. F., Linden, G. van der, 2018. Plant behaviour under combined stress: tomato responses to combined salinity and pathogen stress. *The Plant Journal*, 93, 4 : 781-793. DOI : 10.1111/tpj.13800.
- Bailey-Serres, J., Mittler, R., 2006. The Roles of Reactive Oxygen Species in Plant Cells. *Plant Physiology*, 141, 2 : 311-311. DOI : 10.1104/pp.104.900191.
- Bajji, M., Lutts, S., Kinet, J.-M., 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three *durum* wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160, 4 : 669-681. DOI : 10.1016/S0168-9452(00)00443-X.

- Balmer, D., de Papajewski, D. V., Planchamp, C., Glauser, G., Mauch-Mani, B., 2013a. Induced resistance in maize is based on organ-specific defence responses. *The Plant Journal*, 74, 2 : 213-225. DOI : 10.1111/tpj.12114.
- Balmer, D., Planchamp, C., Mauch-Mani, B., 2013b. On the move: induced resistance in monocots. *Journal of Experimental Botany*, 64, 5 : 1249-1261. DOI : 10.1093/jxb/ers248.
- Bandurska, H., Niedziela, J., Pietrowska-Borek, M., Nuc, K., Chadzinikolau, T., Radzikowska, D., 2017. Regulation of proline biosynthesis and resistance to drought stress in two barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes of different origin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, : 427-437. DOI : 10.1016/j.plaphy.2017.07.006.
- Barber, N. A., Kiers, E. T., Hazzard, R. V., Adler, L. S., 2013. Context-dependency of arbuscular mycorrhizal fungi on plant-insect interactions in an agroecosystem. *Frontiers in Plant Science*, 4, : 338. DOI : 10.3389/fpls.2013.00338.
- Barnaby, J. Y., Kim, M., Bauchan, G., Bunce, J., Reddy, V., Sicher, R. C., 2013. Drought Responses of Foliar Metabolites in Three Maize Hybrids Differing in Water Stress Tolerance. *PLOS ONE*, 8, 10 : e77145. DOI : 10.1371/journal.pone.0077145.
- Basumatary, N., Parkash, V., Tamuli, A. K., Saikia, A. J., Teron, R., 2014. Arbuscular mycorrhizal inoculation affects growth and rhizospheric nutrient availability in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Mull. Arg. clones. *International Journal of Current Biotechnology*, 2, 7 : 14-21.
- Battaglia, M., Covarrubias, A. A., 2013. Late Embryogenesis Abundant (LEA) proteins in legumes. *Frontiers in Plant Science*, 4, . DOI : 10.3389/fpls.2013.00190.
- Baudoin, E., Benizri, E., Guckert, A., 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 9 : 1183-1192. DOI : 10.1016/S0038-0717(03)00179-2.
- Bedini, S., Turrini, A., Rigo, C., Argese, E., Giovannetti, M., 2010. Molecular characterization and glomalin production of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing a heavy metal polluted ash disposal island, downtown Venice. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 5 : 758-765. DOI : 10.1016/j.soilbio.2010.01.010.
- Beifuss, U., Tietze, M., 2005. Methanophenazine and Other Natural Biologically Active Phenazines. In Mulzer, J. (dir.). *Natural Products Synthesis II: Targets, Methods, Concepts*. Topics in Current Chemistry. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI : 10.1007/b96889.

- Beirn, L. A., Clarke, B. B., Crouch, J. A., 2014. Influence of Host and Geographic Locale on the Distribution of *Colletotrichum cereale* Lineages. *PLoS ONE*, 9, 5 : e97706. DOI : 10.1371/journal.pone.0097706.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L. M. P., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 4 Suppl : 1044-1051. DOI : 10.1590/s1415-47572012000600020.
- Benhamdi, A., 2014. Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum* Desf. et *Lygeum spartum* L. en réponse à la pollution du sol par l'antimoine. Thèse, Université Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie.
- Bennett, A. E., Alers-Garcia, J., Bever, J. D., 2006. Three-way interactions among mutualistic mycorrhizal fungi, plants, and plant enemies: hypotheses and synthesis. *The American Naturalist*, 167, 2 : 141-152. DOI : 10.1086/499379.
- Benz, B. F., 2001. Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz, Oaxaca. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 4 : 2104-2106. DOI : 10.1073/pnas.98.4.2104.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M., 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17, 8 : 478-486. DOI : 10.1016/j.tplants.2012.04.001.
- Berg, G., Opelt, K., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., Smalla, K., 2006. The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiology Ecology*, 56, 2 : 250-261. DOI : 10.1111/j.1574-6941.2005.00025.x.
- Berg, G., Roskot, N., Steidle, A., Eberl, L., Zock, A., Smalla, K., 2002. Plant-Dependent Genotypic and Phenotypic Diversity of Antagonistic Rhizobacteria Isolated from Different *Verticillium* Host Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 7 : 3328-3338. DOI : 10.1128/AEM.68.7.3328-3338.2002.
- Bergsma-Vlami, M., Prins, M. E., Raaijmakers, J. M., 2005. Influence of plant species on population dynamics, genotypic diversity and antibiotic production in the rhizosphere by indigenous *Pseudomonas* spp. *FEMS Microbiology Ecology*, 52, 1 : 59-69. DOI : 10.1016/j.femsec.2004.10.007.
- Bergstrom, G. C., Nicholson, R. L., 1999. The Biology of Corn Anthracnose: Knowledge to Exploit for Improved Management. *Plant Disease*, 83, 7 : 596-608. DOI : 10.1094/PDIS.1999.83.7.596.
- Berta, G., Copetta, A., Gamalero, E., Bona, E., Cesaro, P., Scarafoni, A., D'Agostino, G., 2014. Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal fungi and a growth-

- promoting pseudomonad in the field. *Mycorrhiza*, 24, 3 : 161-170. DOI : 10.1007/s00572-013-0523-x.
- Bhonwong, A., Stout, M. J., Attajarusit, J., Tantasawat, P., 2009. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). *Journal of chemical ecology*, 35, 1 : 28–38.
- Bi, Y., Zhang, J., Song, Z., Wang, Z., Qiu, L., Hu, J., Gong, Y., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate root damage stress induced by simulated coal mining subsidence ground fissures. *Science of The Total Environment*, 652, : 398-405. DOI : 10.1016/j.scitotenv.2018.10.249.
- Bianciotto, V., Bonfante, P., 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialised niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 1-4 : 365-371.
- Biessy, A., Fillion, M., 2018. Phenazines in plant-beneficial *Pseudomonas* spp.: biosynthesis, regulation, function and genomics. *Environmental Microbiology*, 20, 11 : 3905-3917. DOI : 10.1111/1462-2920.14395.
- Blanke, V., Renker, C., Wagner, M., Füllner, K., Held, M., Kuhn, A. J., Buscot, F., 2005. Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site. *New Phytologist*, 166, 3 : 981-992. DOI : 10.1111/j.1469-8137.2005.01374.x.
- Blée, E., 1998. Phytooxylipins and plant defense reactions. *Progress in Lipid Research*, 37, 1 : 33-72. DOI : 10.1016/S0163-7827(98)00004-6.
- Blée, E., 2002. Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends in Plant Science*, 7, 7 : 315-322. DOI : 10.1016/S1360-1385(02)02290-2.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany*, 91, 2 : 179-194. DOI : 10.1093/aob/mcf118.
- Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., İkinci, A., Tonkaz, T., 2014. The Effect of Water Stress on Some Morphological, Physiological, and Biochemical Characteristics and Bud Success on Apple and Quince Rootstocks. Disponible sur <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/769732/>, consulté le 10/07/2017. DOI : 10.1155/2014/769732.
- Bompadre, M. J., Silvani, V. A., Bidondo, L. F., Ríos de Molina, M. D. C., Colombo, R. P., Pardo, A. G., Godeas, A. M., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate oxidative stress in pomegranate plants growing under different irrigation conditions. *Botany*, 92, 3 : 187-193. DOI : 10.1139/cjb-2013-0169.
- Bonfante, P., 2001. Plant–Fungal Interactions in Mycorrhizas. *eLS*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Bonfante, P., 2018. The future has roots in the past: the ideas and scientists that shaped mycorrhizal research. *New Phytologist*, 220, 4 : 982-995. DOI : 10.1111/nph.15397.



- Bonfante, P., Genre, A., 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in Plant Science*, 13, 9 : 492-498. DOI : 10.1016/j.tplants.2008.07.001.
- Bonfante, P., Genre, A., 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 1, : 48. DOI : 10.1038/ncomms1046.
- Bonfante, P., Perotto, S., 1995. Strategies of Arbuscular Mycorrhizal Fungi when Infecting Host Plants. *The New Phytologist*, 130, 1 : 3-21.
- Brash, A. R., 1999. Lipxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *The Journal of Biological Chemistry*, 274, 34 : 23679-23682.
- Brindoumi, J. K. A., 2015. Les facteurs du développement de l'hévéaculture en Côte d'Ivoire de 1994 à 2012. *Eur Sci J*, 11, : 202–219.
- Brou, Y., 1999. Etude de réponses physiologiques et biochimiques du Niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walpers] au déficit hydrique: recherche de mécanismes de résistance ou de tolérance chez les variétés Bambey 21 et TN88-63. Thèse, Université libre de Bruxelles, Faculté des sciences, Bruxelles, Bruxelles, Belgique.
- Brundrett, M. C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320, 1-2 : 37-77. DOI : 10.1007/s11104-008-9877-9.
- Brundrett, M., Juniper, S., 1995. Non-destructive assessment of spore germination of VAM fungi and production of pot cultures from single spores. *Soil Biology and Biochemistry*, 27, 1 : 85–91.
- Budzikiewicz, H., 1993. Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiology Letters*, 104, 3 : 209-228. DOI : 10.1016/0378-1097(93)90597-U.
- Calatayud, P.-A., Garrec, J. P., Nicole, M., 2013. Adaptation des plantes aux stress environnementaux. In Sauvion, N., Calatayud, P.-A., Thiéry, D., Marion-Pol, F. (dir.). *Interactions insectes-plantes*. IRD, Marseille.
- Callaway, E., 2008. Bioterror: The green menace. *Nature*, 452, 7184 : 148-150. DOI : 10.1038/452148a.
- Calonne, M., Fontaine, J., Tisserant, B., Dupré de Boulois, H., Grandmougin-Ferjani, A., Declerck, S., Lounès-Hadj Sahraoui, A., 2014. Polyaromatic hydrocarbons impair phosphorus transport by the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Chemosphere*, 104, : 97-104. DOI : 10.1016/j.chemosphere.2013.10.070.
- Calvo, O. C., Franzaring, J., Schmid, I., Müller, M., Brohon, N., Fangmeier, A., 2017. Atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment and drought stress modify root exudation of barley. *Global Change Biology*, 23, 3 : 1292-1304. DOI : 10.1111/gcb.13503.

- Cameron, D. D., Neal, A. L., van Wees, S. C. M., Ton, J., 2013. Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts? *Trends in plant science*, 18, 10 : 539-545. DOI : 10.1016/j.tplants.2013.06.004.
- Casela, C. R., Santos, F. G., Ferreira, A. S., 2001. Reaction of sorghum genotypes to the anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 2 : 197-200. DOI : 10.1590/S0100-41582001000200014.
- Catford, J.-G., Staehelin, C., Lerat, S., Piché, Y., Vierheilig, H., 2003. Suppression of arbuscular mycorrhizal colonization and nodulation in split-root systems of alfalfa after pre-inoculation and treatment with Nod factors. *Journal of Experimental Botany*, 54, 386 : 1481-1487. DOI : 10.1093/jxb/erg156.
- Cayenne, E. E., Scott, R. A., 2011. Vegetation recovery in a desert landscape after wildfires: influences of community type, time since fire and contingency effects. *Journal of Applied Ecology*, : 1401-1410.
- Ceballos, I., Ruiz, M., Fernández, C., Peña, R., Rodríguez, A., Sanders, I. R., 2013. The *In-vitro* Mass-Produced Model Mycorrhizal Fungus, *Rhizophagus irregularis*, Significantly Increases Yields of the Globally Important Food Security Crop Cassava. *PLoS ONE*, 8, 8 . DOI : 10.1371/journal.pone.0070633.
- Cezairliyan, B., Vinayavekhin, N., Grenfell-Lee, D., Yuen, G. J., Saghatelian, A., Ausubel, F. M., 2013. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Phenazines that Kill *Caenorhabditis elegans*. *PLOS Pathogens*, 9, 1 : e1003101. DOI : 10.1371/journal.ppat.1003101.
- Chakraborty, U., Pradhan, B., 2012. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24, 2 : 117-130. DOI : 10.1590/S1677-04202012000200005.
- Chalk, P. M., Souza, R. de F., Urquiaga, S., Alves, B. J. R., Boddey, R. M., 2006. The role of arbuscular mycorrhiza in legume symbiotic performance. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 9 : 2944–2951.
- Chancey, S. T., Wood, D. W., Pierson, E. A., Pierson, L. S., 2002. Survival of GacS/GacA Mutants of the Biological Control Bacterium *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the Wheat Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 7 : 3308-3314. DOI : 10.1128/AEM.68.7.3308-3314.2002.
- Chancey, S. T., Wood, D. W., Pierson, L. S., 1999. Two-Component Transcriptional Regulation of N-Acyl-Homoserine Lactone Production in *Pseudomonas aureofaciens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 6 : 2294-2299.
- Chang, W.-S., Mortel, M. van de, Nielsen, L., Guzman, G. N. de, Li, X., Halverson, L. J., 2007. Alginate Production by *Pseudomonas putida* Creates a Hydrated Microenvironment and Contributes to Biofilm

- Architecture and Stress Tolerance under Water-Limiting Conditions. *Journal of Bacteriology*, 189, 22 : 8290-8299. DOI : 10.1128/JB.00727-07.
- Chaudhary, J., Khatri, P., Singla, P., Kumawat, S., Kumari, A., R, V., Vikram, A., Jindal, S. K., Kardile, H., Kumar, R., Sonah, H., Deshmukh, R., 2019. Advances in Omics Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Tomato. *Biology*, 8, 4 : 90. DOI : 10.3390/biology8040090.
- Chauvin, A., Lenglet, A., Wolfender, J.-L., Farmer, E. E., 2016. Paired Hierarchical Organization of 13-Lipoxygenases in *Arabidopsis*. *Plants*, 5, 2 . DOI : 10.3390/plants5020016.
- Chaves, M. M., 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 55, 407 : 2365-2384. DOI : 10.1093/jxb/erh269.
- Chechetkin, I. R., Osipova, E. V., Antsygina, L. L., Gogolev, Y. V., Grechkin, A. N., 2011. Oxidation of glycerolipids by maize 9-lipoxygenase and its A562G mutant. *Chemistry and Physics of Lipids*, 164, 3 : 216-220. DOI : 10.1016/j.chemphyslip.2011.01.003.
- Chen, B. D., Li, X. L., Tao, H. Q., Christie, P., Wong, M. H., 2003. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*, 50, 6 : 839-846.
- Chen, H., Jones, A. D., Howe, G. A., 2006. Constitutive activation of the jasmonate signaling pathway enhances the production of secondary metabolites in tomato. *FEBS letters*, 580, 11 : 2540–2546.
- Cheruiyot, E. K., Mumera, L. M., Ng’etich, W. K., Hassanali, A., Wachira, F., 2007. Polyphenols as Potential Indicators for Drought Tolerance in Tea (*Camellia sinensis* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 9 : 2190-2197. DOI : 10.1271/bbb.70156.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B. J. J., 2003. Phenazines and Their Role in Biocontrol by *Pseudomonas* Bacteria. *The New Phytologist*, 157, 3 : 503-523.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., van der Bij, A. J., van der Drift, K. M. G. M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R. J., Keel, C., Bakker, P. A. H. M., Tichy, H.-V., de Bruijn, F. J., Thomas-Oates, J. E., Lugtenberg, B. J. J., 1998. Biocontrol by Phenazine-1-carboxamide-Producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of Tomato Root Rot Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 11, 11 : 1069-1077. DOI : 10.1094/MPMI.1998.11.11.1069.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Thomas-Oates, J. E., Lugtenberg, B. J. J., Bloemberg, G. V., 2001. Introduction of the *phzH* Gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 Extends the Range of Biocontrol Ability of Phenazine-1-Carboxylic Acid-Producing *Pseudomonas* spp. Strains. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 14, 8 : 1006-1015. DOI : 10.1094/MPMI.2001.14.8.1006.

- Christensen, S. A., Huffaker, A., Hunter, C. T., Alborn, H. T., Schmelz, E. A., 2016. A maize death acid, 10-oxo-11-phytoenoic acid, is the predominant cyclopentenone signal present during multiple stress and developmental conditions. *Plant Signaling & Behavior*, 11, 2 : e1120395. DOI : 10.1080/15592324.2015.1120395.
- Christensen, S. A., Nemchenko, A., Park, Y.-S., Borrego, E., Huang, P.-C., Schmelz, E. A., Kunze, S., Feussner, I., Yalpani, N., Meeley, R., Kolomiets, M. V., 2014. The novel monocot-specific 9-lipoxygenase ZmLOX12 is required to mount an effective jasmonate-mediated defense against *Fusarium verticillioides* in maize. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 27, 11 : 1263-1276. DOI : 10.1094/MPMI-06-13-0184-R.
- Compan, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., Barka, E. A., 2005. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 9 : 4951-4959. DOI : 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005.
- Constantino, N. N., Mastouri, F., Damarwinasis, R., Borrego, E. J., Moran-Diez, M. E., Kenerley, C. M., Gao, X., Kolomiets, M. V., 2013. Root-expressed maize lipoxygenase 3 negatively regulates induced systemic resistance to *Colletotrichum graminicola* in shoots. *Frontiers in Plant Science*, 4, . DOI : 10.3389/fpls.2013.00510.
- Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Banger, G., Kim, D. S., 1995. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 10 : 4197-4201. DOI : 10.1073/pnas.92.10.4197.
- Cooper, W. R., Sengoda, V. G., Munyaneza, J. E., 2014. Localization of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (Rhizobiales: *Rhizobiaceae*) in *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 107, 1 : 204-210. DOI : 10.1603/AN13087.
- Costa, R. V., Zambolim, L., Cota, L. V., Silva, D. D., Parreira, D. F., Lanza, F. E., Souza, A. G. C., 2015. Pathotypes of *Colletotrichum sublineolum* in Response to *Sorghum* Populations with Different Levels of Genetic Diversity in Sete Lagoas-MG. *Journal of Phytopathology*, 163, 7-8 : 543-553. DOI : 10.1111/jph.12352.
- Coulibaly, N. D., Fondio, L., N’gbesso, M. F., Doumbia, B., 2019. Evaluation des performances agronomiques de quinze nouvelles lignées de tomate en station au centre de la Côte d’Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13, 3 : 1565–1581.

- Crosslin, J. M., Lin, H., Munyaneza, J. E., 2011. Detection of ‘*Candidatus Liberibacter Solanacearum*’ in the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Šulc), by Conventional and Real-Time PCR. *Southwestern Entomologist*, 36, 2 : 125-135. DOI : 10.3958/059.036.0202.
- Crosslin, J., Munyaneza, J., Brown, J., Liefting, L., 2010. A History in the Making: Potato Zebra Chip Disease Associated with a New Psyllid-borne Bacterium. A Tale of Striped Potatoes. *APSnet Feature Articles*, . DOI : 10.1094/APSnetFeature-2010-0110.
- Crouch, J. A., Clarke, B. B., Hillman, B. I., 2006. Unraveling evolutionary relationships among the divergent lineages of *Colletotrichum* causing anthracnose disease in turfgrass and corn. *Phytopathology*, 96, 1 : 46–60.
- Crouch, J. A., Clarke, B. B., Hillman, B. I., 2009a. What is the value of ITS sequence data in *Colletotrichum* systematics and species diagnosis? A case study using the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* group. *Mycologia*, 101, 5 : 648-656. DOI : 10.3852/08-231.
- Crouch, J. A., Clarke, B. B., Jr, J. F. W., Hillman, B. I., 2009b. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species from warm-season grasses. *Mycologia*, 101, 5 : 717-732. DOI : 10.3852/08-230.
- Crouch, J., O’Connell, R., Gan, P., Buiate, E., Torres, M. F., Beirn, L., Shirasu, K., Vaillancourt, L., 2014. The genomics of *Colletotrichum*. *Genomics of Plant-Associated Fungi: Monocot Pathogens*. Springer.
- da Costa, R. V., Cota, L. V., da Silva, D. D., Parreira, D. F., Casela, C. R., Landau, E. C., Figueiredo, J. E. F., 2014. Races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to maize in Brazil. *Crop Protection*, 56, : 44-49. DOI : 10.1016/j.cropro.2013.10.005.
- Dalpe, Y., 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, 86, 1 : 53-59. DOI : <https://doi.org/10.7202/011715ar>.
- Dalpe, Y., de Souza, F. A., Declerck, S., 2005. Life Cycle of *Glomus* Species in Monoxenic Culture. In Declerck, S., Fortin, J. A., Strullu, D.-G. (dir.). *In-vitro Culture of Mycorrhizas*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. DOI : 10.1007/3-540-27331-X\_4.
- D’Amelio, R., Berta, G., Gamalero, E., Massa, N., Avidano, L., Cantamessa, S., D’Agostino, G., Bosco, D., Marzachi, C., 2011. Increased plant tolerance against *Chrysanthemum* yellows *phytoplasma* (‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’) following double inoculation with *Glomus mosseae* BEG12 and *Pseudomonas putida* S1Pf1Rif. *Plant Pathology*, 60, 6 : 1014-1022. DOI : 10.1111/j.1365-3059.2011.02479.x.

- Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, P.-A., 2016. Global Synthesis of Drought Effects on Maize and Wheat Production. *PLOS ONE*, 11, 5 : e0156362. DOI : 10.1371/journal.pone.0156362.
- Das, T., Kutty, S. K., Tavallaie, R., Ibugo, A. I., Panchompoo, J., Sehar, S., Aldous, L., Yeung, A. W. S., Thomas, S. R., Kumar, N., Gooding, J. J., Manefield, M., 2015. Phenazine virulence factor binding to extracellular DNA is important for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Scientific Reports*, 5, 1 : 1-9. DOI : 10.1038/srep08398.
- Davies, W. J., Kudoyarova, G., Hartung, W., 2005. Long-distance ABA Signaling and Its Relation to Other Signaling Pathways in the Detection of Soil Drying and the Mediation of the Plant's Response to Drought. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, 4 : 285-295. DOI : 10.1007/s00344-005-0103-1.
- de Fay, E., 2011. Histo- and cytopathology of trunk phloem necrosis, a form of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) tapping panel dryness. *Australian Journal of Botany*, 59, 6 : 563-574. DOI : 10.1071/BT11070.
- De Geyter, N., Gholami, A., Goormachtig, S., Goossens, A., 2012. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism. *Trends in plant science*, 17, 6 : 349–359.
- Debona, D., Rodrigues, F. A., Datnoff, L. E., 2017. Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 1 : 85-107. DOI : 10.1146/annurev-phyto-080516-035312.
- Declerck, S., Plenchette, C., Strullu, D. G., 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil*, 176, 1 : 183-187. DOI : 10.1007/BF00017688.
- Delaney, S. M., Mavrodi, D. V., Bonsall, R. F., Thomashow, L. S., 2001. phzO, a Gene for Biosynthesis of 2-Hydroxylated Phenazine Compounds in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. *Journal of Bacteriology*, 183, 1 : 318-327. DOI : 10.1128/JB.183.1.318-327.2001.
- Delaux, P.-M., Radhakrishnan, G. V., Jayaraman, D., Cheema, J., Malbreil, M., Volkening, J. D., Sekimoto, H., Nishiyama, T., Melkonian, M., Pokorny, L., Rothfels, C. J., Sederoff, H. W., Stevenson, D. W., Surek, B., Zhang, Y., Sussman, M. R., Dunand, C., Morris, R. J., Roux, C., Wong, G. K.-S., Oldroyd, G. E. D., Ané, J.-M., 2015. Algal ancestor of land plants was preadapted for symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 43 : 13390-13395. DOI : 10.1073/pnas.1515426112.
- Delker, C., Stenzel, I., Hause, B., Miersch, O., Feussner, I., Wasternack, C., 2006. Jasmonate Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* - Enzymes, Products, Regulation. *Plant Biology*, 8, 3 : 297-306. DOI : 10.1055/s-2006-923935.
- Demidchik, V., 2015. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, : 212-228. DOI : 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021.

- Djonović, S., Vargas, W. A., Kolomiets, M. V., Horndeski, M., Wiest, A., Kenerley, C. M., 2007. A Proteinaceous Elicitor Sm1 from the Beneficial Fungus *Trichoderma virens* Is Required for Induced Systemic Resistance in Maize. *Plant Physiology*, 145, 3 : 875-889. DOI : 10.1104/pp.107.103689.
- Doebley, J. F., Iltis, H. H., 1980. Taxonomy of *Zea* (gramineae). I. a Subgeneric Classification with Key to Taxa. *American Journal of Botany*, 67, 6 : 982-993. DOI : 10.1002/j.1537-2197.1980.tb07730.x.
- Driscoll, W. W., Pepper, J. W., Pierson, L. S., Pierson, E. A., 2011. Spontaneous Gac Mutants of *Pseudomonas* Biological Control Strains: Cheaters or Mutualists? *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 20 : 7227-7235. DOI : 10.1128/AEM.00679-11.
- Duchaufour, P., 1977. *Pédologie: Tome 1: Pédogenèse et classification*. Masson S.A.
- Duffus, J. E., Liu, H.-Y., Wisler, G. C., 1996. Tomato infectious chlorosis virus—A new clostero-like virus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 102, 3 : 219–226.
- Echegaray, E. R., Rondon, S. I., 2017. Incidence of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) under different pesticide regimes in the lower Columbia basin. *Journal of Economic Entomology*, 110, 4 : 1639-1647. DOI : 10.1093/jee/tox135.
- Ekbic, E., Cagıran, C., Korkmaz, K., Kose, M. A., Aras, V., Ekbic, E., Cagıran, C., Korkmaz, K., Kose, M. A., Aras, V., 2017. Assessment of watermelon accessions for salt tolerance using stress tolerance indices. *Ciência e Agrotecnologia*, 41, 6 : 616-625. DOI : 10.1590/1413-70542017416013017.
- Estaún, V., Calvet, C., Camprubí, A., 2010. Effect of differences among crop species and cultivars on the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Springer.
- Eubanks, M. W., 2001. The Mysterious Origin of Maize. *Economic Botany*, 55, 4 : 492-514.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., Huang, J., 2017. Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Frontiers in Plant Science*, 8, . DOI : 10.3389/fpls.2017.01147.
- Farag, M. A., Zhang, H., Ryu, C.-M., 2013. Dynamic Chemical Communication between Plants and Bacteria through Airborne Signals: Induced Resistance by Bacterial Volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 7 : 1007-1018. DOI : 10.1007/s10886-013-0317-9.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S. M. A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 1 : 185-212. DOI : 10.1051/agro:2008021.

- Feng, G., Zhang, F. S., Li, X. L., Tian, C. Y., Tang, C., Rengel, Z., 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12, 4 : 185-190. DOI : 10.1007/s00572-002-0170-0.
- Fernandez, G. C. J., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. *Proceeding of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress, Aug. 13-16, Shanhua, Taiwan, 1992*, : 257-270.
- Ferreira, P. A. A., Ceretta, C. A., Tiecher, T., Facco, D. B., Garlet, L. P., Soares, C. R. F. S., Soriani, H. H., Nicoloso, F. T., Giachini, A. J., Brunetto, G., Cornejo, P., Ferreira, P. A. A., Ceretta, C. A., Tiecher, T., Facco, D. B., Garlet, L. P., Soares, C. R. F. S., Soriani, H. H., Nicoloso, F. T., Giachini, A. J., Brunetto, G., Cornejo, P., 2018. *Rhizophagus clarus* and Phosphorus in *Crotalaria juncea*: Growth, Glomalin Content and Acid Phosphatase Activity in a Copper-Contaminated Soil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 42, . DOI : 10.1590/18069657rbcS20170245.
- Feussner, I., Kühn, H., 1995. The lipid body lipooxygenase from cucumber seedlings exhibits unusual reaction specificity. *FEBS letters*, 367, 1 : 12-14.
- Feussner, I., Wasternack, C., 2002. The Lipooxygenase Pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 1 : 275-297. DOI : 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248.
- Field, K. J., Leake, J. R., Tille, S., Allinson, K. E., Rimington, W. R., Bidartondo, M. I., Beerling, D. J., Cameron, D. D., 2015. From mycoheterotrophy to mutualism: mycorrhizal specificity and functioning in *Ophioglossum vulgatum* sporophytes. *New Phytologist*, 205, 4 : 1492-1502. DOI : 10.1111/nph.13263.
- Finan, J. D., Guilak, F., 2010. The effects of osmotic stress on the structure and function of the cell nucleus. *Journal of cellular biochemistry*, 109, 3 : 460-467. DOI : 10.1002/jcb.22437.
- Fiorilli, V., Catoni, M., Miozzi, L., Novero, M., Accotto, G. P., Lanfranco, L., 2009. Global and cell-type gene expression profiles in tomato plants colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, 184, 4 : 975-987. DOI : 10.1111/j.1469-8137.2009.03031.x.
- Fiorilli, V., Vannini, C., Ortolani, F., Garcia-Seco, D., Chiapello, M., Novero, M., Domingo, G., Terzi, V., Morcia, C., Bagnaresi, P., Moulin, L., Bracale, M., Bonfante, P., 2018. Omics approaches revealed how arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances yield and resistance to leaf pathogen in wheat. *Scientific Reports*, 8, 1 : 9625. DOI : 10.1038/s41598-018-27622-8.
- Fischer, E. M., Knutti, R., 2015. Anthropogenic contribution to global occurrence of heavy-precipitation and high-temperature extremes. *Nature Climate Change*, 5, 6 : 560-564. DOI : 10.1038/nclimate2617.



- Foo, E., Ross, J. J., Jones, W. T., Reid, J. B., 2013. Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins. *Annals of botany*, 111, 5 : 769–779.
- Foo, E., Turnbull, C. G. N., Beveridge, C. A., 2001. Long-Distance Signaling and the Control of Branching in *therms1* Mutant of Pea. *Plant Physiology*, 126, 1 : 203-209. DOI : 10.1104/pp.126.1.203.
- Fotso, B., Nandjui, J., Bi Voko, D. R. R., Amoa, A. J., Niemenak, N., 2019. Native arbuscular mycorrhizal fungi increased resistance of two plantain varieties (Fhia 21 and Orishele), under water deficit conditions in Cote d'Ivoire. *Microbiology and Nature*, 1, 1 : 16-28. DOI : 10.26167/xxwd-j920.
- Gamon, J. A., Serrano, L., Surfus, J. S., 1997. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia*, 112, 4 : 492-501. DOI : 10.1007/s004420050337.
- Gao, M., Coggin, A., Yagnik, K., Teplitski, M., 2012. Role of Specific Quorum-Sensing Signals in the Regulation of Exopolysaccharide II Production within *Sinorhizobium meliloti* Spreading Colonies. *PLoS ONE*, 7, 8 : e42611. DOI : 10.1371/journal.pone.0042611.
- Gao, X., Brodhagen, M., Isakeit, T., Brown, S. H., Göbel, C., Betran, J., Feussner, I., Keller, N. P., Kolomiets, M. V., 2009. Inactivation of the lipoxygenase ZmLOX3 increases susceptibility of maize to *Aspergillus* spp. *Molecular plant-microbe interactions*, 22, 2 : 222–231.
- Gao, X., Shim, W.-B., Göbel, C., Kunze, S., Feussner, I., Meeley, R., Balint-Kurti, P., Kolomiets, M., 2007. Disruption of a maize 9-lipoxygenase results in increased resistance to fungal pathogens and reduced levels of contamination with mycotoxin fumonisin. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 20, 8 : 922-933. DOI : 10.1094/MPMI-20-8-0922.
- Gao, X., Starr, J., Göbel, C., Engelberth, J., Feussner, I., Tumlinson, J., Kolomiets, M., 2008. Maize 9-lipoxygenase ZmLOX3 controls development, root-specific expression of defense genes, and resistance to root-knot nematodes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21, 1 : 98–109.
- Garbaye, J., 2013. *La symbiose mycorrhizienne: une association entre les plantes et les champignons*. Editions Quae.
- Garbulsky, M. F., Peñuelas, J., Gamon, J., Inoue, Y., Filella, I., 2011. The photochemical reflectance index (PRI) and the remote sensing of leaf, canopy and ecosystem radiation use efficiencies: A review and meta-analysis. *Remote Sensing of Environment*, 115, 2 : 281-297. DOI : 10.1016/j.rse.2010.08.023.
- Gardener, B. B. M., Fravel, D. R., 2002. Biological Control of Plant Pathogens: Research, Commercialization, and Application in the USA. *Plant Health Progress*, . DOI : 10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.

- Garrido, J. M. G., Morcillo, R. J. L., Rodríguez, J. Á. M., Bote, J. A. O., 2010. Variations in the mycorrhization characteristics in roots of wild-type and ABA-deficient tomato are accompanied by specific transcriptomic alterations. *Molecular plant-microbe interactions*, 23, 5 : 651–664.
- Gautam, S., Chauhan, A., Sharma, R., Sehgal, R., Shirkot, C. K., 2019. Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of bacterial canker of tomato incited by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. *Microbial pathogenesis*, 130, : 196–203.
- Gébelin, V., 2006. Etude de l'expression des gènes impliqués dans la tolérance au stress oxydatif chez *Hevea brasiliensis* en réponse à différents traitements. Master Thesis, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc, France.
- Gébelin, V., Leclercq, J., Kuswanhadi, Argout, X., Chaidamsari, T., Hu, S., Tang, C., Sarah, G., Yang, M., Montoro, P., 2013. The small RNA profile in latex from *Hevea brasiliensis* trees is affected by tapping panel dryness. *Tree Physiology*, 33, 10 : 1084-1098. DOI : 10.1093/treephys/tpt076.
- Gehrig, H., Schüssler, A., Kluge, M., 1996. *Geosiphon pyriforme*, a fungus forming endocytobiosis with *Nostoc* (cyanobacteria), is an ancestral member of the *Glomales*: evidence by SSU rRNA analysis. *Journal of Molecular Evolution*, 43, 1 : 71-81.
- Gehring, C., Bennett, A., 2009. Mycorrhizal fungal–plant–insect interactions: the importance of a community approach. *Environmental Entomology*, 38, 1 : 93-102. DOI : 10.1603/022.038.0111.
- Genre, A., Russo, G., 2016. Does a Common Pathway Transduce Symbiotic Signals in Plant–Microbe Interactions? *Frontiers in Plant Science*, 7, . DOI : 10.3389/fpls.2016.00096.
- Gerdemann, J. W., Nicolson, T. H., 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological society*, 46, 2 : 235–244.
- Ghorchiani, M., Etesami, H., Alikhani, H. A., 2018. Improvement of growth and yield of maize under water stress by co-inoculating an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant growth promoting rhizobacterium together with phosphate fertilizers. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 258, : 59-70. DOI : 10.1016/j.agee.2018.02.016.
- Gillard, L., Stévenin, A., Schmitz-Afonso, I., Vauzeilles, B., Boyer, F.-D., Beau, J.-M., 2013. Synthesis of the Fungal Lipo-Chitoooligosaccharide Myc-IV (C16:0, S), Symbiotic Signal of Arbuscular Mycorrhiza. *European Journal of Organic Chemistry*, 2013, 32 : 7382-7390. DOI : 10.1002/ejoc.201301015.
- Giovannetti, M., 2008. Structure, Extent and Functional Significance of Belowground Arbuscular Mycorrhizal Networks. *Mycorrhiza*. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI : 10.1007/978-3-540-78826-3\_3.

- Giovannetti, M., Mari, A., Novero, M., Bonfante, P., 2015. Early *Lotus japonicus* root transcriptomic responses to symbiotic and pathogenic fungal exudates. *Plant Biotic Interactions*, : 480. DOI : 10.3389/fpls.2015.00480.
- Giovannetti, M., Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, 84, 3 : 489-500.
- Goh, C.-H., Veliz Vallejos, D. F., Nicotra, A. B., Mathesius, U., 2013. The Impact of Beneficial Plant-Associated Microbes on Plant Phenotypic Plasticity. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 7 : 826-839. DOI : 10.1007/s10886-013-0326-8.
- Goh, H.-H., Ng, C. L., Loke, K.-K., 2018. Functional Genomics. In Aizat, W. M., Goh, H.-H., Baharum, S. N. (dir.). *Omics Applications for Systems Biology*. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer International Publishing, Cham. DOI : 10.1007/978-3-319-98758-3\_2.
- Gomez, M. A., Lin, Z. D., Moll, T., Chauhan, R. D., Hayden, L., Renninger, K., Beyene, G., Taylor, N. J., Carrington, J. C., Staskawicz, B. J., Bart, R. S., 2019. Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava eIF4E isoforms nCBP-1 and nCBP-2 reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence. *Plant Biotechnology Journal*, 17, 2 : 421-434. DOI : 10.1111/pbi.12987.
- Grechkin, A., 1998. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. *Progress in Lipid Research*, 37, 5 : 317-352.
- Guillemin, J. P., Gianinazzi, S., Trouvelot, A., 1992. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. *Herrmann*, 12, 10 : 831–836.
- Guo, X., Zhang, L., Wang, X., Zhang, M., Xi, Y., Wang, A., Zhu, J., 2019. Overexpression of *Saussurea involucrata* dehydrin gene SiDHN promotes cold and drought tolerance in transgenic tomato plants. *PLOS ONE*, 14, 11 : e0225090. DOI : 10.1371/journal.pone.0225090.
- Haapalainen, M., 2014. Biology and epidemics of *Candidatus Liberibacter* species, psyllid-transmitted plant-pathogenic bacteria. *Annals of Applied Biology*, 165, 2 : 172–198.
- Haapalainen, M., Kivimäki, P., Latvala, S., Rastas, M., Hannukkala, A., Jauhiainen, L., Lemmetty, A., Pirhonen, M., Virtanen, A., Nissinen, A. I., 2017. Frequency and occurrence of the carrot pathogen ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ haplotype C in Finland. *Plant Pathology*, 66, 4 : 559-570.
- Haapalainen, M., Latvala, S., Wickström, A., Wang, J., Pirhonen, M., Nissinen, A. I., 2019. A novel haplotype of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ found in *Apiaceae* and *Polygonaceae* family plants. *European Journal of Plant Pathology*, . DOI : 10.1007/s10658-019-01890-0.

- Haapalainen, M., Wang, J., Latvala, S., Lehtonen, M. T., Pirhonen, M., Nissinen, A. I., 2018. Genetic variation of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ haplotype C and identification of a novel haplotype from *Trioza urticae* and stinging nettle. *Phytopathology*, 108, 8 : 925-934.
- Haas, D., Défago, G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 4 : 307-319. DOI : 10.1038/nrmicro1129.
- Haichar, F. el Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J. I., Prosser, J. I., Balesdent, J., Heulin, T., Achouak, W., 2008. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The ISME Journal*, 2, 12 : 1221-1230. DOI : 10.1038/ismej.2008.80.
- Hajri, A., Cousseau-Suhard, P., Gentit, P., Loiseau, M., 2019. New Insights into the Genetic Diversity of the Bacterial Plant Pathogen ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ as Revealed by a New Multilocus Sequence Analysis Scheme. *bioRxiv*, : 623405. DOI : 10.1101/623405.
- Hajri, A., Loiseau, M., Cousseau-Suhard, P., Renaudin, I., Gentit, P., 2017. Genetic Characterization of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ Haplotypes Associated with Apiaceous Crops in France. *Plant Disease*, 101, 8 : 1383-1390. DOI : 10.1094/PDIS-11-16-1686-RE.
- Hamberg, M., Su, C., Oliw, E., 1998. Manganese lipoxygenase. Discovery of a bis-allylic hydroperoxide as product and intermediate in a lipoxygenase reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 21 : 13080-13088.
- Hamza, N., 2014. Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*). mémoire. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., Paine, T. D., 2008. A new Huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllauros*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Šulc). *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 18 : 5862-5865. DOI : 10.1128/AEM.01268-08.
- Hasegawa, T., Kato, Y., Okabe, A., Itoi, C., Ooshiro, A., Kawaide, H., Natsume, M., 2019. Effect of Secondary Metabolites of Tomato (*Solanum lycopersicum*) on Chemotaxis of *Ralstonia solanacearum*, Pathogen of Bacterial Wilt Disease. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67, 7 : 1807–1813.
- Hastorf, C. A., 2009. Rio Balsas most likely region for maize domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 13 : 4957-4958. DOI : 10.1073/pnas.0900935106.
- Hause, B., Mrosk, C., Isayenkov, S., Strack, D., 2007. Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. *Phytochemistry*, 68, 1 : 101-110. DOI : 10.1016/j.phytochem.2006.09.025.

- Hause, B., Schaarschmidt, S., 2009. The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. *Phytochemistry*, 70, 13-14 : 1589-1599. DOI : 10.1016/j.phytochem.2009.07.003.
- Hause, B., Wasternack, C., Strack, D., 2009. Jasmonates in stress responses and development. *Phytochemistry*, 70, 13–14 : 1483-1484. DOI : 10.1016/j.phytochem.2009.07.004.
- He, F., Sheng, M., Tang, M., 2017. Effects of *Rhizophagus irregularis* on Photosynthesis and Antioxidative Enzymatic System in *Robinia pseudoacacia* L. under Drought Stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, . DOI : 10.3389/fpls.2017.00183.
- Headley, J. V., Peru, K. M., Verma, B., Robarts, R. D., 2002. Mass spectrometric determination of ergosterol in a prairie natural wetland. *Journal of Chromatography A*, 958, 1 : 149-156. DOI : 10.1016/S0021-9673(02)00326-6.
- Heidari, M., Mousavinik, S. M., Golpayegani, A., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (*Ocimum basilicum* L.) under water stress. *ARPJ Agric Biol Sci*, 6, 5 : 6–11.
- Heinz, K. M., Zalom, F. G., 1995. Variation in trichome-based resistance to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition on tomato. *Journal of Economic Entomology*, 88, 5 : 1494–1502.
- Heitz, T., Dhondt, S., Gouzerh, G., Geoffroy, P., Legrand, M., 2002. Des dérivés d'acides gras dans la résistance des plantes aux attaques microbiennes : à la recherche d'acyl hydrolases impliquées dans la synthèse des oxylipines. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 9, 1 : 37-42. DOI : 10.1051/ocl.2002.0037.
- Henry, A., Doucette, W., Norton, J., Bugbee, B., 2007. Changes in Crested Wheatgrass Root Exudation Caused by Flood, Drought, and Nutrient Stress. *Journal of Environmental Quality*, 36, 3 : 904-912. DOI : 10.2134/jeq2006.0425sc.
- Herrera-Medina, M. J., Tamayo, M. I., Vierheilig, H., Ocampo, J. A., García-Garrido, J. M., 2008. The jasmonic acid signalling pathway restricts the development of the arbuscular mycorrhizal association in tomato. *Journal of Plant Growth Regulation*, 27, 3 : 221.
- Herrero, M. R., Johnson, R. R., 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop science*, 21, : 105-110.
- Herrmann, L., Bräu, L., Robin, A., Robain, H., Wiriyaakitnateekul, W., Lesueur, D., 2016. High colonization by native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of rubber trees in small-holder plantations on low

- fertility soils in North East Thailand. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62, 7 : 1041-1048. DOI : 10.1080/03650340.2015.1110238.
- Heuvelink, E., 2005. *Tomatoes (Crop production science in horticulture)*. Oxford, CAB International.
- Heuvelink, E., 2018. *Tomatoes*. CABI.
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., Vilgalys, R., Aime, M. C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G. L., Castlebury, L. A., Crous, P. W., Dai, Y.-C., Gams, W., Geiser, D. M., Griffith, G. W., Gueidan, C., Hawksworth, D. L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R. A., Hyde, K. D., Ironside, J. E., Kõljalg, U., Kurtzman, C. P., Larsson, K.-H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miądlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J.-M., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J. D., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J. P., Schüßler, A., Sugiyama, J., Thorn, R. G., Tibell, L., Untereiner, W. A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M. M., Winka, K., Yao, Y.-J., Zhang, N., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111, 5 : 509-547. DOI : 10.1016/j.mycres.2007.03.004.
- Hoeksema, J. D., Bever, J. D., Chakraborty, S., Chaudhary, V. B., Gardes, M., Gehring, C. A., Hart, M. M., Housworth, E. A., Kaonongbua, W., Klironomos, J. N., Lajeunesse, M. J., Meadow, J., Milligan, B. G., Piculell, B. J., Pringle, A., Rúa, M. A., Umbanhowar, J., Viechtbauer, W., Wang, Y.-W., Wilson, G. W. T., Zee, P. C., 2018. Evolutionary history of plant hosts and fungal symbionts predicts the strength of mycorrhizal mutualism. *Communications Biology*, 1, 1 : 116. DOI : 10.1038/s42003-018-0120-9.
- Hong-Bo, S., Zong-Suo, L., Ming-An, S., 2005. LEA proteins in higher plants: Structure, function, gene expression and regulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45, 3 : 131-135. DOI : 10.1016/j.colsurfb.2005.07.017.
- Hoopen, E.-T. M., Maïga, A., 2012. *Production et transformation du maïs*. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation.
- Horton, D. R., 2018. Research Project: Development of a Biocontrol Strategy for Reducing or Eliminating Potato Zebra Chip using Streptomyces. Disponible sur <https://www.ars.usda.gov/research/project/?accnNo=426774>, consulté le 27/12/2018.

- Hosseini, F., Mosaddeghi, M. R., Dexter, A. R., Sepehri, M., 2018. Maize water status and physiological traits as affected by root endophytic fungus *Piriformospora indica* under combined drought and mechanical stresses. *Planta*, 247, 5 : 1229–1245.
- Howe, G. A., Jander, G., 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 1 : 41-66. DOI : 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
- Howe, G. A., Schillmiller, A. L., 2002. Oxylinin metabolism in response to stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 3 : 230-236.
- Hu, J., Jiang, J., Wang, N., 2017. Control of *Citrus* Huanglongbing via trunk injection of plant defense activators and antibiotics. *Phytopathology*, 108, 2 : 186-195. DOI : 10.1094/PHYTO-05-17-0175-R.
- Ibanez, F., Levy, J., Tamborindeguy, C., 2014. Transcriptome Analysis of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in Its Psyllid Vector, *Bactericera cockerelli*. *PLOS ONE*, 9, 7 : e100955. DOI : 10.1371/journal.pone.0100955.
- İnceoğlu, Ö., Falcão Salles, J., van Elsas, J. D., 2012. Soil and Cultivar Type Shape the Bacterial Community in the Potato Rhizosphere. *Microbial Ecology*, 63, 2 : 460-470. DOI : 10.1007/s00248-011-9930-8.
- Isakeit, T., Gao, X., Kolomiets, M., 2007. Increased Resistance of a Maize Mutant Lacking the 9-Lipoxygenase Gene, ZmLOX3, to Root Rot Caused by *Exserohilum pedicellatum*. *Journal of Phytopathology*, 155, 11-12 : 758-760. DOI : 10.1111/j.1439-0434.2007.01301.x.
- Isayenkov, S., Mrosk, C., Stenzel, I., Strack, D., Hause, B., 2005. Suppression of Allene Oxide Cyclase in Hairy Roots of *Medicago truncatula* Reduces Jasmonate Levels and the Degree of Mycorrhization with *Glomus intraradices*. *Plant Physiology*, 139, 3 : 1401-1410. DOI : 10.1104/pp.105.069054.
- Javot, H., Pumplin, N., Harrison, M. J., 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell & Environment*, 30, 3 : 310-322. DOI : 10.1111/j.1365-3040.2006.01617.x.
- Jeun, Y. C., Kim, K. W., Kim, K. D., Hyun, J. W., 2007. Comparative Ultrastructure of Cucumbers Pretreated with Plant Growth-promoting Rhizobacteria, dl-3-aminobutyric Acid or Amino Salicylic Acid after Inoculation with *Colletotrichum orbiculare*. *Journal of phytopathology*, 155, 7-8 : 416–425.
- Jeun, Y. C., Lee, Y. J., Kim, K. W., Kim, S. J., Lee, S. W., 2008. Ultrastructures of *Colletotrichum orbiculare* in the Leaves of Cucumber Plants Expressing Induced Systemic Resistance Mediated by *Glomus intraradices* BEG110. *Mycobiology*, 36, 4 : 236-241. DOI : 10.4489/MYCO.2008.36.4.236.

- Jeun, Y.-C., Lee, K.-H., 2005. Observations of Infection Structures after Inoculation with *Colletotrichum orbiculare* on the Leaves of *Cucumber* Plants Pre-inoculated with Two Bacterial Strains *Pseudomonas putida* or *Micrococcus luteus*. *Mycobiology*, 33, 3 : 131-136. DOI : 10.4489/MYCO.2005.33.3.131.
- Jung, S. C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J. A., Pozo, M. J., 2012. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of Chemical Ecology*, 38, 6 : 651-664. DOI : 10.1007/s10886-012-0134-6.
- Juroszek, P., Tiedemann, A. von, 2013. Climatic changes and the potential future importance of maize diseases: a short review. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 120, 2 : 49-56. DOI : 10.1007/BF03356454.
- Kamel, L., Tang, N., Malbreil, M., San Clemente, H., Le Marquer, M., Roux, C., Frei dit Frey, N., 2017. The Comparison of Expressed Candidate Secreted Proteins from Two Arbuscular Mycorrhizal Fungi Unravels Common and Specific Molecular Tools to Invade Different Host Plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, . DOI : 10.3389/fpls.2017.00124.
- Katan, J., 2009. Mineral Nutrient Management and Plant Disease. Disponible sur <https://www.ipipotash.org/ar/eifc/2009/21/3>, consulté le 31/05/2017.
- Katz, E., 2006. Carraretto Maryse, Histoires de maïs. D'une divinité amérindienne à ses avatars transgéniques, Éditions du CTHS, Paris, 2005, 267 p., bibl., ill., photos, tabl. *Journal de la société des américanistes*, 92, 92-1 et 2.
- Khalid, A., Khan, R. A. A., Ahmad, M., Ali, A., Alam, S. S., Naz, I., 2019. Management of bacterial canker of tomato caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith and Davis et al.) using different antibiotics. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 8, 2 : 1841–1849.
- Khalvati, M. A., Hu, Y., Mozafar, A., Schmidhalter, U., 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 7, 6 : 706-712. DOI : 10.1055/s-2005-872893.
- Kim, S. K., Adetimirin, V. O., Thé, C., Dossou, R., 2002. Yield losses in maize due to *Striga hermonthica* in West and Central Africa. *International Journal of Pest Management*, 48, 3 : 211-217. DOI : 10.1080/09670870110117408.
- Kim, Y. C., Leveau, J., Gardener, B. B. M., Pierson, E. A., Pierson, L. S., Ryu, C.-M., 2011. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 5 : 1548–1555.



- Kissoudis, C., Sunarti, S., van de Wiel, C., Visser, R. G. F., van der Linden, C. G., Bai, Y., 2016. Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *Journal of Experimental Botany*, 67, 17 : 5119-5132. DOI : 10.1093/jxb/erw285.
- Kleemann, J., Rincon-Rivera, L. J., Takahara, H., Neumann, U., Themaat, E. V. L. van, Does, H. C. van der, Hacquard, S., Stüber, K., Will, I., Schmalenbach, W., Schmelzer, E., O'Connell, R. J., 2012. Sequential Delivery of Host-Induced Virulence Effectors by Appressoria and Intracellular Hyphae of the Phytopathogen *Colletotrichum higginsianum*. *PLOS Pathogens*, 8, 4 : e1002643. DOI : 10.1371/journal.ppat.1002643.
- Koffi, E. N., Le Guernevé, C., Lozano, P. R., Meudec, E., Adjé, F. A., Bekro, Y.-A., Lozano, Y. F., 2013. Polyphenol extraction and characterization of *Justicia secunda* Vahl leaves for traditional medicinal uses. *Industrial crops and products*, 49, : 682–689.
- Koo, J. C., Chun, H. J., Park, H. C., Kim, M. C., Koo, Y. D., Koo, S. C., Ok, H. M., Park, S. J., Lee, S.-H., Yun, D.-J., Lim, C. O., Bahk, J. D., Lee, S. Y., Cho, M. J., 2002. Over-expression of a seed specific hevein-like antimicrobial peptide from *Pharbitis nil* enhances resistance to a fungal pathogen in transgenic tobacco plants. *Plant Molecular Biology*, 50, 3 : 441-452. DOI : 10.1023/a:1019864222515.
- Koricheva, J., Gange, A. C., Jones, T., 2009. Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: a meta-analysis. *Ecology*, 90, 8 : 2088-2097. DOI : 10.1890/08-1555.1.
- Kotchi, S. O., 2004. Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge : application à la culture de la pomme de terre.
- Kouadio, K. T., Kouadio, D., Atcham, A. T., Soro, N., Bah, C. P., 2017. Panel tapping management and trunk phloem necrosis of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) in Ivory Coast. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, 3, 3 .
- Kouakou, C. K., Akanvou, L., Konan, Y. A., Mahyao, A., 2010. Stratégies paysannes de maintien et de gestion de la biodiversité du maïs (*Zea mays* L.) dans le département de Katiola, Côte d'Ivoire. *Journal of applied Biosciences*, 33, 9 : 2100–2109.
- Kuklinsky-Sobral, J., Araújo, W. L., Mendes, R., Geraldi, I. O., Pizzirani-Kleiner, A. A., Azevedo, J. L., 2004. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology*, 6, 12 : 1244-1251. DOI : 10.1111/j.1462-2920.2004.00658.x.

- Laib, I., Barkat, M., 2018. Optimization of Conditions for Extraction of Polyphenols and the Determination of the Impact of Cooking on Total Polyphenolic, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of Potato. *Foods*, 7, 3 . DOI : 10.3390/foods7030036.
- Laparre, J., Malbreil, M., Letisse, F., Portais, J. C., Roux, C., Bécard, G., Puech-Pagès, V., 2014. Combining Metabolomics and Gene Expression Analysis Reveals that Propionyl- and Butyryl-Carnitines Are Involved in Late Stages of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Molecular Plant*, 7, 3 : 554-566. DOI : 10.1093/mp/sst136.
- Latour, X., Corberand, T., Laguerre, G., Allard, F., Lemanceau, P., 1996. The Composition of Fluorescent Pseudomonad Populations Associated with Roots Is Influenced by Plant and Soil Type. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 7 : 2449-2456.
- Latunde-Dada, A. O., O'Connell, R. J., Nash, C., Pring, R. J., Lucas, J. A., Bailey, J. A., 1996. Infection process and identity of the hemibiotrophic anthracnose fungus (*Colletotrichum destructivum*) from cowpea (*Vigna unguiculata*). *Mycological Research*, 100, 9 : 1133-1141. DOI : 10.1016/S0953-7562(96)80226-7.
- Leclerc, J.-C., 1999. *Ecophysiologie végétale*. Université de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France.
- León-Morcillo, R. J., Ángel, J., Martín-Rodríguez, Vierheilig, H., Ocampo, J. A., García-Garrido, J. M., 2012a. Late activation of the 9-oxylipin pathway during arbuscular mycorrhiza formation in tomato and its regulation by jasmonate signalling. *Journal of Experimental Botany*, 63, 10 : 3545-3558. DOI : 10.1093/jxb/ers010.
- León-Morcillo, R. J., Navarrete, M. I. T., Bote, J. A. O., Monguio, S. P., García-Garrido, J. M., 2016. Suppression of allene oxide synthase 3 in potato increases degree of arbuscular mycorrhizal fungal colonization. *Journal of Plant Physiology*, 190, : 15-25. DOI : 10.1016/j.jplph.2015.11.003.
- León-Morcillo, R. J., Ocampo, J. A., García Garrido, J. M., 2012b. Plant 9-lox oxylipin metabolism in response to arbuscular mycorrhiza. *Plant Signaling & Behavior*, 7, 12 : 1584-1588. DOI : 10.4161/psb.22098.
- Lesic, B., Rahme, L. G., 2008. Use of the lambda Red recombinase system to rapidly generate mutants in *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Molecular Biology*, 9, 1 : 20. DOI : 10.1186/1471-2199-9-20.
- LeTourneau, M. K., Marshall, M. J., Cliff, J. B., Bonsall, R. F., Dohnalkova, A. C., Mavrodi, D. V., Devi, S. I., Mavrodi, O. V., Harsh, J. B., Weller, D. M., Thomashow, L. S., 2018. Phenazine-1-carboxylic acid and soil moisture influence biofilm development and turnover of rhizobacterial biomass on wheat root surfaces. *Environmental Microbiology*, 20, 6 : 2178-2194. DOI : 10.1111/1462-2920.14244.

- Levy, J. G., Scheuring, D. C., Koym, J. W., Henne, D. C., Tamborindeguy, C., Pierson, E., Miller, J. C., 2015. Investigations on putative Zebra Chip tolerant potato selections. *American Journal of Potato Research*, 92, 3 : 417-425. DOI : 10.1007/s12230-015-9452-x.
- Levy, J., Hancock, J., Ravindran, A., Gross, D., Tamborindeguy, C., Pierson, E., 2013. Methods for rapid and effective PCR-based detection of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ from the insect vector *Bactericera cockerelli*: streamlining the DNA extraction/purification process. *Journal of Economic Entomology*, 106, 3 : 1440-1445. DOI : 10.1603/EC12419.
- Levy, J., Ravindran, A., Gross, D., Tamborindeguy, C., Pierson, E., 2011. Translocation of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’, the Zebra Chip pathogen, in potato and tomato. *Phytopathology*, 101, 11 : 1285-1291.
- Li, L., Zhao, Y., McCaig, B. C., Wingerd, B. A., Wang, J., Whalon, M. E., Pichersky, E., Howe, G. A., 2004. The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development. *The Plant Cell*, 16, 1 : 126–143.
- Li, T., Lin, G., Zhang, X., Chen, Y., Zhang, S., Chen, B., 2014. Relative importance of an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) and root hairs in plant drought tolerance. *Mycorrhiza*, 24, 8 : 595-602. DOI : 10.1007/s00572-014-0578-3.
- Li, Z., Wu, N., Liu, T., Chen, H., Tang, M., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on water status and photosynthesis of *Populus cathayana* males and females under water stress. *Physiologia Plantarum*, 155, 2 : 192-204. DOI : 10.1111/ppl.12336.
- Liefting, L. W., Perez-Egusquiza, Z. C., Clover, G. R. G., Anderson, J. a. D., 2008. A new ‘*Candidatus Liberibacter*’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease*, 92, 10 : 1474-1474. DOI : 10.1094/PDIS-92-10-1474A.
- Limpens, E., Geurts, R., 2014. Plant-driven genome selection of arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Plant Pathology*, 15, 6 : 531-534. DOI : 10.1111/mpp.12149.
- Lisar, S. Y. S., Motafakkerzad, R., Hossain, M. M., Rahman, I. M. M., 2012. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. : 16p. DOI : 10.5772/39363.
- Liu, J., Maldonado-Mendoza, I., Lopez-Meyer, M., Cheung, F., Town, C. D., Harrison, M. J., 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *The Plant Journal*, 50, 3 : 529-544. DOI : 10.1111/j.1365-313X.2007.03069.x.

- Liu, Y., Song, Q., Li, D., Yang, X., Li, D., 2017. Multifunctional Roles of Plant Dehydrins in Response to Environmental Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 8, . DOI : 10.3389/fpls.2017.01018.
- Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., Elbourne, L. D. H., Stockwell, V. O., Hartney, S. L., Breakwell, K., Henkels, M. D., Tetu, S. G., Rangel, L. I., Kidarsa, T. A., Wilson, N. L., van de Mortel, J. E., Song, C., Blumhagen, R., Radune, D., Hostetler, J. B., Brinkac, L. M., Durkin, A. S., Kluepfel, D. A., Wechter, W. P., Anderson, A. J., Kim, Y. C., Pierson, L. S., Pierson, E. A., Lindow, S. E., Kobayashi, D. Y., Raaijmakers, J. M., Weller, D. M., Thomashow, L. S., Allen, A. E., Paulsen, I. T., 2012. Comparative Genomics of Plant-Associated *Pseudomonas* spp.: Insights into Diversity and Inheritance of Traits Involved in Multitrophic Interactions. *PLoS Genetics*, 8, 7 . DOI : 10.1371/journal.pgen.1002784.
- López-Ráez, J. A., Verhage, A., Fernández, I., García, J. M., Azcón-Aguilar, C., Flors, V., Pozo, M. J., 2010. Hormonal and transcriptional profiles highlight common and differential host responses to arbuscular mycorrhizal fungi and the regulation of the oxylipin pathway. *Journal of experimental botany*, 61, 10 : 2589–2601.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F., 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 1 : 541-556. DOI : 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918.
- Macedo, A. F., 2012. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism to Productivity. *Abiotic stress responses in plants: Métabolism, Productivity and Sustainability*.
- Machado, A. P. D. F., Sumere, B. R., Mekar, C., Martinez, J., Bezerra, R. M. N., Rostagno, M. A., 2019. Extraction of polyphenols and antioxidants from pomegranate peel using ultrasound: influence of temperature, frequency and operation mode. *International Journal of Food Science & Technology*, 54, 9 : 2792-2801. DOI : 10.1111/ijfs.14194.
- Maddula, V. S. R. K., Pierson, E. A., Pierson, L. S., 2008. Altering the Ratio of Phenazines in *Pseudomonas chlororaphis* (*aureofaciens*) Strain 30-84: Effects on Biofilm Formation and Pathogen Inhibition. *Journal of Bacteriology*, 190, 8 : 2759-2766. DOI : 10.1128/JB.01587-07.
- Maddula, V. S. R. K., Zhang, Z., Pierson, E. A., Pierson, L. S., 2006. Quorum sensing and phenazines are involved in biofilm formation by *Pseudomonas chlororaphis* (*aureofaciens*) strain 30-84. *Microbial Ecology*, 52, 2 : 289-301. DOI : 10.1007/s00248-006-9064-6.
- Madrid, J., 2019. Characterization of *Ralstonia solanacearum* species complex strains causing bacterial wilt of tomato in Louisiana, USA. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41, 3 : 329–338.
- Magwanga, R. O., Lu, P., Kirungu, J. N., Lu, H., Wang, X., Cai, X., Zhou, Z., Zhang, Z., Salih, H., Wang, K., Liu, F., 2018. Characterization of the late embryogenesis abundant (LEA) proteins family and

- their role in drought stress tolerance in upland cotton. *BMC Genetics*, 19, 1 : 6. DOI : 10.1186/s12863-017-0596-1.
- Malbreil, M., 2014. La biologie du champignon mycorhizien à arbuscules *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 à la lumière de la génomique et de la transcriptomique. PhD Thesis, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, France.
- Malcová, R., Gryndler, M., Hrselová, H., Vosátka, M., 2002. The effect of fulvic acids on the toxicity of lead and manganese to arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Folia Microbiologica*, 47, 5 : 521-526.
- Malkov, N., Fliegmann, J., Rosenberg, C., Gascioli, V., Timmers, A. C. J., Nurisso, A., Cullimore, J., Bono, J.-J., 2016. Molecular basis of lipo-chitooligosaccharide recognition by the lysin motif receptor-like kinase LYR3 in legumes. *Biochemical Journal*, 473, 10 : 1369-1378. DOI : 10.1042/BCJ20160073.
- Mandaokar, A. D., Goyal, R. K., Shukla, A., Bisaria, S., Bhalla, R., Reddy, V. S., Chaurasia, A., Sharma, R. P., Altosaar, I., Kumar, P. A., 2000. Transgenic tomato plants resistant to fruit borer (*Helicoverpa armigera* Hubner). *Crop Protection*, 19, 5 : 307–312.
- Manju, M. J., Benagi, V. I., Shankarappa, T. H., Vinod, K. K., Jacob, C. K., 2015. Major diseases of *Hevea brasiliensis* in rubber growing regions of South India. *Environment and Ecology*, 33, 3A : 1299-1302.
- Manzeke, G. M., Mapfumo, P., Mtambanengwe, F., Chikowo, R., Tendayi, T., Cakmak, I., 2012. Soil fertility management effects on maize productivity and grain zinc content in smallholder farming systems of Zimbabwe. *Plant and Soil*, 361, 1 : 57-69. DOI : 10.1007/s11104-012-1332-2.
- Martín-Robles, N., Lehmann, A., Seco, E., Aroca, R., Rillig, M. C., Milla, R., 2018. Impacts of domestication on the arbuscular mycorrhizal symbiosis of 27 crop species. *New Phytologist*, 218, 1 : 322-334. DOI : 10.1111/nph.14962.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., G, J. S., Buckler, E., Doebley, J., 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 9 : 6080-6084. DOI : 10.1073/pnas.052125199.
- Mauck, K. E., Sun, P., Meduri, V. R., Hansen, A. K., 2019. New *Ca* . *Liberibacter psyllae* haplotype resurrected from a 49-year-old specimen of *Solanum umbelliferum* : a native host of the psyllid vector. *Scientific Reports*, 9, 1 : 1-13. DOI : 10.1038/s41598-019-45975-6.
- Mavrodi, D. V., Blankenfeldt, W., Thomashow, L. S., 2006. Phenazine Compounds in Fluorescent *Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and Regulation. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 1 : 417-445. DOI : 10.1146/annurev.phyto.44.013106.145710.

- Mavrodi, D. V., Bonsall, R. F., Delaney, S. M., Soule, M. J., Phillips, G., Thomashow, L. S., 2001. Functional Analysis of Genes for Biosynthesis of Pyocyanin and Phenazine-1-Carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Bacteriology*, 183, 21 : 6454-6465. DOI : 10.1128/JB.183.21.6454-6465.2001.
- Mavrodi, D. V., Mavrodi, O. V., Elbourne, L. D. H., Tetu, S., Bonsall, R. F., Parejko, J., Yang, M., Paulsen, I. T., Weller, D. M., Thomashow, L. S., 2018. Long-Term Irrigation Affects the Dynamics and Activity of the Wheat Rhizosphere Microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 9, . DOI : 10.3389/fpls.2018.00345.
- Mavrodi, D. V., Mavrodi, O. V., Parejko, J. A., Bonsall, R. F., Kwak, Y.-S., Paulitz, T. C., Thomashow, L. S., Weller, D. M., 2012a. Accumulation of the Antibiotic Phenazine-1-Carboxylic Acid in the Rhizosphere of Dryland Cereals. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 3 : 804-812. DOI : 10.1128/AEM.06784-11.
- Mavrodi, D. V., Peever, T. L., Mavrodi, O. V., Parejko, J. A., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., Mazurier, S., Heide, L., Blankenfeldt, W., Weller, D. M., others, 2010. Diversity and evolution of the phenazine biosynthesis pathway. *Applied and environmental microbiology*, 76, 3 : 866–879.
- Mavrodi, O. V., Mavrodi, D. V., Parejko, J. A., Thomashow, L. S., Weller, D. M., 2012b. Irrigation Differentially Impacts Populations of Indigenous Antibiotic-Producing *Pseudomonas* spp. in the Rhizosphere of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 9 : 3214-3220. DOI : 10.1128/AEM.07968-11.
- Mawassi, M., Dror, O., Bar-Joseph, M., Piasezky, A., Sjölund, J. M., Levitzky, N., Shoshana, N., Meslenin, L., Haviv, S., Porat, C., Katsir, L., Kontsedalov, S., Ghanim, M., Zelinger-Reichert, E., Arnsdorf, Y. M., Gera, A., Bahar, O., 2018. ‘Candidatus *Liberibacter solanacearum*’ Is Tightly Associated with Carrot Yellowing Symptoms in Israel and Transmitted by the Prevalent Psyllid Vector *Bactericera trigonica*. *Phytopathology*<sup>TM</sup>, 108, 9 : 1056-1066. DOI : 10.1094/PHYTO-10-17-0348-R.
- Maya, M. A., Matsubara, Y., 2013. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. *Mycorrhiza*, 23, 5 : 381-390. DOI : 10.1007/s00572-013-0477-z.
- Mazzola, M., Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Pierson, L. S., 1992. Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 8 : 2616-2624.
- Mazzola, M., Fujimoto, D. K., Thomashow, L. S., Cook, R. J., 1995. Variation in Sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to Antibiotics Produced by Fluorescent *Pseudomonas* spp. and Effect on

- Biological Control of Take-All of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 7 : 2554-2559.
- Mazzola, M., Funnell, D. L., Raaijmakers, J. M., 2004. Wheat Cultivar-Specific Selection of 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing Fluorescent *Pseudomonas* Species from Resident Soil Populations. *Microbial Ecology*, 48, 3 : 338-348. DOI : 10.1007/s00248-003-1067-y.
- Meddich, A., Jaiti, F., Bourzik, W., El Asli, A., Hafidi, M., 2015. Use of mycorrhizal fungi as a strategy for improving the drought tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera*). *Scientia Horticulturae*, 192, : 468–474.
- Meddich, A., Oihabi, A., Abbas, Y., BIZID, E., 2000. Rôle des champignons mycorrhiziens à arbuscules de zones arides dans la résistance du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) au déficit hydrique. *Agronomie*, 20, 3 : 283-295. DOI : 10.1051/agro:2000127.
- Melo-Silveira, R. F., Fidelis, G. P., Viana, R. L. S., Soeiro, V. C., Silva, R. A. da, Machado, D., Costa, L. S., Ferreira, C. V., Oliveira Rocha, H. A., 2014. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Methanolic Extract from a Neglected Agricultural Product: Corn Cobs. *Molecules*, 19, 4 : 5360-5378. DOI : 10.3390/molecules19045360.
- Mendes, L. W., Kuramae, E. E., Navarrete, A. A., van Veen, J. A., Tsai, S. M., 2014. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *The ISME Journal*, 8, 8 : 1577-1587. DOI : 10.1038/ismej.2014.17.
- Mendoza-Herrera, A., Levy, J., Harrison, K., Yao, J., Ibanez, F., Tamborindeguy, C., 2018. Infection by 'Candidatus Liberibacter solanacearum' haplotypes A and B in *Solanum lycopersicum* 'Moneymaker'. *Plant Disease*, 102, 10 : 2009-2015. DOI : 10.1094/PDIS-12-17-1982-RE.
- Mentel, M., Ahuja, E. G., Mavrodi, D. V., Breinbauer, R., Thomashow, L. S., Blankenfeldt, W., 2009. Of Two Make One: The Biosynthesis of Phenazines. *ChemBioChem*, 10, 14 : 2295-2304. DOI : 10.1002/cbic.200900323.
- Mercado-Blanco, J., Bakker, P. A. H. M., 2007. Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92, 4 : 367-389. DOI : 10.1007/s10482-007-9167-1.
- Merfa, M. V., Pérez-López, E., Naranjo, E., Jain, M., Gabriel, D. W., De La Fuente, L., 2019. Progress and Obstacles in Culturing 'Candidatus Liberibacter asiaticus', the Bacterium Associated with Huanglongbing. *Phytopathology<sup>TM</sup>*, 109, 7 : 1092-1101. DOI : 10.1094/PHYTO-02-19-0051-RVW.

- Miethling, R., Wieland, G., Backhaus, H., Tebbe, C. C., 2000. Variation of Microbial Rhizosphere Communities in Response to Crop Species, Soil Origin, and Inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33. *Microbial Ecology*, 40, 1 : 43-56. DOI : 10.1007/s002480000021.
- Montoro, P., Carron, M. P., Lardet, L., Clement-Demange, A., Leclercq, J., 2010. Biotechnologies in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 18, 1 : 81-83.
- Morris, E. K., Morris, D. J. P., Vogt, S., Gleber, S.-C., Bigalke, M., Wilcke, W., Rillig, M. C., 2019. Visualizing the dynamics of soil aggregation as affected by arbuscular mycorrhizal fungi. *The ISME Journal*, 13, 7 : 1639. DOI : 10.1038/s41396-019-0369-0.
- Morris, S. W., Vernooij, B., Titatarn, S., Starrett, M., Thomas, S., Wiltse, C. C., Frederiksen, R. A., Bhandhufalck, A., Hulbert, S., Uknes, S., 1998. Induced Resistance Responses in Maize. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 7 : 643-658. DOI : 10.1094/MPMI.1998.11.7.643.
- Mothay, D., Ramesh, K. V., 2019. Evolutionary history and genetic diversity study of heat-shock protein 60 of *Rhizophagus irregularis*. *Journal of Genetics*, 98, 2 : 48. DOI : 10.1007/s12041-019-1096-z.
- Moyal, P., 1998. Les foreurs du maïs en Côte d'Ivoire: vers une protection intégrée. *Agriculture et Développement*, 19 : 16–27.
- Mueller, U. G., Sachs, J. L., 2015. Engineering Microbiomes to Improve Plant and Animal Health. *Trends in Microbiology*, 23, 10 : 606-617. DOI : 10.1016/j.tim.2015.07.009.
- Munyaneza, J. E., 2012. Zebra Chip Disease of Potato: Biology, Epidemiology, and Management. *American Journal of Potato Research*, 89, 5 : 329-350. DOI : 10.1007/s12230-012-9262-3.
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., Upton, J. E., 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “Zebra Chip,” a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 100, 3 : 656-663. DOI : 10.1603/0022-0493(2007)100[656:A0BCHP]2.0.CO;2.
- Munyaneza, J. E., Fisher, T. W., Sengoda, V. G., Garczynski, S. F., Nissinen, A., Lemmetty, A., 2010. First report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Disease*, 94, 5 : 639-639. DOI : 10.1094/PDIS-94-5-0639A.
- Mustafa, T., Horton, D. R., Cooper, W. R., Swisher, K. D., Zack, R. S., Pappu, H. R., Munyaneza, J. E., 2015. Use of Electrical Penetration Graph Technology to Examine Transmission of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ to Potato by Three Haplotypes of Potato Psyllid (*Bactericera cockerelli*; Hemiptera: Triozidae). *PLoS ONE*, 10, 9 . DOI : 10.1371/journal.pone.0138946.



- Nachappa, P., Levy, J., Pierson, E., Tamborindéguy, C., 2014. Correlation between “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” infection levels and fecundity in its psyllid vector. *Journal of Invertebrate Pathology*, 115, : 55-61. DOI : 10.1016/j.jip.2013.10.008.
- Nachappa, P., Levy, J., Tamborindéguy, C., 2012. Transcriptome analyses of *Bactericera cockerelli* adults in response to “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” infection. *Molecular Genetics and Genomics*, 287, 10 : 803-817. DOI : 10.1007/s00438-012-0713-9.
- Nachappa, P., Shapiro, A. A., Tamborindéguy, C., 2011. Effect of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ on Fitness of Its Insect Vector, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae), on Tomato. *Phytopathology*, 102, 1 : 41-46. DOI : 10.1094/PHYTO-03-11-0084.
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., Ashraf, M., 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32, 2 : 429-448. DOI : 10.1016/j.biotechadv.2013.12.005.
- Naika, S., Lidth de Jeude, J. van, Goffau, M. de, Hilmi, M., Dam, B. van, 2005. *La culture de la tomate: production, transformation et commercialisation*. Agromisa/CTA.
- Naranjo, E., Merfa, M. V., Ferreira, V., Jain, M., Davis, M. J., Bahar, O., Gabriel, D. W., Fuente, L. D. L., 2019. *Liberibacter crescens* biofilm formation *in vitro*: establishment of a model system for pathogenic ‘*Candidatus Liberibacter spp.*’. *Scientific Reports*, 9, 1 : 1-16. DOI : 10.1038/s41598-019-41495-5.
- Naseem, H., Bano, A., 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, 9, 1 : 689-701. DOI : 10.1080/17429145.2014.902125.
- Naylor, D., Coleman-Derr, D., 2018. Drought Stress and Root-Associated Bacterial Communities. *Frontiers in Plant Science*, 8, . DOI : 10.3389/fpls.2017.02223.
- N’da, H. A., Akanvou, L., Kouakou, C. K., 2013. Gestion locale de la diversité variétale du maïs (*Zea mays* L.) violet par les Tagouana au Centre-Nord de la Côte d’Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7, 5 : 2058-2068. DOI : 10.4314/ijbcs.v7i5.23.
- Nelson, W. R., Fisher, T. W., Munyaneza, J. E., 2011. Haplotypes of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” suggest long-standing separation. *European Journal of Plant Pathology*, 130, 1 : 5-12. DOI : 10.1007/s10658-010-9737-3.
- Nelson, W. R., Sengoda, V. G., Alfaro-Fernandez, A. O., Font, M. I., Crosslin, J. M., Munyaneza, J. E., 2013. A new haplotype of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” identified in the Mediterranean region. *European Journal of Plant Pathology*, 135, 4 : 633-639. DOI : 10.1007/s10658-012-0121-3.

- Nemchenko, A., Kunze, S., Feussner, I., Kolomiets, M., 2006. Duplicate maize 13-lipoxygenase genes are differentially regulated by circadian rhythm, cold stress, wounding, pathogen infection, and hormonal treatments. *Journal of experimental botany*, 57, 14 : 3767–3779.
- Neumann, E., George, E., 2009. The effect of arbuscular mycorrhizal root colonization on growth and nutrient uptake of two different cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) Genotypes exposed to drought stress. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, : 1-17. DOI : 10.9755/ejfa.v21i2.5160.
- Ngumbi, E., Kloepper, J., 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, : 109-125. DOI : 10.1016/j.apsoil.2016.04.009.
- Niemira, B., Safir, G. R., Hammerschmidt, R., Bird, G., 1995. *Production of prenuclear minitubers of potato with peat-based arbuscular mycorrhizal fungal inoculums.*
- Nissinen, A. I., Haapalainen, M., Jauhiainen, L., Lindman, M., Pirhonen, M., 2014. Different symptoms in carrots caused by male and female carrot psyllid feeding and infection by ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’. *Plant pathology*, 63, 4 : 812–820.
- Noonan, J., Williams, W. P., Shan, X., 2017. Investigation of Antimicrobial Peptide Genes Associated with Fungus and Insect Resistance in Maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 9 : 1938. DOI : 10.3390/ijms18091938.
- Noufé, D., Lidon, B., Mahé, G., Servat, E., Yao, T. B., Zueli, K. B., Chaléard, J.-L., 2011. Climate variability and rainfed maize production in the eastern Ivory Coast Abstract. *Hydrological Sciences Journal*, 56, 1 : 152-167. DOI : 10.1080/02626667.2010.545247.
- O’Connell, R. J., Thon, M. R., Hacquard, S., Amyotte, S. G., Kleemann, J., Torres, M. F., Damm, U., Buiate, E. A., Epstein, L., Alkan, N., 2012. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature genetics*, 44, 9 : 1060.
- Oliveira, R. S., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Pereira, S., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M. F., Vosátka, M., Freitas, H., 2017. Improved grain yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) under water deficit after inoculation with *Bradyrhizobium elkanii* and *Rhizophagus irregularis*. *Crop and Pasture Science*, . DOI : 10.1071/CP17087.
- Oloyede-kamiyo, Q., Ajala, S. O., Akoroda, M. O., 2012. Expected responses to selection for resistance to the pink stem borer (*Sesamia calamistis* Hampson) and the sugarcane borer (*Eldana saccharina* Walker) in two maize populations. *Maydica*, 57, 2 : 121–128.
- Ozalvo, R., Cabrera, J., Escobar, C., Christensen, S. A., Borrego, E. J., Kolomiets, M. V., Castresana, C., Iberkleid, I., Brown Horowitz, S., 2014. Two closely related members of Arabidopsis 13-

- lipoxygenases (13-LOXs), LOX3 and LOX4, reveal distinct functions in response to plant-parasitic nematode infection. *Molecular Plant Pathology*, 15, 4 : 319-332. DOI : 10.1111/mpp.12094.
- Pal, K. K., Gardener, B. B. M., 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, . DOI : 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Palmieri-Thiers, C., 2008. Expression et caractérisation de la lipoxygénase recombinante d'olive: une enzyme présentant une double spécificité d'hydroperoxydation et exprimée dans les derniers stades de développement des fruits. PhD Thesis, Université Pascal Paoli.
- Pansu, M., Gautheyrou, J., Aventurier, A., Feller, C., Bottner, P., 2003. *L'analyse du sol : minéralogique, organique et minérale*. Springer, Paris.
- Parniske, M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 10 : 763-775. DOI : 10.1038/nrmicro1987.
- Pawlowska, T. E., Taylor, J. W., 2004. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 427, 6976 : 733-737. DOI : 10.1038/nature02290.
- Pellegrin, F., Duran-Vila, N., Munster, M. V., Nandris, D., 2007. Rubber tree (*Hevea brasiliensis*) trunk phloem necrosis: aetiological investigations failed to confirm any biotic causal agent. *Forest Pathology*, 37, 1 : 9-21. DOI : 10.1111/j.1439-0329.2007.00471.x.
- Peñuelas, J., Garbulsky, M. F., Filella, I., 2011. Photochemical reflectance index (PRI) and remote sensing of plant CO<sub>2</sub> uptake. *New Phytologist*, 191, 3 : 596-599. DOI : 10.1111/j.1469-8137.2011.03791.x.
- Peñuelas, J., Marino, G., LLusia, J., Morfopoulos, C., Farré-Armengol, G., Filella, I., 2013. Photochemical reflectance index as an indirect estimator of foliar isoprenoid emissions at the ecosystem level. *Nature Communications*, 4, : 2604. DOI : 10.1038/ncomms3604.
- Perfect, S. E., Hughes, H. B., O'Connell, R. J., Green, J. R., 1999. Colletotrichum: A Model Genus for Studies on Pathology and Fungal-Plant Interactions. *Fungal Genetics and Biology*, 27, 2 : 186-198. DOI : 10.1006/fgbi.1999.1143.
- Phillips, J. M., Hayman, D. S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 1 : 158-IN18. DOI : 10.1016/S0007-1536(70)80110-3.
- Pierson, L. S., Gaffney, T., Lam, S., Gong, F., 1995. Molecular analysis of genes encoding phenazine biosynthesis in the biological control bacterium *Pseudomonas aureofaciens* 30–84. *FEMS Microbiology Letters*, 134, 2 : 299-307. DOI : 10.1016/0378-1097(95)00423-X.
- Pierson, L. S., Pierson, E. A., 1996. Phenazine antibiotic production in *Pseudomonas aureofaciens*: role in rhizosphere ecology and pathogen suppression. *FEMS microbiology letters*, 136, 2 : 101–108.

- Pierson, L. S., Pierson, E. A., 2010. Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 6 : 1659-1670. DOI : 10.1007/s00253-010-2509-3.
- Pierson, L. S., Thomashow, L. S., 1992. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 5, 4 : 330-339. DOI : 10.1094/mpmi-5-330.
- Pioufle, O. L., Declerck, S., 2018. Reducing Water Availability Impacts the Development of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 and Its Ability to Take Up and Transport Phosphorus Under *In-vitro* Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 9, : 1254. DOI : 10.3389/fmicb.2018.01254.
- Pivato, B., Offre, P., Marchelli, S., Barbonaglia, B., Mougel, C., Lemanceau, P., Berta, G., 2009. Bacterial effects on arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhiza development as influenced by the bacteria, fungi, and host plant. *Mycorrhiza*, 19, 2 : 81-90. DOI : 10.1007/s00572-008-0205-2.
- Planchamp, C., Glauser, G., Mauch-Mani, B., 2015. Root inoculation with *Pseudomonas putida* KT2440 induces transcriptional and metabolic changes and systemic resistance in maize plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, . DOI : 10.3389/fpls.2014.00719.
- Plenchette, C., Fortin, J. A., Furlan, V., 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, 70, 2 : 199-209. DOI : 10.1007/BF02374780.
- Pontes, N. de C., Yamada, J. K., Fujinawa, M. F., Dhingra, O. D., de Oliveira, J. R., 2019. Soil fumigation with mustard essential oil to control bacterial wilt in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, : 1–10.
- Popović, B. M., Štajner, D., Ždero-Pavlović, R., Tumbas-Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Orlović, S., 2016. Water stress induces changes in polyphenol profile and antioxidant capacity in poplar plants (*Populus* spp.). *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 105, : 242-250. DOI : 10.1016/j.plaphy.2016.04.036.
- Porcel, R., Ruiz-Lozano, J. M., 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55, 403 : 1743-1750. DOI : 10.1093/jxb/erh188.
- Poudel, B., Velázquez-del Valle, M. G., Hernández-Lauzardo, A. N., Zhang, S., 2019. First Report of *Alternaria tomato* Causing Leaf Spot on Sunflower in Mexico. *Plant Disease*, 103, 5 : 1029–1029.
- Pozo, M. J., Azcón-Aguilar, C., 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10, 4 : 393-398. DOI : 10.1016/j.pbi.2007.05.004.

- Pozo, M. J., Cordier, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Barea, J. M., Azcón-Aguilar, C., 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*, 53, 368 : 525-534. DOI : 10.1093/jexbot/53.368.525.
- Pozo, M. J., Jung, S. C., López-Ráez, J. A., Azcón-Aguilar, C., 2010. Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress: the role of plant defence mechanisms. In Koltai, H., Kapulnik, Y. (dir.). *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Pozo, M. J., López-Ráez, J. A., Azcón-Aguilar, C., García-Garrido, J. M., 2015. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 205, 4 : 1431-1436. DOI : 10.1111/nph.13252.
- Prager, S. M., Vindiola, B., Kund, G. S., Byrne, F. J., Trumble, J. T., 2013. Considerations for the use of neonicotinoid pesticides in management of *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Hemiptera: Triozidae). *Crop Protection*, 54, : 84-91. DOI : 10.1016/j.cropro.2013.08.001.
- Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. P., Newman, D. K., 2006. Rethinking « secondary » metabolism: physiological roles for phenazine antibiotics. *Nature Chemical Biology*, 2, 2 : 71-78. DOI : 10.1038/nchembio764.
- Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. P., Newman, D. K., 2007. Pyocyanin Alters Redox Homeostasis and Carbon Flux through Central Metabolic Pathways in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *Journal of Bacteriology*, 189, 17 : 6372-6381. DOI : 10.1128/JB.00505-07.
- Puthoff, D. P., Holzer, F. M., Perring, T. M., Walling, L. L., 2010. Tomato Pathogenesis-related Protein Genes are Expressed in Response to *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* Biotype B Feeding. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 11 : 1271-1285. DOI : 10.1007/s10886-010-9868-1.
- Raaijmakers, J. M., Vlami, M., de Souza, J. T., 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 1 : 537. DOI : 10.1023/A:1020501420831.
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., John, R., 2017. Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, : 142-157. DOI : 10.1016/j.envexpbot.2017.02.010.
- Rajasekaran, S., Nagarajan, S. M., 2005. Effect of dual inoculation (AM fungi and Rhizobium) on chlorophyll content of *Vigna unguiculata* (L). Walp. var. *Pusa 151*. *Mycorrhiza News Vol 17( 1):10-11, .*

- Ramos, I., Dietrich, L. E. P., Price-Whelan, A., Newman, D. K., 2010. Phenazines affect biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* in similar ways at various scales. *Research in microbiology*, 161, 3 : 187-191. DOI : 10.1016/j.resmic.2010.01.003.
- Ranere, A. J., Piperno, D. R., Holst, I., Dickau, R., Iriarte, J., 2009. The cultural and chronological context of early Holocene maize and squash domestication in the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 13 : 5014-5018. DOI : 10.1073/pnas.0812590106.
- Rao, K. V. M., Raghavendra, A. S., Reddy, K. J. (dir.), 2006. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer Netherlands.
- Rasmussen, S. R., Füchtbauer, W., Novero, M., Volpe, V., Malkov, N., Genre, A., Bonfante, P., Stougaard, J., Radutoiu, S., 2016. Intraradical colonization by arbuscular mycorrhizal fungi triggers induction of a lipochitooligosaccharide receptor. *Scientific Reports*, 6, : 29733. DOI : 10.1038/srep29733.
- Raun, W. R., Solie, J. B., Martin, K. L., Freeman, K. W., Stone, M. L., Johnson, G. V., Mullen, R. W., 2005. Growth Stage, Development, and Spatial Variability in Corn Evaluated Using Optical Sensor Readings: Contribution from the Oklahoma Agricultural Experiment Station and the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT). *Journal of Plant Nutrition*, 28, 1 : 173-182. DOI : 10.1081/PLN-200042277.
- Ravindran, A., Levy, J., Pierson, E., Gross, D. C., 2011. Development of primers for improved PCR detection of the potato Zebra Chip pathogen, '*Candidatus Liberibacter solanacearum*'. *Plant Disease*, 95, 12 : 1542-1546. DOI : 10.1094/PDIS-05-11-0386.
- Ravindran, A., Levy, J., Pierson, E., Gross, D. C., 2012. Development of a loop-mediated isothermal amplification procedure as a sensitive and rapid method for detection of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in potatoes and psyllids. *Phytopathology*, 102, 9 : 899-907. DOI : 10.1094/PHYTO-03-12-0055-R.
- Recchia, G. H., Konzen, E. R., Cassieri, F., Caldas, D. G. G., Tsai, S. M., 2018. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Leads to Differential Regulation of Drought-Responsive Genes in Tissue-Specific Root Cells of Common Bean. *Frontiers in Microbiology*, 9, : 1339. DOI : 10.3389/fmicb.2018.01339.
- Reddy, D. D. R., 1985. Analysis of crop losses in tomato due to *Meloidogyne incognita*. *Indian journal of nematology*, 15, 1 : 55-59.
- Redecker, D., Raab, P., 2006. Phylogeny of the *Glomeromycota* (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98, 6 : 885-895.

- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., Walker, C., 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *Mycorrhiza*, 23, 7 : 515-531. DOI : 10.1007/s00572-013-0486-y.
- Redinbaugh, M. G., Zambrano, J. L., 2014. Control of Virus Diseases in Maize. In Loebenstein, G., Katis, N. (dir.). *Advances in Virus Research*. Control of Plant Virus Diseases. Academic Press. DOI : 10.1016/B978-0-12-801246-8.00008-1.
- Rengel, Z., Ross, G., Hirsch, P., 1998. Plant genotype and micronutrient status influence colonization of wheat roots by soil bacteria. *Journal of Plant Nutrition*, 21, 1 : 99-113. DOI : 10.1080/01904169809365386.
- Ries, T. R., 2017. Bacterially Mediated Water Stress Tolerance In Wheat Conferred By Phenazine-Producing Rhizobacteria. Thesis, Texas A & M University, College Station, TX, USA.
- Rillig, M. C., Aguilar-Trigueros, C. A., Bergmann, J., Verbruggen, E., Veresoglou, S. D., Lehmann, A., 2015. Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytologist*, 205, 4 : 1385-1388. DOI : 10.1111/nph.13045.
- Rillig, M. C., Mummey, D. L., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171, 1 : 41-53. DOI : 10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x.
- Roberts, P. A., 1986. Variability in Reproduction of Isolates of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on Resistant Tomato Genotypes. *Plant Disease*, 70, 6 : 547. DOI : 10.1094/PD-70-547.
- Roux, Y. L., Pagès, L., 1994. Développement et polymorphisme racinaires chez de jeunes semis d'hévéa (*Hevea brasiliensis*). *Canadian Journal of Botany*, 72, 7 : 924-932. DOI : 10.1139/b94-117.
- Rovira, A. D., 1959. Root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant and Soil*, 11, 1 : 53-64. DOI : 10.1007/BF01394753.
- Roy, C. K., Akter, N., Sarkar, M. K., Pk, M. U., Begum, N., Zenat, E. A., Jahan, M. A., 2019. Control of Early Blight of Tomato Caused by *Alternaria solani* and Screening of Tomato Varieties against the Pathogen. *The Open Microbiology Journal*, 13, 1 .
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., Eliceiri, K. W., 2017. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, 18, 1 : 529. DOI : 10.1186/s12859-017-1934-z.
- Ruiz-Lozano, J. M., Aroca, R., Zamarreño, Á. M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., García-Mina, J. M., Ruyter-Spira, C., López-Ráez, J. A., 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cell & Environment*, 39, 2 : 441-452.

- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., Paré, P. W., 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 134, 3 : 1017-1026. DOI : 10.1104/pp.103.026583.
- Sahraoui, A., 2013. La mycorhize à arbuscules : quels bénéfices pour l'homme et son environnement dans un contexte de développement durable ? *Rev. Sci. Technol., Synthèse 26: 06-19*, : 14p.
- Salekdeh, G. H., Reynolds, M., Bennett, J., Boyer, J., 2009. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in Plant Science*, 14, 9 : 488-496. DOI : 10.1016/j.tplants.2009.07.007.
- Sanchez, L., Weidmann, S., Arnould, C., Bernard, A. R., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., 2005. *Pseudomonas fluorescens* and *Glomus mosseae* Trigger DMI3-Dependent Activation of Genes Related to a Signal Transduction Pathway in Roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 139, 2 : 1065-1077. DOI : 10.1104/pp.105.067603.
- Sangay-Tucto, S., 2018. Étude de l'impact des symbioses mycorhizienne et rhizobienne dans la domestication du Tara, *Caesalpinia spinosa* L. Thèse, Université Montpellier ; Universidad Peruana Cayetano Heredia, France.
- Santander, C., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M., Olave, J., Cartes, P., Borie, F., Cornejo, P., 2017. Arbuscular mycorrhiza effects on plant performance under osmotic stress. *Mycorrhiza*, 27, 7 : 639-657. DOI : 10.1007/s00572-017-0784-x.
- Sanz-Martín, J. M., Postigo, V., Mateos, A., Albrecht, B., Munkvold, G. P., Thon, M. R., Sukno, S. A., 2015. First Report of *Colletotrichum graminicola* Causing Maize Anthracnose Stalk Rot in the Alentejo Region, Portugal. *Plant Disease*, 100, 3 : 648-648. DOI : 10.1094/PDIS-06-15-0636-PDN.
- Sarazin, V., Duclercq, J., Guillot, X., Sangwan, B., Sangwan, R. S., 2017. Water-stressed sunflower transcriptome analysis revealed important molecular markers involved in drought stress response and tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 142, Supplement C : 45-53. DOI : 10.1016/j.envexpbot.2017.08.005.
- Schnable, P. S., Ware, D., Fulton, R. S., Stein, J. C., Wei, F., Pasternak, S., Liang, C., Zhang, J., Fulton, L., Graves, T. A., Minx, P., Reily, A. D., Courtney, L., Kruchowski, S. S., Tomlinson, C., Strong, C., Delehaunty, K., Fronick, C., Courtney, B., Rock, S. M., Belter, E., Du, F., Kim, K., Abbott, R. M., Cotton, M., Levy, A., Marchetto, P., Ochoa, K., Jackson, S. M., Gillam, B., Chen, W., Yan, L., Higginbotham, J., Cardenas, M., Waligorski, J., Applebaum, E., Phelps, L., Falcone, J., Kanchi, K., Thane, T., Scimone, A., Thane, N., Henke, J., Wang, T., Ruppert, J., Shah, N., Rotter, K., Hodges, J., Ingenthron, E., Cordes, M., Kohlberg, S., Sgro, J., Delgado, B., Mead, K., Chinwalla, A., Leonard,



- S., Crouse, K., Collura, K., Kudrna, D., Currie, J., He, R., Angelova, A., Rajasekar, S., Mueller, T., Lomeli, R., Scara, G., Ko, A., Delaney, K., Wissotski, M., Lopez, G., Campos, D., Braidotti, M., Ashley, E., Golser, W., Kim, H., Lee, S., Lin, J., Dujmic, Z., Kim, W., Talag, J., Zuccolo, A., Fan, C., Sebastian, A., Kramer, M., Spiegel, L., Nascimento, L., Zutavern, T., Miller, B., Ambroise, C., Muller, S., Spooner, W., Narechania, A., Ren, L., Wei, S., Kumari, S., Faga, B., Levy, M. J., McMahan, L., Buren, P. V., Vaughn, M. W., Ying, K., Yeh, C.-T., Emrich, S. J., Jia, Y., Kalyanaraman, A., Hsia, A.-P., Barbazuk, W. B., Baucom, R. S., Brutnell, T. P., Carpita, N. C., Chaparro, C., Chia, J.-M., Deragon, J.-M., Estill, J. C., Fu, Y., Jeddelloh, J. A., Han, Y., Lee, H., Li, P., Lisch, D. R., Liu, S., Liu, Z., Nagel, D. H., McCann, M. C., SanMiguel, P., Myers, A. M., Nettleton, D., Nguyen, J., Penning, B. W., Ponnala, L., Schneider, K. L., Schwartz, D. C., Sharma, A., Soderlund, C., Springer, N. M., Sun, Q., Wang, H., Waterman, M., Westerman, R., Wolfgruber, T. K., Yang, L., Yu, Y., Zhang, L., Zhou, S., Zhu, Q., Bennetzen, J. L., Dawe, R. K., Jiang, J., Jiang, N., Presting, G. G., Wessler, S. R., Aluru, S., Martienssen, R. A., Clifton, S. W., McCombie, W. R., Wing, R. A., Wilson, R. K., 2009. The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics. *Science*, 326, 5956 : 1112-1115. DOI : 10.1126/science.1178534.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., Eliceiri, K. W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 7 : 671-675. DOI : 10.1038/nmeth.2089.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution\* \*Dedicated to Manfred Kluge (Technische Universität Darmstadt) on the occasion of his retirement. *Mycological Research*, 105, 12 : 1413-1421. DOI : 10.1017/S0953756201005196.
- Scott, M. P., Emery, M., 2016. Maize: Overview. *Reference Module in Food Science*. Elsevier. DOI : 10.1016/B978-0-08-100596-5.00022-6.
- Sharan, S. K., Thomason, L. C., Kuznetsov, S. G., Court, D. L., 2009. Recombineering: A Homologous Recombination-Based Method of Genetic Engineering. *Nature protocols*, 4, 2 : 206-223. DOI : 10.1038/nprot.2008.227.
- Sharifi, R., Ryu, C.-M., 2016. Are Bacterial Volatile Compounds Poisonous Odors to a Fungal Pathogen *Botrytis cinerea*, Alarm Signals to *Arabidopsis* Seedlings for Eliciting Induced Resistance, or Both? *Frontiers in Microbiology*, 7, . DOI : 10.3389/fmicb.2016.00196.
- Sharma, R. C., De Leon, C., Payak, M. M., 1993. Diseases of maize in South and South-East Asia: problems and progress. *Crop Protection*, 12, 6 : 414-422. DOI : 10.1016/0261-2194(93)90002-Z.
- Siddiqui, I. A., Shaukat, S. S., 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *Journal of Phytopathology*, 150, 8-9 : 469-473.

- Siedow, J., 2003. Plant Lipoxygenase: Structure And Function. *Annual Review of Plant Physiology*, 42, : 145-188. DOI : 10.1146/annurev.pp.42.060191.001045.
- Siene, L. A. C., Doumbouya, M., Traore, M. S., Conde, M., N'guettia, T. V. F., Kone, M., 2020. Effet de quatre types de fertilisants sur la croissance et la productivité de deux génotypes de maïs (*Zea mays* L.) en cas d'un semis tardif à Korhogo au Centre-Nord de la Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14, 1 : 55-68. DOI : 10.4314/ijbcs.v14i1.6.
- Silva, D. D., Costa, R. V., Cota, L. V., Figueiredo, J. E., Casela, C. R., Lanza, F. E., 2015. Genotype rotation for leaf anthracnose disease management in *Sorghum*. *Crop Protection*, 67, : 145–150.
- Slavokhotova, A. A., Naumann, T. A., Price, N. P. J., Rogozhin, E. A., Andreev, Y. A., Vassilevski, A. A., Odintsova, T. I., 2014. Novel mode of action of plant defense peptides – hevein-like antimicrobial peptides from wheat inhibit fungal metalloproteases. *FEBS Journal*, 281, 20 : 4754-4764. DOI : 10.1111/febs.13015.
- Smith, B. D., 2001. Documenting plant domestication: The consilience of biological and archaeological approaches. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 4 : 1324-1326. DOI : 10.1073/pnas.98.4.1324.
- Smith, F. A., Smith, S. E., 2015. How harmonious are arbuscular mycorrhizal symbioses? Inconsistent concepts reflect different mindsets as well as results. *New Phytologist*, 205, 4 : 1381-1384. DOI : 10.1111/nph.13202.
- Smith, K. P., Goodman, R. M., 1999. Host Variation for Interactions with Beneficial Plant-Associated Microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 37, 1 : 473-491. DOI : 10.1146/annurev.phyto.37.1.473.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., Smith, F. A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156, 3 : 1050-1057. DOI : 10.1104/pp.111.174581.
- Smith, S. E., Smith, F. A., 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia*, 104, 1 : 1-13. DOI : 10.3852/11-229.
- Smith, S., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press. DOI : 10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6.
- Sniezko, R. A., Yanchuk, A. D., Kliejunas, J. T., Palmieri, K. M., Alexander, J. M., Frankel, S. J., 2012. Proceedings of the fourth international workshop on the genetics of host-parasite interactions in forestry: Disease and insect resistance in forest trees. *Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-240*, : 372. DOI : 10.2737/PSW-GTR-240.

- Soltys-Kalina, D., Plich, J., Strzelczyk-Żyta, D., Śliwka, J., Marczewski, W., 2016. The effect of drought stress on the leaf relative water content and tuber yield of a half-sib family of ‘Katahdin’-derived potato cultivars. *Breeding Science*, 66, 2 : 328-331. DOI : 10.1270/jsbbs.66.328.
- Song, F., Han, X., Zhu, X., Herbert, S. J., 2012. Response to water stress of soil enzymes and root exudates from drought and non-drought tolerant corn hybrids at different growth stages. *Canadian Journal of Soil Science*, 92, 3 : 501-507. DOI : 10.4141/cjss2010-057.
- Song, Y., Rui, Y., Bedane, G., Li, J., 2016. Morphological Characteristics of Maize Canopy Development as Affected by Increased Plant Density. *PLOS ONE*, 11, 4 : e0154084. DOI : 10.1371/journal.pone.0154084.
- Sosa Rodriguez, T., Declerck, S., Granet, F., Gaurel, S., Damme, E. J. M. V., Dupré De Boulois, H., 2013. *Hevea brasiliensis* and *Urtica dioica* impact the *in vitro* mycorrhization of neighbouring *Medicago truncatula* seedlings. *Symbiosis*, 60, 3 : 123-132. DOI : 10.1007/s13199-013-0248-9.
- Sousa, M. S. B., Júnior, J. M. L., Buarque, D. de S., 2019. Optimization of the Extraction of Polyphenols and Antioxidant Capacity from *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth Fruit by Response Surface Methodology. *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*, . DOI : 10.5772/intechopen.83457.
- Srinivasan, K., Moorthy, P. K., Raviprasad, T. N., 1994. African marigold as a trap crop for the management of the fruit borer *Helicoverpa armigera* on tomato. *International Journal of Pest Management*, 40, 1 : 56–63.
- St-Arnaud, M., Hamel, C., Caron, M., Fortin, J., 1995. Endomycorrhizes VA et sensibilité des plantes aux maladies : synthèse de la littérature et mécanismes d’interaction potentiels. Fortin J.A., Charest C., Piche Y. (eds). La symbiose mycorhizienne, état des connaissances. *Orbis Publishing*, pp 51-87, .
- Strack, D., Fester, T., Hause, B., Schliemann, W., Walter, M. H., 2003. Arbuscular mycorrhiza: biological, chemical, and molecular aspects. *Journal of chemical ecology*, 29, 9 : 1955–1979.
- Stumpe, M., Carsjens, J.-G., Stenzel, I., Göbel, C., Lang, I., Pawlowski, K., Hause, B., Feussner, I., 2005. Lipid metabolism in arbuscular mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. *Phytochemistry*, 66, 7 : 781–791.
- Subedi, S., 2015. A review on important maize diseases and their management in Nepal. *Journal of Maize Research and Development*, 1, 1 : 28-52. DOI : 10.3126/jmrd.v1i1.14242.
- Sukno, S. A., García, V. M., Shaw, B. D., Thon, M. R., 2008. Root Infection and Systemic Colonization of Maize by *Colletotrichum graminicola*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 3 : 823-832. DOI : 10.1128/AEM.01165-07.

- Surendirakumar, K., Pandey, R. R., Muthukumar, T., 2019. Influence of indigenous arbuscular mycorrhizal fungus and bacterial bioinoculants on growth and yield of *Capsicum chinense* cultivated in non-sterilized soil. *The Journal of Agricultural Science*, 157, 1 : 31-44. DOI : 10.1017/S0021859619000261.
- Swisher Grimm, K. D., Garczynski, S. F., 2019. Identification of a New Haplotype of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in *Solanum tuberosum*. *Plant Disease*, 103, 3 : 468-474. DOI : 10.1094/PDIS-06-18-0937-RE.
- Swisher, K. D., Sengoda, V. G., Dixon, J., Munyaneza, J. E., Murphy, A. F., Rondon, S. I., Thompson, B., Karasev, A. V., Wenninger, E. J., Olsen, N., Crosslin, J. M., 2014. Assessing potato psyllid haplotypes in potato crops in the pacific northwestern United States. *American Journal of Potato Research*, 91, 5 : 485-491. DOI : 10.1007/s12230-014-9378-8.
- Tahri, E. H., Belabed, A., Sadki, K., 1998. Effet d’un stress osmotique sur l’accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bulletin de l’Institut Scientifique, Rabat*, 1997, 21 : 81–87.
- Tahzima, R., Maes, M., Achbani, E. H., Swisher, K. D., Munyaneza, J. E., De Jonghe, K., 2014. First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ on carrot in Africa. *Plant Disease*, 98, 10 : 1426-1426. DOI : 10.1094/PDIS-05-14-0509-PDN.
- Talekar, N. S., Opena, R. T., Hanson, P., 2006. *Helicoverpa armigera* management: a review of AVRDC’s research on host plant resistance in tomato. *Crop Protection*, 25, 5 : 461–467.
- Tamayo, E., Gómez-Gallego, T., Azcón-Aguilar, C., Ferrol, N., 2014. Genome-wide analysis of copper, iron and zinc transporters in the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Frontiers in Plant Science*, 5, : 547. DOI : 10.3389/fpls.2014.00547.
- Tamborindéguy, C., Huot, O. B., Ibanez, F., Levy, J., 2017. The influence of bacteria on multitrophic interactions among plants, psyllids, and pathogen. *Insect Science*, 24, 6 : 961-974. DOI : 10.1111/1744-7917.12474.
- Tejeda-Sartorius, M., Martínez de la Vega, O., Délano-Frier, J. P., 2008. Jasmonic acid influences mycorrhizal colonization in tomato plants by modifying the expression of genes involved in carbohydrate partitioning. *Physiologia Plantarum*, 133, 2 : 339–353.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., Yencho, G. C., 2007. Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103, 3 : 829-838. DOI : 10.1016/j.foodchem.2006.09.033.

- Teresani, G., Hernández, E., Bertolini, E., Siverio, F., Marroquín, C., Molina, J., de Mendoza, A. H., Cambra, M., 2015. Search for potential vectors of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’: population dynamics in host crops. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13, 1 : 1002.
- Teresani, G. R., Bertolini, E., Alfaro-Fernández, A., Martínez, C., Tanaka, F. A. O., Kitajima, E. W., Roselló, M., Sanjuán, S., Ferrándiz, J. C., López, M. M., Cambra, M., Font, M. I., 2014. Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a Real-Time PCR method for its detection. *Phytopathology*, 104, 8 : 804-811. DOI : 10.1094/PHYTO-07-13-0182-R.
- Than, P. P., Jeewon, R., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., Taylor, P. W. J., 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*, 57, 3 : 562–572.
- Thoma, I., Loeffler, C., Sinha, A. K., Gupta, M., Krischke, M., Steffan, B., Roitsch, T., Mueller, M. J., 2003. Cyclopentenone isoprostanes induced by reactive oxygen species trigger defense gene activation and phytoalexin accumulation in plants. *The Plant Journal*, 34, 3 : 363–375.
- Thomashow, L. S., 1996. Biological control of plant root pathogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 7, 3 : 343-347. DOI : 10.1016/S0958-1669(96)80042-5.
- Thomashow, L. S., Weller, D. M., 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of Bacteriology*, 170, 8 : 3499-3508. DOI : 10.1128/jb.170.8.3499-3508.1988.
- Thomashow, L. S., Weller, D. M., Bonsall, R. F., Pierson, L. S., 1990. Production of the Antibiotic Phenazine-1-Carboxylic Acid by Fluorescent *Pseudomonas* Species in the Rhizosphere of Wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 4 : 908-912.
- Thompson, S. M., Johnson, C. P., Lu, A. Y., Frampton, R. A., Sullivan, K. L., Fiers, M. W. E. J., Crowhurst, R. N., Pitman, A. R., Scott, I. A. W., Wen, A., Gudmestad, N. C., Smith, G. R., 2015. Genomes of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ Haplotype A from New Zealand and the United States suggest significant genome plasticity in the species. *Phytopathology*, 105, 7 : 863-871. DOI : 10.1094/PHYTO-12-14-0363-FI.
- Timper, P., Koné, D., Yin, J., Ji, P., McSpadden Gardener, B. B., 2009. Evaluation of an antibiotic-producing strain of *Pseudomonas fluorescens* for suppression of plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*, 41, 3 : 234-240.
- Tisserant, E., Kohler, A., Dozolme-Seddas, P., Balestrini, R., Benabdellah, K., Colard, A., Croll, D., Da Silva, C., Gomez, S. K., Koul, R., Ferrol, N., Fiorilli, V., Formey, D., Franken, Ph., Helber, N., Hijri,

- M., Lanfranco, L., Lindquist, E., Liu, Y., Malbreil, M., Morin, E., Poulain, J., Shapiro, H., van Tuinen, D., Waschke, A., Azcón-Aguilar, C., Bécard, G., Bonfante, P., Harrison, M. J., Küster, H., Lammers, P., Paszkowski, U., Requena, N., Rensing, S. A., Roux, C., Sanders, I. R., Shachar-Hill, Y., Tuskan, G., Young, J. P. W., Gianinazzi-Pearson, V., Martin, F., 2012. The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. *New Phytologist*, 193, 3 : 755-769. DOI : 10.1111/j.1469-8137.2011.03948.x.
- Tisserant, E., Malbreil, M., Kuo, A., Kohler, A., Symeonidi, A., Balestrini, R., Charron, P., Duensing, N., Frey, N. F. dit, Gianinazzi-Pearson, V., Gilbert, L. B., Handa, Y., Herr, J. R., Hijri, M., Koul, R., Kawaguchi, M., Krajinski, F., Lammers, P. J., Masclaux, F. G., Murat, C., Morin, E., Ndikumana, S., Pagni, M., Petitpierre, D., Requena, N., Rosikiewicz, P., Riley, R., Saito, K., Clemente, H. S., Shapiro, H., Tuinen, D. van, Bécard, G., Bonfante, P., Paszkowski, U., Shachar-Hill, Y. Y., Tuskan, G. A., Young, J. P. W., Sanders, I. R., Henrissat, B., Rensing, S. A., Grigoriev, I. V., Corradi, N., Roux, C., Martin, F., 2013. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 50 : 20117-20122. DOI : 10.1073/pnas.1313452110.
- Trenberth, K. E., Dai, A., van der Schrier, G., Jones, P. D., Barichivich, J., Briffa, K. R., Sheffield, J., 2014. Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*, 4, 1 : 17-22. DOI : 10.1038/nclimate2067.
- Trouvelot, A., Kough, J., Gianinazzi-Pearson, V., 1986. Evaluation of VA infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance. *Physiological and genetical aspects of Mycorrhizae*, : 217-221.
- Tsan, M.-F., Gao, B., 2009. Heat shock proteins and immune system. *Journal of Leukocyte Biology*, 85, 6 : 905-910. DOI : 10.1189/jlb.0109005.
- Turner, J. M., Messenger, Ann. J., 1986. Occurrence, Biochemistry and Physiology of Phenazine Pigment Production. In Rose, A. H., Tempest, D. W. (dir.). *Advances in Microbial Physiology*. Academic Press. DOI : 10.1016/S0065-2911(08)60306-9.
- Uzoh, I. M., Igwe, C. A., Okebalama, C. B., Babalola, O. O., 2019. Legume-maize rotation effect on maize productivity and soil fertility parameters under selected agronomic practices in a sandy loam soil. *Scientific Reports*, 9, . DOI : 10.1038/s41598-019-43679-5.
- Valério, H. M., Rêsende, M. A., Weikert-Oliveira, R. C. B., Casela, C. R., 2005. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum graminicola* from Brazil. *Mycopathologia*, 159, 3 : 449-459. DOI : 10.1007/s11046-005-0373-y.

- van Halsema, G. E., Vincent, L., 2012. Efficiency and productivity terms for water management: A matter of contextual relativism versus general absolutism. *Agricultural Water Management*, 108, : 9-15. DOI : 10.1016/j.agwat.2011.05.016.
- Van Parijs, J., Broekaert, W. F., Goldstein, I. J., Peumans, W. J., 1991. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*, 183, 2 : 258-264. DOI : 10.1007/BF00197797.
- Vance, R. E., Hong, S., Gronert, K., Serhan, C. N., Mekalanos, J. J., 2004. The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* carries a secretable arachidonate 15-lipoxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 7 : 2135-2139. DOI : 10.1073/pnas.0307308101.
- Varela, M. C., Arslan, I., Reginato, M. A., Cenzano, A. M., Luna, M. V., 2016. Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from Patagonian shrublands (Argentina). *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 104, : 81-91. DOI : 10.1016/j.plaphy.2016.03.014.
- Vargas, W. A., Martín, J. M. S., Rech, G. E., Rivera, L. P., Benito, E. P., Díaz-Mínguez, J. M., Thon, M. R., Sukno, S. A., 2012. Plant Defense Mechanisms Are Activated during Biotrophic and Necrotrophic Development of *Colletotricum graminicola* in Maize. *Plant Physiology*, 158, 3 : 1342-1358. DOI : 10.1104/pp.111.190397.
- Vellosillo, T., Martínez, M., López, M. A., Vicente, J., Cascón, T., Dolan, L., Hamberg, M., Castresana, C., 2007. Oxylipins Produced by the 9-Lipoxygenase Pathway in *Arabidopsis* Regulate Lateral Root Development and Defense Responses through a Specific Signaling Cascade. *The Plant Cell*, 19, 3 : 831-846. DOI : 10.1105/tpc.106.046052.
- Venard, C., Vaillancourt, L., 2007. Penetration and colonization of unwounded maize tissues by the maize anthracnose pathogen *Colletotrichum graminicola* and the related nonpathogen *C. sublineolum*. *Mycologia*, 99, 3 : 368-377. DOI : 10.1080/15572536.2007.11832561.
- Venice, F., Pinto, M. C. de, Novero, M., Ghignone, S., Salvioli, A., Bonfante, P., 2017. *Gigaspora margarita* with and without its endobacterium shows adaptive responses to oxidative stress. *Mycorrhiza*, : 1-13. DOI : 10.1007/s00572-017-0790-z.
- Vick, B. A., Zimmerman, D. C., 1987. Pathways of Fatty Acid Hydroperoxide Metabolism in Spinach Leaf Chloroplasts. *Plant Physiology*, 85, 4 : 1073-1078.
- Wang, D., Lee, S.-H., Seeve, C., Yu, J. M., Pierson, L. S., Pierson, E. A., 2013. Roles of the Gac-Rsm pathway in the regulation of phenazine biosynthesis in *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. *MicrobiologyOpen*, 2, 3 : 505-524. DOI : 10.1002/mbo3.90.

- Wang, D., Yu, J. M., Dorosky, R. J., Iii, L. S. P., Pierson, E. A., 2016. The Phenazine 2-Hydroxy-Phenazine-1-Carboxylic Acid Promotes Extracellular DNA Release and Has Broad Transcriptomic Consequences in *Pseudomonas chlororaphis* 30–84. *PLOS ONE*, 11, 1 : e0148003. DOI : 10.1371/journal.pone.0148003.
- Wang, D., Yu, J. M., Pierson, L. S., Pierson, E. A., 2012. Differential regulation of phenazine biosynthesis by RpeA and RpeB in *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. *Microbiology*, 158, 7 : 1745-1757. DOI : 10.1099/mic.0.059352-0.
- Wang, K.-D., Borrego, E. J., Kenerley, C. M., Kolomiets, M. V., 2019. Oxylipins Other Than Jasmonic Acid Are Xylem-Resident Signals Regulating Systemic Resistance Induced by *Trichoderma Virens* in Maize. *The Plant Cell*, . DOI : 10.1105/tpc.19.00487.
- Wang, N., Pierson, E. A., Setubal, J. C., Xu, J., Levy, J. G., Zhang, Y., Li, J., Rangel, L. T., Martins, J., 2017. The *Candidatus* Liberibacter–Host interface: Insights into pathogenesis mechanisms and disease control. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 1 : 451-482. DOI : 10.1146/annurev-phyto-080516-035513.
- Wang, Y., Newman, D. K., 2008. Redox Reactions of Phenazine Antibiotics with Ferric (Hydr)oxides and Molecular Oxygen. *Environmental Science & Technology*, 42, 7 : 2380-2386. DOI : 10.1021/es702290a.
- Wasternack, C., 2007. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, 100, 4 : 681-697. DOI : 10.1093/aob/mcm079.
- Wasternack, C., 2014. Action of jasmonates in plant stress responses and development — Applied aspects. *Biotechnology Advances*, 32, 1 : 31-39. DOI : 10.1016/j.biotechadv.2013.09.009.
- Wasternack, C., Feussner, I., 2018. The Oxylipin Pathways: Biochemistry and Function. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 1 : 363-386. DOI : 10.1146/annurev-arplant-042817-040440.
- Wastie, R. L., 1975. Diseases of Rubber and their Control. *PANS Pest Articles & News Summaries*, 21, 3 : 268-288. DOI : 10.1080/09670877509411408.
- Wehner, J., Antunes, P. M., Powell, J. R., Mazukatow, J., Rillig, M. C., 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: A role for fungal diversity? *Pedobiologia*, 53, 3 : 197-201. DOI : 10.1016/j.pedobi.2009.10.002.
- Weller, D. M., Landa, B. B., Mavrodi, O. V., Schroeder, K. L., De La Fuente, L., Blouin Bankhead, S., Allende Molar, R., Bonsall, R. F., Mavrodi, D. V., Thomashow, L. S., 2007. Role of 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing Fluorescent *Pseudomonas* spp. in the Defense of Plant Roots. *Plant Biology*, 9, 1 : 4-20. DOI : 10.1055/s-2006-924473.



- Werra, P. de, Baehler, E., Huser, A., Keel, C., Maurhofer, M., 2008. Detection of Plant-Modulated Alterations in Antifungal Gene Expression in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 on Roots by Flow Cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 5 : 1339-1349. DOI : [10.1128/AEM.02126-07](https://doi.org/10.1128/AEM.02126-07).
- Whipps, J. M., 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 82, 8 : 1198-1227. DOI : 10.1139/b04-082.
- Wilson, B. A. L., Ash, G. J., Harper, J. D. I., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and nodulation of the annual legume messina (*Melilotus siculus*) under saline and non-saline conditions. *Crop and Pasture Science*, 63, 2 : 164–178.
- Wood, D. W., Gong, F., Daykin, M. M., Williams, P., Pierson, L. S., 1997. N-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the wheat rhizosphere. *Journal of Bacteriology*, 179, 24 : 7663-7670.
- Wood, D. W., Pierson, L. S., 1996. The *phzI* gene of *Pseudomonas aureofaciens* 30–84 is responsible for the production of a diffusible signal required for phenazine antibiotic production. *Gene*, 168, 1 : 49-53. DOI : 10.1016/0378-1119(95)00754-7.
- Wu, Q.-S., Cao, M.-Q., Zou, Y.-N., He, X., 2014. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of trifoliolate orange. *Scientific Reports*, 4, : 5823.
- Wu, Q.-S., Xia, R.-X., Zou, Y.-N., 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. *European Journal of Soil Biology*, 44, 1 : 122-128. DOI : 10.1016/j.ejsobi.2007.10.001.
- Xu, Z., Wu, Y., Xiao, Z., Ban, Y., Belvett, N., 2019. Positive effects of *Funneliformis mosseae* inoculation on reed seedlings under water and TiO<sub>2</sub> nanoparticles stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 6 : 81. DOI : 10.1007/s11274-019-2656-3.
- Yan, Q., Lopes, L. D., Shaffer, B. T., Kidarsa, T. A., Vining, O., Philmus, B., Song, C., Stockwell, V. O., Raaijmakers, J. M., McPhail, K. L., Andreote, F. D., Chang, J. H., Loper, J. E., 2018. Secondary Metabolism and Interspecific Competition Affect Accumulation of Spontaneous Mutants in the GacS-GacA Regulatory System in *Pseudomonas protegens*. *mBio*, 9, 1 : e01845-17. DOI : 10.1128/mBio.01845-17.
- Yan, Y., Kuramae, E. E., de Hollander, M., Klinkhamer, P. G. L., van Veen, J. A., 2017. Functional traits dominate the diversity-related selection of bacterial communities in the rhizosphere. *The ISME Journal*, 11, 1 : 56-66. DOI : 10.1038/ismej.2016.108.

- Yu, J. M., 2016. Regulation and Ecological Roles of Phenazine Biosynthesis in the Biological Control Strain *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. Thesis, Texas A & M University, College Station, TX, USA.
- Yu, J. M., Wang, D., Ries, T. R., Pierson, L. S. I., Pierson, E. A., 2018. An upstream sequence modulates phenazine production at the level of transcription and translation in the biological control strain *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. *PLOS ONE*, 13, 2 : e0193063. DOI : 10.1371/journal.pone.0193063.
- Zardak, S. G., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., Gholamhoseini, M., 2018. Effects of Using Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Alleviate Drought Stress on the Physiological Traits and Essential Oil Yield of Fennel. *Rhizosphere*, . DOI : 10.1016/j.rhisph.2018.02.001.
- Zhou, L., Jiang, H.-X., Sun, S., Yang, D.-D., Jin, K.-M., Zhang, W., He, Y.-W., 2016. Biotechnological potential of a rhizosphere *Pseudomonas aeruginosa* strain producing phenazine-1-carboxylic acid and phenazine-1-carboxamide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32, 3 : 50. DOI : 10.1007/s11274-015-1987-y.
- Zhu, X., Song, F., Liu, F., 2017. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Tolerance of Temperature Stress in Plants. In Wu, Q.-S. (dir.). *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants*. Springer Singapore. DOI : 10.1007/978-981-10-4115-0\_8.
- Zid, E., Grignon, C., 1989. Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress: Cas des stress salin et hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*. AUPELF/UREF, Tunis.

# **ANNEXES**

### Annexe 1. Préparation des stocks de la solution hydroponique Hoagland 0,5 N

Dissoudre dans de l'eau distillée et autoclaver ces stocks

#### Stock I 400x, par litre :

236,2g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (nitrate de calcium)

101,11 g de  $\text{KNO}_3$  (nitrate de potassium)

#### Stock II 1000x, par litre :

246,48g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (sulfate de magnésium)

#### Stock III 2000x, par litre :

36,7 g de NaFeEDTA (sel de sodium de l'acide éthylènediaminetétraacétique de fer(III))

Enveloppez la bouteille dans du papier d'aluminium pour la protéger de la lumière.

#### Stock IV 5000x par litre :

13,6 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (phosphate de potassium monobasique)

#### Stock V 1000x, par litre :

618,4 mg  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (acide borique)

48,4 mg  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (molybdate de sodium)

287,6 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (sulfate de zinc)

395,8 mg  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (chlorure de manganèse)<sup>85</sup>

124,8 mg de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (sulfate cuivrique)

47,6 mg de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (chlorure de cobalt)

1,25 ml de HCl 10M ou 1,033 ml de HCl 12,1 M

#### Stock VI 1000x, par litre :

97,5g MES

\*\*\*\*\*

#### Pour une solution de Hoagland 0,5 N de 10 litres :

25 ml Stock I

10 ml Stock II

5 ml de bouillon III

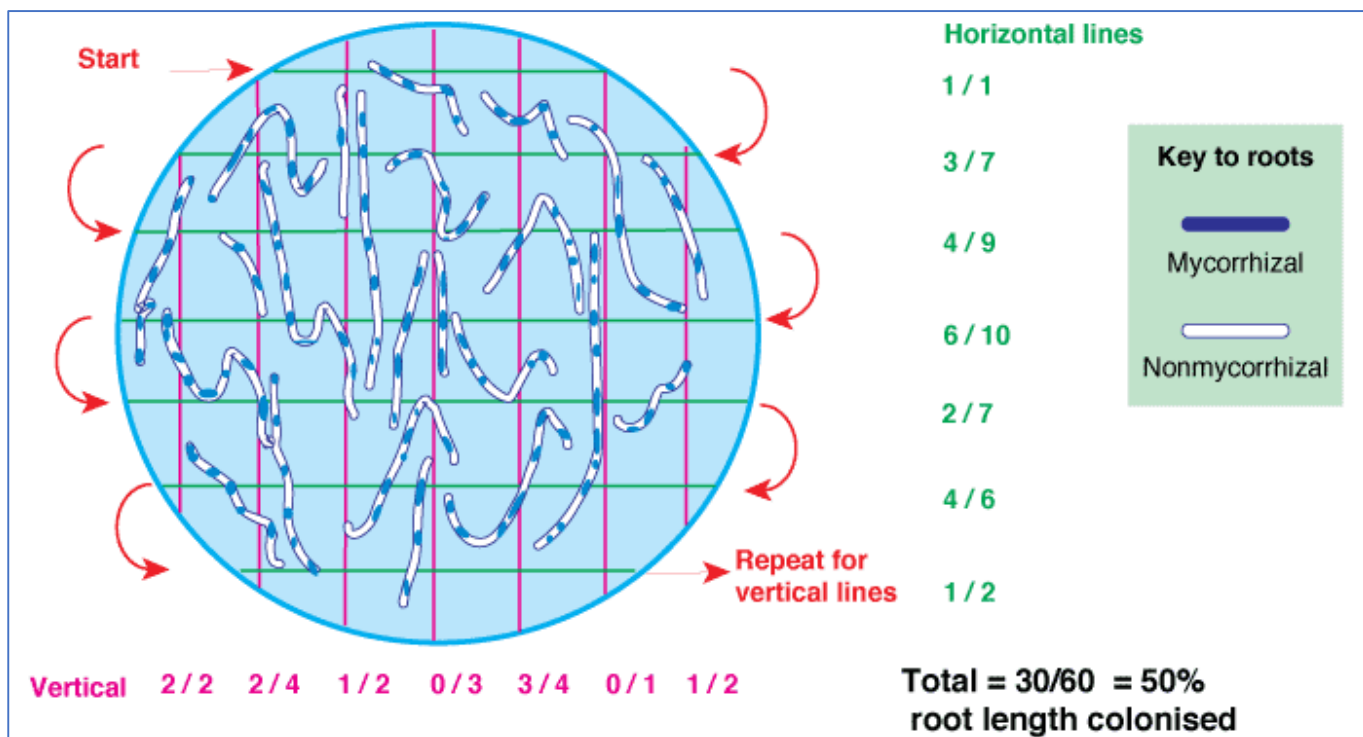
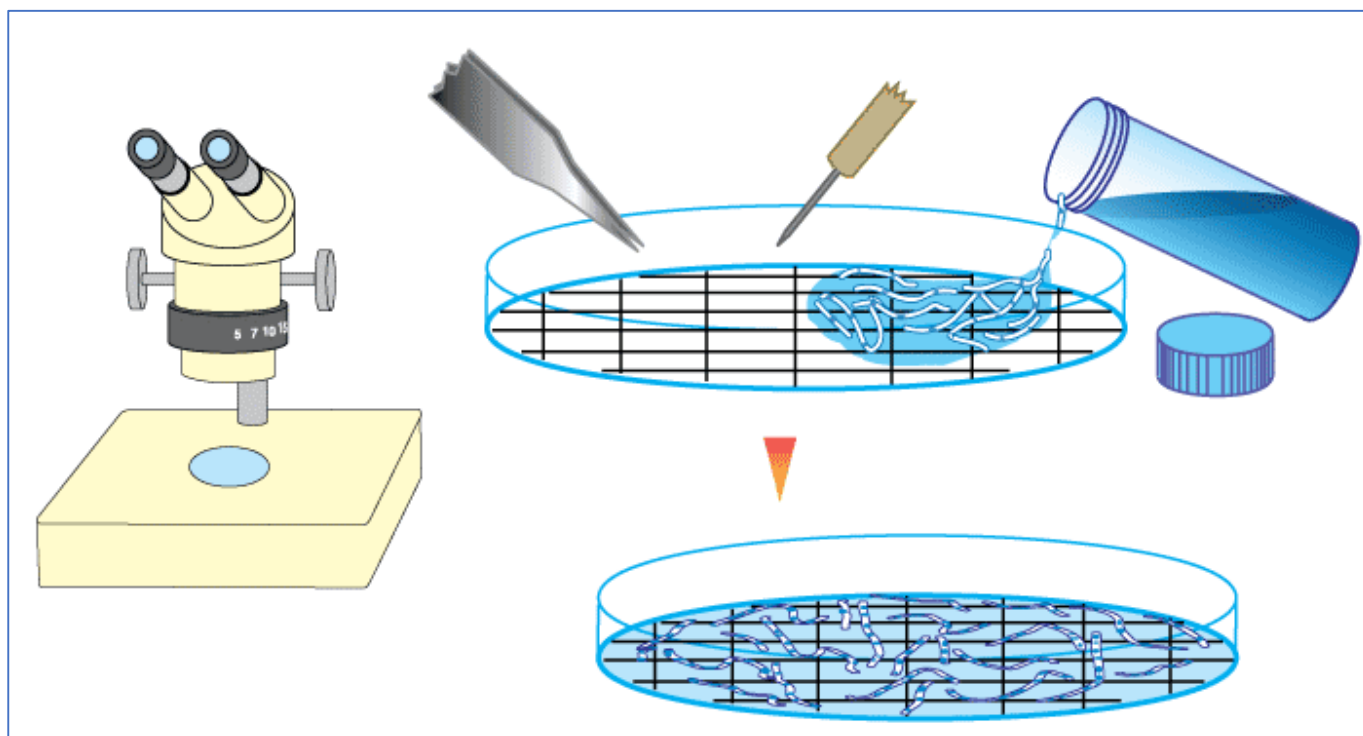
2 ml Stock IV

10 ml Stock V

10 ml Stock VI

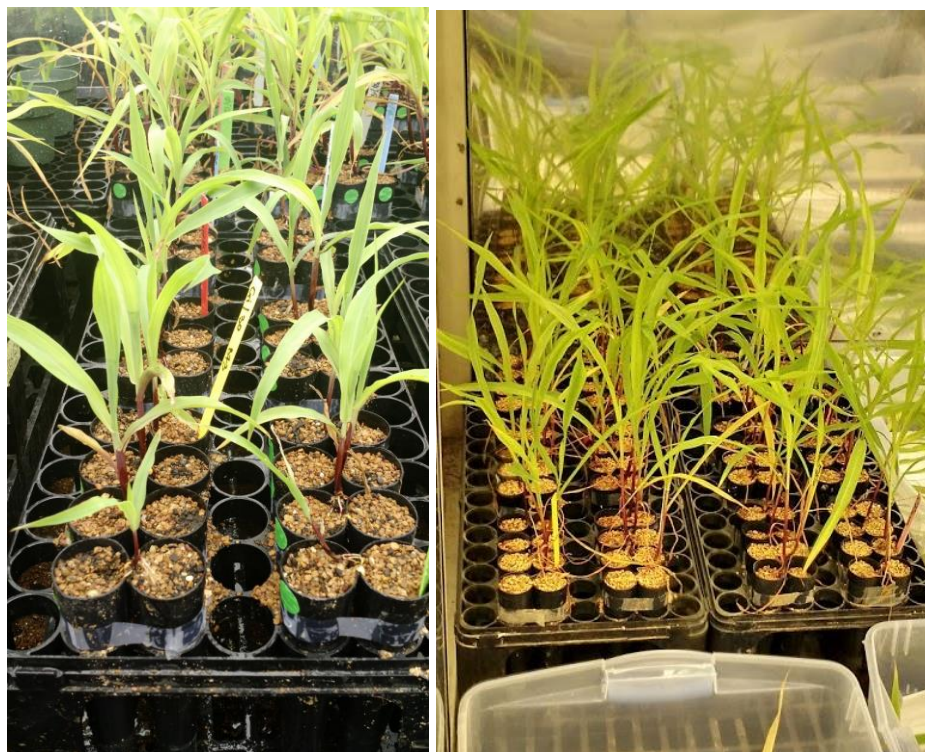
Ajustez le pH à 6,1.

Annexe 2. Illustrations du gridline intersect





**Annexe 3. Illustrations du split-root system avec des conetainers**



**Annexe 4. Illustrations des travaux en pots d'un litre de capacité**





**Annexe 5. Illustrations des travaux dans les cages insect-proof**





**Annexe 6. Illustrations des travaux en pots de 15 litres de capacité**





## Annexe 7. Index des taxons spécifiques cités

<b>A</b>		<b>D</b>	
<i>Actinidia deliciosa</i> .....	51	<i>Deinococcus radiodurans</i> .....	54
<i>Alternaria dauci</i> .....	15	<b>E</b>	
<i>Anthriscus sylvestris</i> .....	48	<i>Eldana saccharina</i> .....	11
<i>Arabidopsis thaliana</i> .....	36	<b>F</b>	
<b>B</b>		<i>Fomes lignosus</i> .....	18
<i>Bactericera cockerelli</i> .....	5, 47, 83, 84	<i>Funneliformis mosseae</i> .....	46, 50, 166
<i>Bactericera trigonica</i> .....	47, 48	<i>Fusarium oxysporum</i> .....	46, 166
<i>Bemisia tabaci</i> .....	14	<i>Fusarium verticillioides</i> .....	11
<i>Busseola fusca</i> .....	11	<b>G</b>	
<b>C</b>		<i>Gaeumannomyces graminis</i> .....	22, 45, 166
<i>C. gloeosporioides</i> .....	46, 166	<i>Geosiphon pyriformis</i> .....	26
<i>C. graminicola</i> .....	44, 45, 66, 99, 109, 166, 167, 178, 179, Voir <i>Colletotrichum graminicola</i>	<i>Gigaspora decipiens</i> .....	27
<i>C. orbiculare</i> .....	46, 166	<i>Gigaspora rosea</i> .....	46, 168
<i>Caenorhabditis elegans</i> .....	54	<i>Glomus fasciculatum</i> .....	50
<i>Candidatus Liberibacter africanus</i> .....	47	<i>Glomus intraradices</i> .....	42
<i>Candidatus Liberibacter americanus</i> .....	47	<i>Glomus microcarpum</i> .....	26
<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> .....	47, 172	<b>H</b>	
<i>Candidatus Liberibacter europaeus</i> .....	47	<i>Helicoverpa armigera</i> .....	14
<i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> . vi, vii, xvii, 5, 47, 50, 171, 237		<i>Hevea brasiliensis</i> .....	16, 17
<i>Candidatus Phytoplasma asteris</i> .....	30	<b>L</b>	
<i>Citrullus lanatus</i> .....	29	<i>Larrea divaricata</i> .....	60
<i>Clavibacter michiganense</i> .....	15	<i>Lycopersicon peruvianum</i> .....	36
<i>Cochliobolus carbonum</i> .....	11	<i>Lycopersicon esculentum</i> .....	46, 168
<i>Cochliobolus heterostrophus</i> .....	11	<b>M</b>	
<i>Colletotrichum graminicola</i> 11, 30, 44, 66, 67, 68, 72, 74, 100, 101, 104, 109, 166, 237		<i>Medicago truncatula</i> .....	36, 40, 42, 46, 168
<i>Cyclamen sp</i> .....	46, 166	<i>Micrococcus luteus</i> .....	46, 166
		<i>Microcyclus ulei</i> .....	18

<b>N</b>	
<i>Nicotiana tabacum</i> .....	36
<b>O</b>	
<i>Ostrinia nubilalis</i> .....	11
<b>P</b>	
<i>P. chlororaphis</i> . 2, 4, 6, 22, 24, 25, 45, 63, 64, 65, 66, 68, 72, 73, 93, 94, 96, 99, 100, 101, 102, 104, 109, 166, 167, 178, 179, 180, Voir <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	
<i>P. fluorescens</i> .....	2, 24, 45, 166, 168
<i>P. putida</i> .....	2, 45, 166, 180
<i>Physcomitrella patens</i> .....	38
<i>Phytophthora cinnamoni</i> .....	30
<i>Phytophthora parasitica</i> .....	43
<i>Phytophthora spp.</i> .....	38
<i>Phytophthora infestans</i> .....	15
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> . 45, 63, 64, 66, 67, 68, 71, 72, 73, 93, 95, 100, 101, 104, 106, 109, 166, 178, 237, Voir <i>P. chlororaphis</i>	
<i>Pseudomonas syringae</i> .....	38, 39
<i>Puccinia polysora</i> .....	11
<i>Pythium spp.</i> .....	11
<b>R</b>	
<i>R. irregularis</i> . 4, 46, 63, 66, 68, 72, 73, 77, 82, 83, 88, 89, 94, 95, 96, 99, 100, 101, 104, 166, 167, 170, 171, 174, 175, 178, 179, Voir <i>Rhizophagus irregularis</i>	
<i>Ralstonia solanacearum</i> .....	14
<i>Rhizoctonia praticola</i> .....	30
<i>Rhizophagus irregularis</i> . 2, 41, 46, 50, 63, 66, 67, 68, 71, 72, 73, 75, 83, 87, 94, 95, 100, 101, 104, 106, 140, 141, 146, 147, 149, 150, 166, 174, 178, 237	
<b>S</b>	
<i>Serratia marcescens</i> .....	46, 166
<i>Sesamia calamistis</i> .....	11
<i>Setosphaeria turcica</i> .....	11
<i>Solanum lycopersicum</i> .....	12, 83
<i>Solanum umbelliferum</i> .....	48
<i>Spodoptera littoralis</i> .....	38
<i>Striga hermonthica</i> .....	11
<b>T</b>	
<i>Trialeurodes vaporariorum</i> .....	14
<i>Trichoderma virens</i> .....	4, 167
<i>Trioza anthrisci</i> .....	48
<i>Trioza apicalis</i> .....	47, 48
<i>Trioza urticae</i> .....	48
<b>U</b>	
<i>Urtica dioica</i> .....	48
<b>Z</b>	
<i>Zea mays</i> .....	10

### Annexe 8. Articles et communications issus des travaux de la thèse

L'annexe 8 est composée de deux publications d'articles de recherche et d'une communication en Poster qui sont annoncées sur cette page et présentées dans les pages suivantes.

#### Article de recherche n° 1

Tiénébo, E.-O., Harrison, K., Abo, K., Brou, Y. C., Pierson, L. S., Tamborindéguy, C., Pierson, E. A., Levy, J. G., 2019. Mycorrhization Mitigates Disease Caused by “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in Tomato. *Plants*, 8, 11 : 507. DOI: [10.3390/plants8110507](https://doi.org/10.3390/plants8110507).

#### Article de recherche n° 2



Tiénébo, E.-O., Abo, K., Kouadio, K. T., N'GAH, J. A. B., 2019. Interaction entre *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, exsudats racinaires antifongiques du type hévéine et stress hydrique chez le clone d'hévéa IRCA 331 greffé au clone GT1. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 42, 1 : 7107-7126. DOI : [10.35759/JAnmPlSci.v42-1.3](https://doi.org/10.35759/JAnmPlSci.v42-1.3).

#### Communication

Tiénébo, E.-O., Levy, J. G., Yu, J. M., Kolomiets, M., Pierson, L. S., Pierson, E. A., 2016. *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 et *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 Suppress Maize Anthracnose Leaf Blight due to *Colletotrichum graminicola*. Poster competition (**2<sup>nd</sup> Prize**). Department of Plant Pathology et Microbiology, Texas A&M University, College Station, Texas, USA.

Article

# Mycorrhization Mitigates Disease Caused by “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in Tomato

Eric-Olivier Tiénébo <sup>1,2</sup>, Kyle Harrison <sup>1</sup>, Kouabenan Abo <sup>2</sup>, Yao Casimir Brou <sup>2</sup>, Leland S. Pierson III <sup>3</sup>, Cecilia Tamborindeguy <sup>4</sup>, Elizabeth A. Pierson <sup>1,3,\*</sup> and Julien G. Levy <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticultural Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843-2133, USA; eric.tienebo@inphb.ci (E.-O.T.); kharrison@tamu.edu (K.H.)

<sup>2</sup> Department of Agriculture and Animal Resources, Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny, PoBox 1313 Yamoussoukro, Cote d'Ivoire; a.kouabenan@gmail.com (K.A.); ycasimir.brou@gmail.com (Y.C.B.)

<sup>3</sup> Department of Plant Pathology and Microbiology, Texas A&M University, College Station, TX 77843-2133, USA; lsperson@tamu.edu

<sup>4</sup> Departments of Entomology, Texas A&M University, College Station, TX 77843-2133, USA; ctamborindeguy@tamu.edu

\* Correspondence: eapierson@tamu.edu (E.A.P.); julienlevy@tamu.edu (J.G.L.); Tel.: +1-979-862-1307 (E.A.P.); +1-832-779-4280 (J.G.L.)

Received: 21 August 2019; Accepted: 12 November 2019; Published: 15 November 2019



**Abstract:** Disease caused by the bacterial pathogen “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (Lso) represents a serious threat to solanaceous crop production. Insecticide applications to control the psyllid vector, *Bactericera cockerelli* Šulc (Hemiptera: Trioziidae) has led to the emergence of resistance in psyllids populations. Efforts to select natural resistant cultivars have been marginally successful and have been complicated by the presence of distinct Lso haplotypes (LsoA, LsoB) differing in symptoms severity on potato and tomato. A potentially promising management tool is to boost host resistance to the pathogen and/or the insect vector by promoting mycorrhization. Here we tested the hypothesis that mycorrhizal fungi can mitigate the effect of Lso infection on tomato plants. The presence of mycorrhizal fungi substantially delayed and reduced the incidence of Lso-induced symptoms on tomato as compared to non-mycorrhized plants. However, PCR with specific Lso primers revealed that mycorrhization did not prevent Lso transmission or translocation to newly formed leaves. Mycorrhization significantly reduced oviposition by psyllids harboring LsoA and survival of nymphs from these eggs. However, mycorrhization had no effect on oviposition by psyllids harboring LsoB or the survival of nymphs from parents harboring LsoB. These findings indicate the use of mycorrhizal fungi is a promising strategy for the mitigation of disease caused by both LsoA and LsoB and warrants additional field testing.

**Keywords:** *Rhizophagus irregularis*; *Candidatus Liberibacter solanacearum*; tomato; *Bactericera cockerelli*; mycorrhizae-induced resistance

## 1. Introduction

Diseases caused by “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (Lso) have had significant economic impacts on potato and tomato production in North and Central America and New Zealand [1,2]. Lso is a rod-shaped, Gram-negative bacterial species belonging to the  $\alpha$ -proteobacteria class and the *Rhizobiaceae* family [3]. “*Ca. Liberibacter*” species are generally regarded as important emerging plant pathogens worldwide, and all of them rely on psyllid vectors for transmission [2]. Lso is related closely to “*Ca. Liberibacter*” species responsible for Huanglongbing (HLB), also known as citrus greening disease. These include: “*Ca. L. asiaticus*” (CLAs), “*Ca. L. africanus*,” and “*Ca. L. americanus*.”

Six different haplotypes of Lso have been identified to date (LsoA, LsoB, LsoC, LsoD, LsoE, LsoU), which currently are delineated by host, geographic range, and vector species [4–10]. The best-characterized disease caused by LsoA and LsoB is zebra chip disease of potato (ZC), which results in reduced tuber quality and quantity, and often plant death [11]. LsoA and LsoB cause ZC in the United States and LsoA causes ZC in New Zealand [7,12]. In addition to ZC, LsoA and LsoB cause diseases of other economically important solanaceous hosts, including tomato, pepper, and eggplant [3,13]. Both are vectored by the potato psyllid (also known as the tomato psyllid) *Bactericera cockerelli* (Šulc) [5]. LsoC, LsoD, and LsoE are associated with *Apiacea* crops in Europe, the Middle East, and North Africa [9]. LsoC and LsoD are vectored by the carrot psyllids *Trioza apicalis* and *Bactericera trigonica*, respectively, whereas LsoE has no confirmed vectors [9]. LsoU is associated with *Urticaceae* [9].

Lso is phloem-restricted, causing symptoms typical of phloem-limited pathogens [14]. Aboveground symptoms of Lso infection on potato and tomato include stunted growth (shortened, thickened internodes), leaf symptoms (purpling of lamina or midvein, chlorosis, curling), wilt symptoms (necrosis, plant collapse), and premature death [15,16]. It was observed previously that LsoB causes more significant symptoms than LsoA on tomatoes [17]. Greenhouse-grown tomatoes infected with LsoB typically showed earlier and more severe symptoms, including plant stunting and leaf curling, chlorosis, necrosis, and death of both young and old leaves, and newly produced leaves were often small and discolored [17]. By the eighth week post-infection, greenhouse plants infected with LsoB were typically dead or dying [17]. In contrast, LsoA-infected tomatoes continued to develop new leaves similar in appearance to uninfected plants, but were shorter than uninfected plants and typically remained alive more than 8 weeks post infection [17]. To date, Lso remains non-culturable in vitro [2].

Currently, the most widely used approach to manage Lso-related diseases is early and repeated applications of insecticides [18]. The consequences of these methods are the emergence of resistant psyllid populations [19] and antibiotic-resistant Lso pathovars. Efforts to select natural resistant cultivars have not been successful, but have identified differences in susceptibility in potatoes [20,21]. A potentially promising management approach is the application of beneficial microbes capable of promoting plant growth and natural plant defense mechanisms. Fungi capable of forming arbuscular mycorrhizae (AM) are especially good biocontrol candidates because mycorrhization can both stimulate plant health directly by promoting plant nutrient uptake leading to enhanced productivity [22,23] as well as alter plant susceptibility to certain pathogens, insects (vectors), and the symptoms they cause [24]. For example, improved growth and nutritional status with mycorrhization can compensate for insect feeding damage and facilitate the regrowth of tissues [25]. Improvements in nutritional status also may alter the source-sink nutrient distribution patterns within plants and thereby the suitability of foliar tissues to attackers [26–32]. Previous studies have shown that mycorrhization generally has a negative effect on herbivory by leaf chewing insects, but may have a positive (most frequent), neutral, or negative effect on phloem feeders such as psyllids [27,29–31,33]. A limited number of studies have focused on how mycorrhization affects the progress of diseases caused by phloem-limited pathogens vectored by phloem-feeding insects. Most of these reports focused on diseases caused by phytoplasmas and showed a reduction in disease severity or incidence that may be associated with a decrease in the titer of the phytoplasmas [28,34]. Although analysis of mycorrhizal effects on pathogens may be complicated by the potential impact of mycorrhization on the insect vector and other multi-trophic interactions, AM formation on the rootstocks of grafted tomato and pear also resulted in the reduction of disease symptoms caused by a *Phytoplasma* spp. [28]. It has been suggested that mycorrhization elicits an ISR-type response that primes jasmonic acid (JA) signaling in plants mitigating plant health problems caused by chewing insects and phloem residing pathogens, but potentially making them more susceptible to phloem-feeding insects [28,34]. This effect is referred to as mycorrhizal induced resistance (MIR) [35].

In this study, we test the hypothesis that mycorrhization of tomato by the AM fungus *Rhizophagus irregularis* prior to psyllid infestation is capable of mitigating symptoms caused by LsoA and the more severe LsoB. We hypothesize that mycorrhization alleviates disease symptoms via improvements in

plant productivity linked to enhanced nutrient uptake capacity and MIR associated with mycorrhization. We also investigate whether mycorrhization alters insect fertility or fitness that may be linked to a MIR effect. To test these hypotheses, a  $2 \times 3$  factorial experiment was used to compare the health and growth of tomato plants with or without mycorrhization by *R. irregularis*, treated with *B. cockerelli* infected with either LsoA or LsoB, or receiving no insects. Symptom development and plant growth were measured over an 8-week period. Psyllid oviposition and nymph survival also were measured.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plants

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar Moneymaker (Thompson & Morgan Inc., Jackson, NJ, USA) was used in this study. Seeds were surface-sterilized in diluted commercial bleach (3%) for 30 min and rinsed twice with sterilized water. Surface-sterilized seeds were pregerminated on water agar for 4–5 days. Pregerminated seeds were transferred to pots (10 × 10 × 10 cm) filled with an autoclaved mix (1:1, v:v) of turface (Turface Athletics MVP, Profile Products LLC, Buffalo Grove, IL) and sand (Brown Play Sand, Quikrete, Atlanta, GA) supplemented 1:100 g:g with slow-release rock phosphate. Plants were grown inside insect-proof cages (Bioquip Inc, Compton, CA) at room temperature with a photoperiod of 16h:8h (light:dark). Plants received 30 mL of sterile distilled water on alternating days and also 30 mL of 0.5 × Hoagland solution twice a week.

### 2.2. AM Fungi and Inoculation

The AM fungus utilized in this study is commercially distributed as Myke<sup>®</sup> Pro Potato L (Premier Tech, Québec, Canada). One-hundred microliter of Myke<sup>®</sup> Pro Potato L containing 10,500 viable spores/mL of *R. irregularis* were injected into the soil in the immediate vicinity of the root system of one-week-old plants. The control plants also received a 100 µL aliquot of a filtrate (obtained by 30 µm-sieving of the AMF inoculum in order to provide all nutritional and microbial components of the inoculum other than living AMF). Mycorrhization was quantified on 10 plants chosen randomly per inoculation treatment per experiment at three- and eleven-weeks after inoculation after trypan blue staining [36] as the percentage of the root length colonized [37].

### 2.3. Insects

Currently, there are four different *B. cockerelli* haplotypes in the United States [38], and the Northwestern haplotype was used in this study. Colonies of *B. cockerelli* harboring LsoA or LsoB were previously characterized and maintained as described by Mendoza-Herrera et al. [17]. Diagnostic PCR analyses to detect Lso in *B. cockerelli* were performed for all colonies as described previously [39,40], and confirmed infection status. Three weeks after AM fungus inoculation, three adult male and three adult female psyllids from the confirmed LsoA- or LsoB-harboring colonies were placed on a single leaf inside an “organza-bag” [15] in the middle tier of the shoot system and adult psyllids were removed two days later. Uninfested plants were maintained similarly, but no psyllids were added.

### 2.4. Experimental Design

The experiment consisted of a  $2 \times 3$  factorial completely randomized design with two inoculation treatments: non-mycorrhized plants (NM) and mycorrhized plants (Ri) and three infestation treatments: psyllids harboring LsoA, psyllids harboring LsoB, and uninfested plants (no psyllids). There were 12 replicates of each inoculation treatment, totaling 72 plants (one plant per pot). The entire experiment was replicated twice between May 2015 and June 2016, and all experiments were terminated 8 WAI before the plants outgrew the insect-proof cages.

### 2.5. Assessment of the *R. irregularis* Effects on Disease Development and Plant Growth

After infestation, the disease symptom development was monitored until 8 WAI. The incidence and severity of foliar disease symptoms were scored 3, 6, 8 WAI based on the 0 to 4 scale, as described in Table 1. For incidence, a rating of 1–4 was scored as symptomatic, and severity estimates were made only on symptomatic plants. Growth measurements were taken at experiment termination on 10 randomly chosen plants per treatment and included root and shoot dry weights, plant height, and number of green leaves.

**Table 1.** Rating scale of disease severity on tomato.

Score	Symptom Type
0	No symptoms
1	Slight curling and/or purpling of leaves
2	Mild stunting of the plant, wilting and leaf midvein purpling
3	Accentuated stunting, yellowing, interveinal chlorosis. Presence of vein greening mottled or chlorotic leaves
4	Extreme stunting and extreme scorching, wilt, yellowing or interveinal chlorosis. Mottled or chlorotic leaves. Plant collapse and death of the plant.

### 2.6. Detection of *Lso* on Top-Tier Leaves

In order to detect *Lso* movement from the site of infection, tissues from newly expanded leaves (mid-vein) were sampled from the top-tier of leaves at 3 and 6 WAI. DNA was extracted as described previously [15]. PCR-based detection was carried out using the *Lso* TX 16/23 primers to amplify 383 bp of the 16S-23S rDNA intergenic region, as described previously [41–43]. This primer set cannot discriminate between *LsoA* and *LsoB*. Positive PCR controls consisted of psyllid and tomato genomic DNA previously authenticated as infected by *Lso*, whereas the negative control was genomic DNA from an *Lso*-free tomato [15]. The tomato elongation factor-1 (EF1) gene primer set EF1 F/EF1 R was used to control for false negatives in plant samples [40].

### 2.7. Assessment of AM Effect on *B. cockerelli* Oviposition and Nymph Survival

Two days after infestation, the adult psyllids were removed from the leaves, and eggs were counted. One week later, living nymphs were counted on alternate days. Manipulation of plants for nymph counting (including removal and replacement of organza bags) sometimes resulted in injury or breakage of the leaf. Data from leaves that became injured were excluded. Young adults were removed as they emerged.

### 2.8. Statistical Analyses

For all analyses, data from both experiments were pooled. For percent root colonization, data were log-transformed to ensure normality. A general linear model (ANOVA) and Fisher's protected LSD were used to analyze transformed root colonization data and disease severity data. For the growth data, missing data were input using the multivariate singular value decomposition (SVD) method. Logistic regression was performed on growth data and showed that all growth variables were significant predictors of treatment effects. Growth data were analyzed using a generalized linear mixed model (GLMM) with *Lso* treatment, mycorrhizal treatment, and *Lso* × mycorrhizal treatment as fixed effects, and a Student's *t* was used for multiple comparisons. For psyllid life stages (eggs vs nymphs), means were compared at each observation date using the same fixed effects and multiple comparison statistic, and a multivariate analysis of variance (MANOVA) was used for comparisons across dates.

All analyses were performed in JMP<sup>®</sup> version 14.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1989-2019), *P*-value < 0.05.



### 3. Results

#### 3.1. Estimation of Root Colonization by AM Fungi *Rhizophagus Irregularis*

Root colonization by *R. irregularis* was assessed twelve weeks after the inoculum was applied to the plants. Data for root length colonization was slightly, but significantly different among treatments, e.g.,  $82 \pm 0.1 \geq 75 \pm 0.1 \geq 69 \pm 0.1\%$ , for plants infested with LsoB-infected psyllids, no-psyllids, and LsoA-infected psyllids, respectively.

#### 3.2. *Rhizophagus Irregularis* Delays the Development of Symptoms Associated with Lso Infection and Promotes Plant Growth under Disease Stress

Plants that were not infested with psyllids remained healthy during the entire experiment and displayed no disease symptoms. For both mycorrhized and non-mycorrhized plants infested with psyllids no disease symptoms were observed at 3 WAI (Table 2). By 6 WAI, both mycorrhized and non-mycorrhized plants displayed disease symptoms (e.g., distorted growth, especially shortened internodes or stunting), regardless of whether the psyllids harbored LsoA or LsoB. Wilt symptoms were observed first on non-mycorrhized plants (~3 days after 3 WAI). Disease incidence based on symptoms at 6 WAI was 100% for non-mycorrhized plants treated with Lso-infected psyllids compared to 42% for mycorrhized plants treated with Lso-infected psyllids (Table 2). By 8 WAI, disease incidence based on symptoms for mycorrhized plants was 58%, and these results were consistent between experiments. However, there were no differences in the mean disease severity indices for non-mycorrhized versus mycorrhized plants that displayed disease symptoms (Table 2). These data indicate that mycorrhization reduced the incidence of disease, but once mycorrhized plants acquired symptoms associated with Lso infection, the symptoms developed to the same level of severity. Notably across both experiments, four of 14 mycorrhized plants that did not have any symptoms at 6 WAI, developed advanced symptoms by 8 WAI. In general, the symptoms because of LsoB were more severe than those because of LsoA (Table 2).

**Table 2.** Disease incidence and severity assessment.

Disease Quantification	Lso and Inoculation Treatment		3 WAI	6 WAI	8 WAI
Disease Incidence	LsoA	Non-mycorrhized plants	0%	100%	100%
		Mycorrhized plants	0%	42%	58%
	LsoB	Non-mycorrhized plants	0%	100%	100%
		Mycorrhized plants	0%	42%	58%
Disease Severity Indices	LsoA	Non-mycorrhized plants	0.0	3.0 ± 0.1 b	3.5 ± 0.1 b
		Mycorrhized plants	0.0	3.0 ± 0.1 b	3.7 ± 0.1 b
	LsoB	Non-mycorrhized plants	0.0	3.5 ± 0.1 a	4.0 ± 0.0 a
		Mycorrhized plants	0.0	3.6 ± 0.0 a	4.0 ± 0.0 a

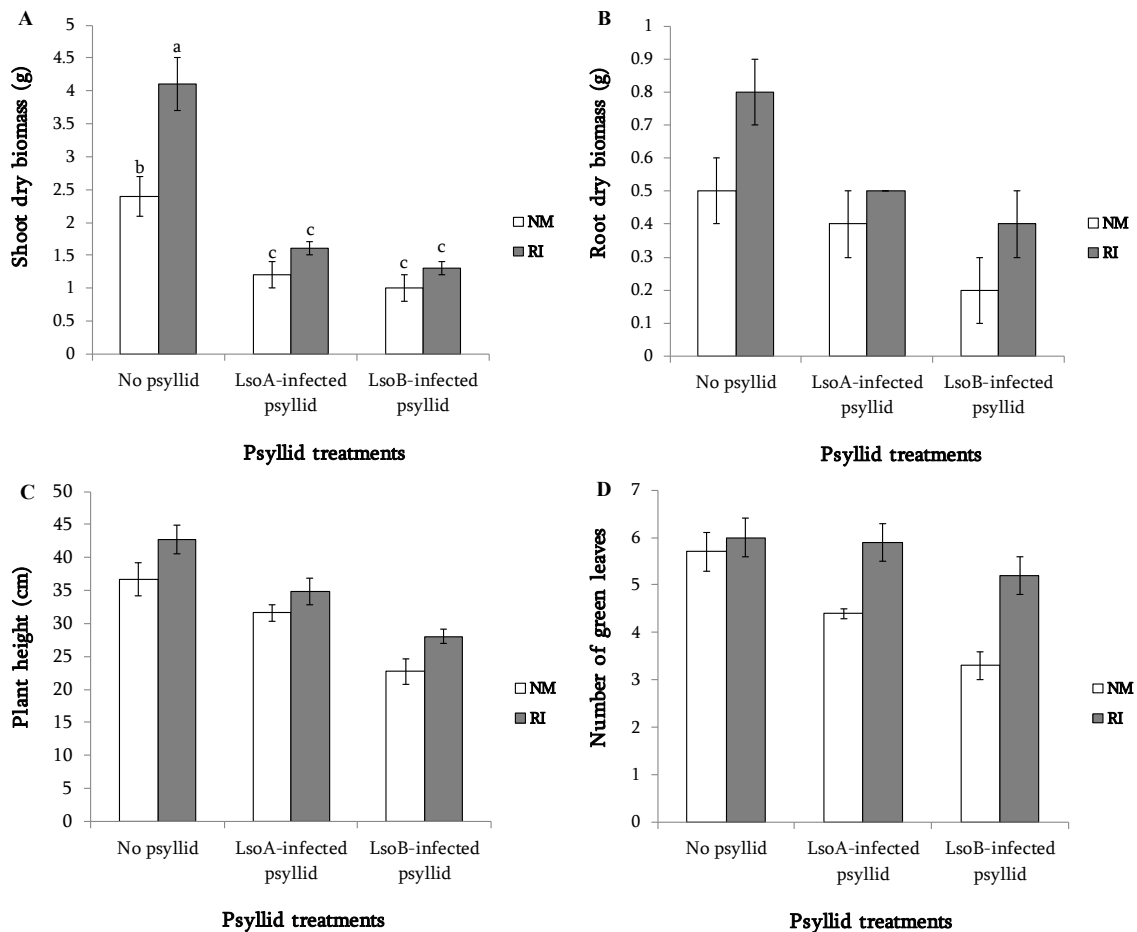
Incidence is reported as the percentage of plants out of 24 replicate plants per treatment that displayed disease symptoms, e.g., disease severity score is  $\geq 1$ . Disease severity was assessed only on plants displaying symptoms and is expressed as the mean  $\pm$  standard error. Disease incidence was identical across both experiments. Disease severity data are pooled across experiments. For each date, means marked with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to LSD test.

Lso was detectable via PCR by 3 WAI, and about half of the symptomatic plants were Lso positive. By 6 WAI, 75% of the symptomatic plants tested Lso positive via PCR, but only 50% of symptomless, psyllid infested plants were Lso positive (data not shown).

The analysis indicated a significant Lso treatment-by-mycorrhization treatment interaction effect ( $p < 0.05$ ), but only for shoot dry weight biomass production, indicating that mycorrhization improved shoot biomass production of the uninfected plants, but not the Lso infected plants, which were significantly smaller than the uninfected plants (groups 'a' and 'b' vs. group 'c' in Figure 1A). For all other variables there was a significant main effect for mycorrhization treatment ( $p < 0.05$ ), which



resulted in greater root biomass, plant height, and leaf number in mycorrhized plants (NM vs. RI in Figure 1B–D). There also was a significant main effect for Lso treatment for these three variables ( $p < 0.05$ ). Multiple comparisons indicated LsoB-infected plants had less root growth, were shorter, and produced/retained fewer leaves than the uninfected plants, and were shorter and produced fewer leaves than the LsoA-infected plants.



**Figure 1.** Influence of mycorrhization and Lso infection on tomato shoot dry weight (A), root dry weight (B), height (C), and number of leaves (D). NM: non-mycorrhized plants, RI: mycorrhized plants. Growth data are pooled across experiments. For shoot dry weight biomass there was a significant Lso treatment-by-mycorrhization treatment interaction effect, and bars marked with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to multiple comparisons using Student's t test. For all other variables, there were significant mycorrhization treatment and Lso treatment main effects ( $p < 0.05$ ). Multiple comparisons ( $p < 0.05$ ) were used to test for differences among Lso treatments. Results were as follows: RI > NM, root dry weight: no-psyllid  $\geq$  LsoA  $\geq$  LsoB, plant height: no-psyllid = LsoA > LsoB, leaf number: no-psyllid > LsoA > LsoB.

### 3.3. Effect of Mycorrhization on the Development of Nymphs from Parents Harboring Different Lso Haplotypes

Mycorrhization by *R. irregularis* also influenced psyllid oviposition success, but the effect of mycorrhization differed based on the Lso haplotype the psyllids harbored. In the absence of mycorrhization, psyllids harboring LsoA laid significantly more eggs than psyllids harboring LsoB. However, mycorrhization significantly reduced the number of eggs laid by psyllids harboring LsoA, but had no effect on the number of eggs laid by psyllids harboring LsoB (Table 3). All eggs hatched 9 DAI regardless of the treatments. As expected based on egg number, there were more nymphs from LsoA-infected *B. cockerelli* parents on non-mycorrhized plants than mycorrhized plants. However, there was a significant decrease in the number of living LsoA-infected nymphs from 9 DAI to 11 DAI

on mycorrhized plants, but no such decline was observed on non-mycorrhized plants. Number of hatched eggs from LsoB-infected parents resulted in statistically similar nymph populations at 9 and 11 DAI, regardless of the mycorrhization treatment.

**Table 3.** Psyllid life history assessment.

	Treatments	Eggs	Nymphs 9 DAI	Nymphs 11 DAI
LsoA	Non-mycorrhized plants	50.6 ± 3.4 a	37.7 ± 4.3 a	30.5 ± 3.6 a
	Mycorrhized plants	25.1 ± 1.9 b	15.0 ± 2.0 b *	8.2 ± 1.4 b *
LsoB	Non-mycorrhized plants	19.3 ± 2.4 c	6.3 ± 0.9 c	4.9 ± 0.8 b
	Mycorrhized plants	14.9 ± 2.0 c	7.3 ± 1.2 c	6.2 ± 1.1 b

Influence of mycorrhization on oviposition and nymph survival by *B. cockerelli* harboring LsoA or LsoB. Data are pooled across experiments. Number of eggs and the number of nymphs at 9 and 11 days after infestation per leaf. Data are reported as means and standard errors, and for each column means marked with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) according to Student's *t* test. \* indicate a significant change in nymph numbers from 9 to 11 DAI as determined by MANOVA.

The findings indicate that mycorrhization significantly reduced oviposition by psyllids harboring LsoA and survival of nymphs from these eggs. However, mycorrhization had no effect on oviposition by psyllids harboring LsoB or the survival of nymphs from parents harboring LsoB.

#### 4. Discussion

Efforts to manage diseases of solanaceous plants caused by Lso have been complicated by the presence of two Lso haplotypes that differ in the intensity of disease symptoms they cause. In this study, we examined whether mycorrhization mitigates disease symptoms in tomato caused by both LsoA and LsoB haplotypes. To avoid bias because of vector genotype, all *B. cockerelli* insects used in this study were from the U.S. Northwestern haplotype. Disease symptoms developed in 100% of non-mycorrhized, psyllid-treated plants. As reported previously [17], disease symptoms in non-mycorrhized plants infected with LsoB were significantly more severe than in plants infected with LsoA. In the previous study, advanced symptom development was associated with higher Lso titer as measured via quantitative PCR and a distinct Lso distribution.

Our study demonstrated that mycorrhization consistently reduced the incidence of disease. Whereas 100% of non-mycorrhized plants developed significant disease, at least 40% of the mycorrhized plants were still without discernable disease symptoms at 8 weeks, and this was consistent in two separate experiments. The benefits of mycorrhization are particularly important for LsoB-infected tomatoes that typically do not survive beyond 8 weeks under greenhouse conditions [17]. We still do not know why some of the mycorrhized plants developed disease symptoms and 40% of the population did not. Our data indicate that mycorrhization did not prevent Lso infection, because Lso was detectable in the non-symptomatic plants. However, as reported previously [15], conventional PCR was not sensitive enough to detect Lso in the newly expanded leaves of all symptomatic plants, and we detected Lso in only ~50% of the Ri-treated non-symptomatic plants. Future studies should investigate whether the reduced disease severity observed in AM inoculated plants is associated with a reduction in Lso titer or a modification of Lso distribution.

Previous reports suggested that mycorrhization may mitigate disease via improvements in plant vigor and MIR-mediated effects on disease progress, psyllid fitness, or both [35]. As expected, mycorrhization promoted shoot biomass production in the absence of Lso infection and root biomass, plant height, and leaf production/retention in the absence or presence of mycorrhization [22,23]. These findings are consistent with the hypothesis that mycorrhization contributed to plant vigor and the mitigation of LsoA- and LsoB-mediated disease symptoms [44]. Enhanced uptake of phosphorous is one of the major benefits provided by mycorrhizae to plants [45], and indeed injection of potassium

phosphate (in combination with other compounds) into CLAs-infected citrus trees suppressed HLB disease symptoms and reduced CLAs titer [46].

A growing body of evidence suggests that mycorrhization elicits a MIR response that primes JA-dependent defense responses in plants [35]. Consistent with this hypothesis, mycorrhization has been shown to mitigate plant health problems caused by necrotrophs and chewing insects, whereas mycorrhized plants may be more susceptible to biotrophs and potentially phloem-feeding insects targeted by salicylic acid (SA)-regulated defenses [28,34]. This pattern correlates with an activation of JA-dependent defenses and repression of SA-dependent ones [35]. JA-dependent defense responses also may reduce insect growth, development, and survival on plants [47]. However, insect behaviors and development on plants are likely to be complicated by the effect of endosymbionts/plant pathogens on insect physiology as well as on JA and SA-regulated plant defenses once transmitted to the plant. Although not investigated in this no-choice experiment, previous studies demonstrated a positive correlation between plant mycorrhization and phloem-feeding performance [27,28,30–32,35,48]. We investigated whether mycorrhization would influence other psyllid behaviors. Our study documented MIR-mediated changes in psyllid oviposition behavior, but this effect was strongly dependent on the Lso haplotype harbored by the parent. On non-mycorrhized plants, the number of eggs laid by females harboring LsoA was significantly greater than that observed for females harboring LsoB. On mycorrhized plants, the number of eggs laid by females harboring LsoA was no different from the low number of eggs laid by females harboring LsoB on either mycorrhized or non-mycorrhized plants. Mycorrhization also reduced the survival of nymphs hatching from the eggs of LsoA-infected parents. Nymph numbers from the eggs of LsoB-infected parents were generally low and not significantly different on non-mycorrhized and mycorrhized plants. We do not know the mechanism underlying the effects of MIR on the ovipositioning behavior of parents or the survival of nymphs harboring LsoA. We hypothesize that feeding nymphs might be directly affected by MIR induced production of volatile organics compounds, phytoalexins, or other defense-related molecules produced by plants in response to insect herbivory [49]. We speculate that different Lso haplotypes induce distinct responses in plants and insects, which influence the observed differences in psyllid behavior between LsoA and LsoB parents.

These results constitute the first report that mycorrhization mitigates disease on tomato Lso-caused by both LsoA and LsoB. These results reinforce the idea that mycorrhization confers resistance to phloem-limited pathogens [28,34]. However, Lso-mediated disease involves complex interactions between pathogen, vector, and host, and it is still unclear to us how mycorrhization is affecting these interactions. Future experiments under greenhouse conditions and ultimately in the field will be required to determine whether mycorrhization can protect plants sufficiently to improve marketable yield and to dissect whether there are differences in the outcome of yield trials because of different Lso haplotypes.

**Author Contributions:** E.-O.T., L.S.P.III, C.T., J.G.L., and E.A.P. contributed to the experimental design, the interpretation of the results, and the writing of the original manuscript. E.-O.T. conducted the DNA extraction and PCR-based detection and all plant, insect, and mycorrhizal measurements under the supervision of J.G.L. and E.A.P., E.-O.T., K.H., J.G.L., and E.A.P. statistically analyzed data and interpreted results. K.A. and Y.C.B. reviewed and edited the manuscript, especially during the review process. C.T. generously provided insects and guidance on best practices using them. All authors read and approved the manuscript.

**Funding:** The funds of this work were provided by the Institute of International Education, Foreign Fulbright Programs Division (Junior Staff Development Program Number G-1-00001) and indirect funds provided to E.A.P. from previous United States Department of Agriculture research support.

**Acknowledgments:** We thank the current and former members of the Pierson research group: Jun Myoung Yu, Panatda Saenkham, Robert Dorosky, Huiqiao Pan, Tessa Rose Mahmoudi, Emily Boak, and Jeroen Versteegen as well as current and former members of Tamborindéguy research group: Freddy Ibanez and Azucena Mendoza-Herrera. We also thank Fred T. Davies and Fatmeh Matsouri for helpful discussions. We thank Premier Tech, Québec, Canada for providing Myke® Pro Potato for this study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## References

1. Tamborindéguy, C.; Huot, O.B.; Ibanez, F.; Levy, J. The influence of bacteria on multitrophic interactions among plants, psyllids, and pathogen. *Insect Sci.* **2017**, *24*, 961–974. [[CrossRef](#)]
2. Wang, N.; Pierson, E.A.; Setubal, J.C.; Xu, J.; Levy, J.G.; Zhang, Y.; Li, J.; Rangel, L.T.; Martins, J. The Candidatus Liberibacter–Host interface: Insights into pathogenesis mechanisms and disease control. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2017**, *55*, 451–482. [[CrossRef](#)]
3. Liefteing, L.W.; Perez-Egusquiza, Z.C.; Clover, G.R.G.; Anderson, J.A.D. A new ‘Candidatus Liberibacter’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant. Dis.* **2008**, *92*, 1474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Munyaneza, J.E.; Fisher, T.W.; Sengoda, V.G.; Garczynski, S.F.; Nissinen, A.; Lemmetty, A. First report of “Candidatus Liberibacter solanacearum” associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant. Dis.* **2010**, *94*, 639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Nelson, W.R.; Fisher, T.W.; Munyaneza, J.E. Haplotypes of “Candidatus Liberibacter solanacearum” suggest long-standing separation. *Eur. J. Plant. Pathol.* **2011**, *130*, 5–12. [[CrossRef](#)]
6. Alfaro-Fernández, A.; Siverio, F.; Cebrián, M.C.; Villaescusa, F.J.; Font, M.I. ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ associated with *Bactericera trigonica*-affected carrots in the Canary Islands. *Plant. Dis.* **2012**, *96*, 581. [[CrossRef](#)]
7. Nelson, W.R.; Sengoda, V.G.; Alfaro-Fernandez, A.O.; Font, M.I.; Crosslin, J.M.; Munyaneza, J.E. A new haplotype of “Candidatus Liberibacter solanacearum” identified in the Mediterranean region. *Eur. J. Plant. Pathol.* **2012**, *135*, 633. [[CrossRef](#)]
8. Tahzima, R.; Maes, M.; Achbani, E.H.; Swisher, K.D.; Munyaneza, J.E.; De Jonghe, K. First report of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ on carrot in Africa. *Plant. Dis.* **2014**, *98*, 1426. [[CrossRef](#)]
9. Haapalainen, M.; Wang, J.; Latvala, S.; Lehtonen, M.T.; Pirhonen, M.; Nissinen, A.I. Genetic variation of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ haplotype C and identification of a novel haplotype from *Triozia urticae* and stinging nettle. *Phytopathology* **2018**, *108*, 925–934. [[CrossRef](#)]
10. Haapalainen, M.; Kivimäki, P.; Latvala, S.; Rastas, M.; Hannukkala, A.; Jauhiainen, L.; Lemmetty, A.; Pirhonen, M.; Virtanen, A.; Nissinen, A.I. Frequency and occurrence of the carrot pathogen ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ haplotype C in Finland. *Plant. Pathol.* **2017**, *66*, 559–570. [[CrossRef](#)]
11. Hansen, A.K.; Trumble, J.T.; Stouthamer, R.; Paine, T.D. A new Huanglongbing species, “Candidatus Liberibacter psyllauros,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 5862–5865. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Pitman, A.R.; Drayton, G.M.; Kraberger, S.J.; Genet, R.A.; Scott, I.A.W. Tuber transmission of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ and its association with Zebra Chip on potato in New Zealand. *Eur. J. Plant. Pathol.* **2011**, *129*, 389–398. [[CrossRef](#)]
13. Camacho-Tapia, M.; Rojas-Martínez, R.I.; Zavaleta-Mejía, E.; Hernández-Deheza, M.G.; Carrillo-Salazar, J.A.; Rebollar-Alviter, A.; Ochoa-Martínez, D.L. Aetiology of chili pepper variegation from Yurécuaro, México. *J. Plant. Pathol.* **2011**, *93*, 331–335.
14. Callaway, E. Bioterror: The green menace. *Nature* **2008**, *452*, 148–150. [[CrossRef](#)]
15. Levy, J.; Ravindran, A.; Gross, D.; Tamborindéguy, C.; Pierson, E. Translocation of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’, the Zebra Chip pathogen, in potato and tomato. *Phytopathology* **2011**, *101*, 1285–1291. [[CrossRef](#)]
16. Harrison, K.; Tamborindéguy, C.; Scheuring, D.C.; Herrera, A.M.; Silva, A.; Badillo-Vargas, I.E.; Miller, J.C.; Levy, J.G. Differences in Zebra Chip severity between ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ haplotypes in Texas. *Am. J. Potato Res.* **2019**, *96*, 86–93. [[CrossRef](#)]
17. Mendoza-Herrera, A.; Levy, J.; Harrison, K.; Yao, J.; Ibanez, F.; Tamborindéguy, C. Infection by Candidatus Liberibacter solanacearum’ haplotypes A and B in *Solanum lycopersicum* ‘Moneymaker’. *Plant. Dis.* **2018**, *102*, 2009–2015. [[CrossRef](#)]
18. Echegaray, E.R.; Rondon, S.I. Incidence of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) under different pesticide regimes in the lower Columbia basin. *J. Econ. Entomol.* **2017**, *110*, 1639–1647. [[CrossRef](#)]
19. Prager, S.M.; Vindiola, B.; Kund, G.S.; Byrne, F.J.; Trumble, J.T. Considerations for the use of neonicotinoid pesticides in management of *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Hemiptera: Triozidae). *Crop Prot.* **2013**, *54*, 84–91. [[CrossRef](#)]

20. Diaz-Montano, J.; Vindiola, B.G.; Drew, N.; Novy, R.G.; Miller, J.C.; Trumble, J.T. Resistance of selected potato genotypes to the potato psyllid (Hemiptera: Trioziidae). *Am. J. Potato Res.* **2014**, *91*, 363–367. [[CrossRef](#)]
21. Levy, J.G.; Scheuring, D.C.; Koym, J.W.; Henne, D.C.; Tamborindeguy, C.; Pierson, E.; Miller, J.C. Investigations on putative Zebra Chip tolerant potato selections. *Am. J. Potato Res.* **2015**, *92*, 417–425. [[CrossRef](#)]
22. Smith, S.E.; Jakobsen, I.; Grønlund, M.; Smith, F.A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant. Physiol.* **2011**, *156*, 1050–1057. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Smith, S.E.; Smith, F.A. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia* **2012**, *104*, 1–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Bennett, A.E.; Orrell, P.; Malacrino, A.; Pozo, M.J. Fungal-mediated above–belowground interactions: The community approach, stability, evolution, mechanisms, and applications. In *Aboveground–Belowground Community Ecology*; Ecological Studies; Ohgushi, T., Wurst, S., Johnson, S.N., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2018; Volume 234, pp. 85–116. ISBN 978-3-319-91614-9.
25. Bennett, A.E.; Bever, J.D. Mycorrhizal species differentially alter plant growth and response to herbivory. *Ecology* **2007**, *88*, 210–218. [[CrossRef](#)]
26. Bennett, A.E.; Alers-Garcia, J.; Bever, J.D. Three-way interactions among mutualistic mycorrhizal fungi, plants, and plant enemies: Hypotheses and synthesis. *Am. Nat.* **2006**, *167*, 141–152. [[CrossRef](#)]
27. Pozo, M.J.; Azcón-Aguilar, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Curr. Opin. Plant. Biol.* **2007**, *10*, 393–398. [[CrossRef](#)]
28. Pozo, M.J.; Jung, S.C.; López-Ráez, J.A.; Azcón-Aguilar, C. Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress: The role of plant defence mechanisms. In *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*; Koltai, H., Kapulnik, Y., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, The Netherlands, 2010; pp. 193–207. ISBN 978-90-481-9488-9.
29. Gehring, C.; Bennett, A. Mycorrhizal fungal–plant–insect interactions: The importance of a community approach. *Environ. Entomol.* **2009**, *38*, 93–102. [[CrossRef](#)]
30. Koricheva, J.; Gange, A.C.; Jones, T. Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: A meta-analysis. *Ecology* **2009**, *90*, 2088–2097. [[CrossRef](#)]
31. Barber, N.A.; Kiers, E.T.; Hazzard, R.V.; Adler, L.S. Context-dependency of arbuscular mycorrhizal fungi on plant–insect interactions in an agroecosystem. *Front. Plant. Sci.* **2013**, *4*, 338. [[CrossRef](#)]
32. Pozo, M.J.; López-Ráez, J.A.; Azcón-Aguilar, C.; García-Garrido, J.M. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* **2015**, *205*, 1431–1436. [[CrossRef](#)]
33. Wehner, J.; Antunes, P.M.; Powell, J.R.; Mazukatow, J.; Rillig, M.C. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: A role for fungal diversity? *Pedobiologia* **2010**, *53*, 197–201. [[CrossRef](#)]
34. D’Amelio, R.; Berta, G.; Gamalero, E.; Massa, N.; Avidano, L.; Cantamessa, S.; D’Agostino, G.; Bosco, D.; Marzachi, C. Increased plant tolerance against *Chrysanthemum yellows* phytoplasma (‘Candidatus *Phytoplasma asteris*’) following double inoculation with *Glomus mosseae* BEG12 and *Pseudomonas putida* S1Pf1Rif. *Plant. Pathol.* **2011**, *60*, 1014–1022. [[CrossRef](#)]
35. Jung, S.C.; Martinez-Medina, A.; Lopez-Raez, J.A.; Pozo, M.J. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *J. Chem. Ecol.* **2012**, *38*, 651–664. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Phillips, J.M.; Hayman, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1970**, *55*, 158–161. [[CrossRef](#)]
37. Giovannetti, M.; Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* **1980**, *84*, 489–500. [[CrossRef](#)]
38. Swisher, K.D.; Sengoda, V.G.; Dixon, J.; Munyaneza, J.E.; Murphy, A.F.; Rondon, S.I.; Thompson, B.; Karasev, A.V.; Wenninger, E.J.; Olsen, N.; et al. Assessing potato psyllid haplotypes in potato crops in the pacific northwestern United States. *Am. J. Potato Res.* **2014**, *91*, 485–491. [[CrossRef](#)]
39. Nachappa, P.; Shapiro, A.A.; Tamborindeguy, C. Effect of ‘Candidatus *Liberibacter solanacearum*’ on Fitness of Its Insect Vector, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae), on Tomato. *Phytopathology* **2011**, *102*, 41–46. [[CrossRef](#)]



40. Nachappa, P.; Levy, J.; Pierson, E.; Tamborindeguy, C. Correlation between “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” infection levels and fecundity in its psyllid vector. *J. Invertebr. Pathol.* **2014**, *115*, 55–61. [[CrossRef](#)]
41. Ravindran, A.; Levy, J.; Pierson, E.; Gross, D.C. Development of primers for improved PCR detection of the potato Zebra Chip pathogen, ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’. *Plant. Dis.* **2011**, *95*, 1542–1546. [[CrossRef](#)]
42. Ravindran, A.; Levy, J.; Pierson, E.; Gross, D.C. Development of a loop-mediated isothermal amplification procedure as a sensitive and rapid method for detection of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in potatoes and psyllids. *Phytopathology* **2012**, *102*, 899–907. [[CrossRef](#)]
43. Levy, J.; Hancock, J.; Ravindran, A.; Gross, D.; Tamborindeguy, C.; Pierson, E. Methods for rapid and effective PCR-based detection of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ from the insect vector *Bactericera cockerelli*: Streamlining the DNA extraction/purification process. *J. Econ. Entomol.* **2013**, *106*, 1440–1445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Liu, J.; Maldonado-Mendoza, I.; Lopez-Meyer, M.; Cheung, F.; Town, C.D.; Harrison, M.J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant. J.* **2007**, *50*, 529–544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Javot, H.; Pumplun, N.; Harrison, M.J. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Transport properties and regulatory roles. *Plant. Cell Environ.* **2007**, *30*, 310–322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Hu, J.; Jiang, J.; Wang, N. Control of Citrus Huanglongbing via trunk injection of plant defense activators and antibiotics. *Phytopathology* **2017**, *108*, 186–195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Howe, G.A.; Jander, G. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2008**, *59*, 41–66. [[CrossRef](#)]
48. Pozo, M.J.; Cordier, C.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi, S.; Barea, J.M.; Azcón-Aguilar, C. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* **2002**, *53*, 525–534. [[CrossRef](#)]
49. Ahmad, S.; Veyrat, N.; Gordon-Weeks, R.; Zhang, Y.; Martin, J.; Smart, L.; Glauser, G.; Erb, M.; Flors, V.; Frey, M.; et al. Benzoxazinoid metabolites regulate innate immunity against aphids and fungi in maize. *Plant. Physiol.* **2011**, *157*, 317–327. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

# Interaction entre *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, exsudats racinaires antifongiques du type hévéine et stress hydrique chez le clone d'hévéa IRCA 331 greffé au clone GT1

Eric-Olivier TIENEBO<sup>1\*</sup>, Kouabenan ABO<sup>1</sup>, Kouakou Théodore KOUADIO<sup>1</sup>, Benson Josué Arnold N'GAH<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

\* Auteur correspondant : [eric.tienebo@inpbb.ci](mailto:eric.tienebo@inpbb.ci); +225 07 26 59 47.

**Mots-clés :** Exsudats racinaires antifongiques, stress hydrique, *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, *Hevea brasiliensis*, Résistance induite.

**Keywords:** Hevein-like antifungal root exudates, water stress, *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198, *Hevea brasiliensis*, Induced resistance.

Publication date 31/10/2019, <http://www.m.elewa.org/JAPS>

## 1 RESUME

Cette étude avait pour objectifs d'évaluer sous serre l'effet des exsudats racinaires de type hévéine sur la mycorhization de l'hévéa et la résistance induite par *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 contre le stress hydrique chez le clone d'hévéa IRCA 331 greffé sur le GT1. Dans un dispositif en blocs de Fisher, la colonisation de plants de la variété de tomate UC82B et d'hévéa cultivés dans un même pot ou individuellement a été évaluée 15 jours post inoculation, date à laquelle tous les plants de tomate ont été retirés avant le test de stress hydrique. Vingt-huit jours après inoculation, les mêmes plants d'hévéa ont ensuite été soumis à 3 niveaux de stress hydrique conférés par une capacité de rétention d'eau du pot maintenue à 5%, 50% ou 100% durant 14 jours. Il en est résulté que le clone d'hévéa a une très bonne intensité de mycorhization (> 70%) et une bonne abondance arbusculaire (> 40%). Ces résultats suggèrent que *R. irregularis* DAOM 197198 posséderait un mécanisme de résistance aux exsudats antifongiques du type hévéine. Par ailleurs, la comparaison des indices de réflectance photochimique sous stress des plants non mycorhizés et ceux mycorhizés démontrent clairement que la mycorhization améliore significativement la résistance des plants au stress hydrique. La mycorhization pourrait donc substantiellement engendrer des économies de coûts d'irrigation et de fertilisation en pépinière. Toutefois, ces résultats doivent être confirmés par des tests au champ.

## ABSTRACT

The study objectives were to investigate the effect of hevein-like root exudates on rubber tree mycorrhization and inoculation effect of *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 on water stress tolerance of the rubber tree clone IRCA 331 grafted on GT1 rootstock. The colonization rate of tomato UC82B and rubber plants grown in same or individual pot was evaluated in a randomized complete blocks design set up in a glasshouse, 14 days post inoculation. After colonization assessment, all tomato plants were removed before water stress test begin. Twenty-eight days after inoculation, the rubber plants were subjected to 3

levels of water stress conferred by a pot water holding capacity maintained at 5%, 50% or 100%. We found that the clone has a very good mycorrhization intensity (> to 70%) and a good arbuscular abundance (> to 40%). These results suggest that *R. irregularis* DAOM 197198 has a mechanism of resistance to hevein-like antifungal root exudates. In addition, the comparison of the photochemical reflectance indexes under stress of non-mycorrhized and mycorrhized plants clearly shows that mycorrhization significantly improves the resistance of the plants to water stress. Mycorrhization could therefore substantially reduce irrigation and fertilization costs. However, these results must be confirmed by field tests.

## 2 INTRODUCTION

Les plantes cultivées sont soumises à plusieurs contraintes environnementales qui affectent leur croissance, leur développement, leur productivité et leur répartition géographique (Kang *et al.*, 2009). Le déficit hydrique constitue l'un des stress abiotiques les plus connus (Fotso *et al.*, 2019). Les pressions du stress hydrique déclenchent une pléthore de réponses végétales allant d'une modification de l'expression génétique et du métabolisme cellulaire à des changements morphologiques et anatomiques réduisant la croissance et les rendements (Macedo, 2012). En plus de leurs systèmes protecteurs intrinsèques contre ces contraintes, 90 % des plantes vasculaires terrestres vivent en symbiose avec des champignons mycorrhiziens à arbuscules (CMA) (Basu *et al.*, 2018; Fotso *et al.*, 2019). Les CMA peuvent contribuer à réduire la sévérité des divers types de stress (Chitarra *et al.*, 2016; Fotso *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2019). Dans un contexte d'agriculture durable, la mycorrhization contrôlée représente un outil potentiel de management agricole respectueux de l'environnement face aux défis du changement climatique et de la réduction des coûts et des inconvénients de la fertilisation combiné à l'irrigation (Sahraoui, 2013). Toutefois, une interrogation se pose quant à la possibilité de l'établissement de la symbiose dans certaines racines telles que celles de *Hevea brasiliensis* et *Urtica dioica* exsudant des substances diffusibles antifongiques du type hévéine (Choon Koo *et al.*, 2002; Noonan *et al.*, 2017; Slavokhotova *et al.*, 2014; Sosa Rodriguez *et al.*, 2013; Van Parijs *et al.*, 1991). Cette question est de toute importance, car les résultats de travaux

antérieurs sur différents clones d'hévéa se contredisent. Certains auteurs affirment que les exsudations racinaires de l'hévéa contiennent des substances antifongiques du type hévéine qui *in vitro* ou en culture en pots retardent considérablement la mycorrhization ou conduisent à un faible pourcentage de colonisation (0 – 15%) du clone PB 260 par la souche *R. irregularis* MUCL 41833 (Sosa Rodriguez *et al.*, 2013). D'autres auteurs ont plutôt observé un bon pourcentage de colonisation au champ (> 60%) du clone RRIM 600 par des isolats de *Glomus* et/ou *Acaulospora* (Basumatary *et al.*, 2014; Herrmann *et al.*, 2016). Ces résultats, en apparence contrastés, semblent être fonction du génotype des clones ou des isolats du micro-symbionte. Cette étude vise à déterminer, d'une part, l'impact de l'exsudation racinaire de l'hévéine sur la mycorrhization du porte-greffe du clone IRCA 331 (le GT1) en serre et d'autre part, la contribution de la mycorrhization à la tolérance du clone d'hévéa IRCA 331 au stress hydrique en serre. Il s'agissait donc de vérifier la première hypothèse selon laquelle une plante très mycotrophe comme la tomate ne puisse mycorrhizer lorsqu'elle est dans le voisinage immédiat (dans le même pot) d'un plant d'hévéa, malgré l'apport de propagules mycorrhiziennes viables. Les exsudats inhibiteurs vont donc diffuser rapidement et empêcher ou réduire considérablement la mycorrhization des racines de tomate et d'hévéa. Les mêmes plants du clone greffé IRCA 331 après invalidation de la première hypothèse ont été soumis à trois régimes hydriques 28 jours post inoculation. Il s'agissait là de vérifier la seconde hypothèse



selon laquelle les plants mycorhizés ont surtout un meilleur indice de réflectance photochimique (PRI), un indice résistance au

stress hydrique, (Gamon *et al.*, 1997; Garbulsky *et al.*, 2011; Peñuelas *et al.*, 2011, 2013) que les plants non mycorhizés.

### 3 MATERIEL ET METHODES

**3.1 Matériel biologique :** Le matériel biologique était composé de plants de pépinière du clone IRCA 331 greffé sur le clone GT1 et recépés à 6 mois d'âge. Ces plants n'étaient pas encore débourrés. Des semences de la variété de tomate UC82B (Bourget et Sanvoisin, France), préalablement désinfectées, pendant 25 min, dans de l'eau de Javel à 8° Cl diluée à 3%, puis prégermées pendant 5 jours, sur du papier buvard stérile à l'obscurité et à 25-30°C, ont aussi été utilisées. Pour l'inoculation mycorhizienne, la souche *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 a été utilisée dans une formulation commerciale poudreuse (Premier Tech, Canada) contenant 500 spores.g<sup>-1</sup>.

**3.1.1 Substrat de culture :** Le substrat de culture utilisé était un sol limono-sableux, préalablement tamisé (5 mm) et stérilisé à la vapeur (120 °C pendant 1 h/jour pendant 3 jours consécutifs) avant emploi. Les caractéristiques chimiques du sol étaient les suivantes : pH (H<sub>2</sub>O) 6,78, matière organique 3,39 % ; N 0,36 % ; rapport C/N 6,43 ; P total 825 ppm ; P disponible 50 ppm ; CEC 29,4 cmol.kg<sup>-1</sup> ; Ca<sup>2+</sup> 8,26 cmol.kg<sup>-1</sup> ; Mg<sup>2+</sup> 3,106 cmol.kg<sup>-1</sup> ; K<sup>+</sup> 0,458 cmol.kg<sup>-1</sup> ; Na<sup>+</sup> 0,218 cmol.kg<sup>-1</sup>. La capacité maximale de rétention d'eau (CR) du sol dans les pots de culture a été déterminée selon la méthode des pesées de (Turner, 2019) . Elle valait 1106 ml d'eau dans des pots de culture de 20 l.

### 3.2 Méthodes

**3.2.1 Conduites et dispositifs expérimentaux :** Les essais ont été réalisés entre janvier et Mars 2018 dans la serre vitrée du Département Agriculture et Ressources Animales de l'Institut National Polytechnique - Felix Houphouët Boigny de Yamoussoukro (6°12'10,8" latitude Nord et 5°14'21,876" longitude Ouest). Caractérisation de l'effet des exsudats racinaires d'hévéine sur la mycorhization de la variété de tomate UC82B et du clone IRCA 331

Différents traitements ont été réalisés pour l'étude portant sur l'inoculation ou non de *R. irregularis* (Ri) et la présence ou non de plants de tomate dans le même pot que des pieds d'hévéa :

- :Hri** : Inoculation de Ri au substrat ne contenant que des pieds d'hévéa ;
- 1) **ToRi** : Inoculation de Ri au substrat ne contenant que des pieds de tomate ;
- 2) **ToHRi (ToHRi T et ToHRi H)** : Inoculation de Ri au substrat contenant à la fois des pieds de tomate et des pieds d'hévéa ;
- 3) **To** : Pas inoculation de Ri au substrat ne contenant que des pieds de tomate ;
- 4) **Ho** : Pas inoculation de Ri au substrat ne contenant que des pieds d'hévéa.

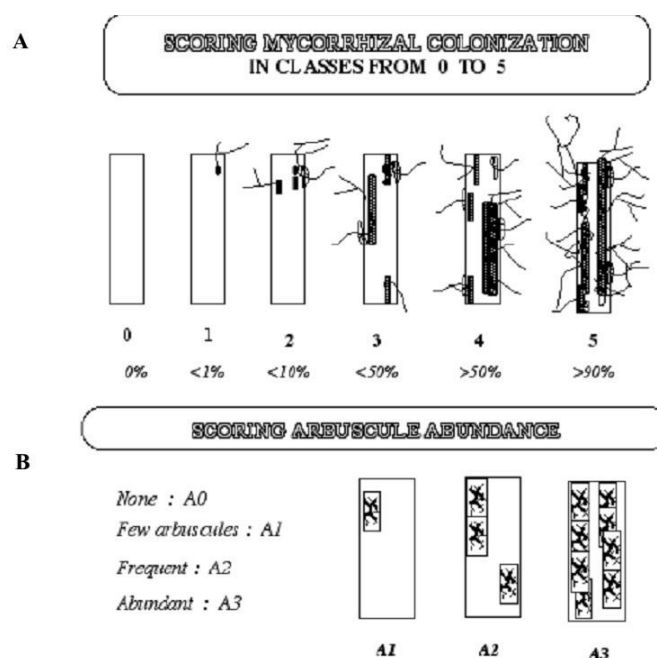
Les effets du traitement **ToHRi** en vue de la mycorhization de la tomate (**ToHRi T**) ont donc été comparés à ceux de **ToRi** (témoin positif). De même, les effets du traitement **ToHRi**, en vue de la mycorhization de l'hévéa (**ToHRi H**), ont été comparés à ceux de **Hri**. Les traitements **To** et **Ho** ont servi de témoins négatifs pour différencier, à l'observation microscopique, une racine mycorhizée d'une racine non-mycorhizée. À cet effet, un dispositif expérimental en randomisation totale avec 10 répétitions (soit au total, 30 plants d'hévéa et 30 plants de tomate) a été utilisé en serre. Les inoculations ont débuté 15 jours après le re-empotage des plants d'hévéa et semis de la tomate, le temps que les plants d'hévéa récupèrent des chocs du transport et du re-empotage et également pour le constat du débourrement. Dix (10) g d'inoculum mycorhizien ont été répandus dans la rhizosphère des plantes. Les plants témoins négatifs ont également reçu une portion autoclavée de 10 g préalablement filtré avec un tamis de maille de 30 µm de l'inoculum CMA afin de fournir la même population microbienne exempte de propagules MA. Vingt-quatre (24) heures après inoculation, tous les plants ont été arrosés jusqu'à la capacité

maximale de rétention d'eau du substrat. Cependant, 21 jours durant, les plants recevaient par intervalle de 2 - 3 jours, 1106 ml d'eau bi-distillée et autoclavée depuis le rempotage excepté le jour de l'inoculation. Durant l'essai, la température de la serre a oscillé entre 20,2 et 33°C ; la durée de l'ensoleillement était de 228,7 h et l'humidité relative a varié entre 45 et 85%. Aucun apport de fumure, aucun traitement de pesticides n'a été nécessaire durant l'essai.

**3.2.1.1 Caractérisation de l'effet de la mycorhization sur la tolérance du clone d'hévéa IRCA 331 au stress hydrique :** Pour l'étude portant sur l'inoculation (Ri) ou non (NM) de *R. irregularis* DAOM 197198) et 3 niveaux de stress hydriques très contrastés (non-stress, stress modéré et stress sévère) différents traitements ont été effectués. La méthode utilisée, pour l'application de la contrainte hydrique, est celle décrite par Turner (2019). Cette méthode consiste en des pesées qui permettent quotidiennement d'apporter le volume d'eau nécessaire pour maintenir la CR à 100 % (non-stress), 50% (stress modéré) et 5% (stress sévère) pendant 14 jours. Un plan

factoriel expérimental avec 12 répétitions (72 plants d'hévéa au total) a été utilisé en serre. Les conditions et autres pratiques de conduite expérimentale étaient identiques à celles indiquées précédemment. Les applications des différents régimes hydriques contrastés et susmentionnés ont commencé 28 jours post inoculation (jpi). Elles ont été étendues sur 14 jours.

**3.2.2 Détermination des paramètres d'infectivité :** Les mesures de la colonisation racinaire par le CMA sont intervenues 15 jours après inoculation (jpi) selon la méthode décrite par Trouvelot (Guillemin *et al.*, 1992; Trouvelot *et al.*, 1986). Pour ce faire, 30 fragments de racines d'environ 1 cm de longueur ont été préalablement colorés au bleu de trypan selon le protocole de Phillips & Hayman (1970), puis disposés parallèlement entre lame et lamelle, à raison de quinze par lame, dans une goutte de glycérol. L'examen histologique des structures mycorhiziennes dans chaque fragment racinaire s'est faite au microscope photonique Amscope avec l'aide de deux barèmes de classe de colonisation et d'abondance (Figure 1) (Trouvelot *et al.*, 1986).



**Figure 1.** Echelle de notation de l'intensité de mycorhization (A) et de l'abondance arbusculaire (B) (Trouvelot *et al.*, 1986).

Les paramètres d'infectivité déterminés sont les suivants :

La fréquence de mycorhization du système racinaire **F%**, qui est évaluée comme suit :

$$F\% = \frac{\text{nombre de fragments mycorhizés} \times 100}{n}, \text{ où } n$$

désigne le nombre total de fragments de racines.

L'intensité de mycorhization **M%** du système racinaire est obtenu suivant la formule :

$$M\% = \frac{95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1}{n}, \text{ où } n_i \text{ désigne le}$$

nombre de racines ayant une classe *i* de colonisation (Figure 1A) et *n*, le nombre total de fragments de racines déposés entre lame et lamelle.

Les paramètres d'effectivité (renseignant sur la fonctionnalité) de la symbiose sont :

L'abondance arbusculaire **a%** des parties mycorhizées des fragments de racines

$$a\% = \frac{100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1}{100}, \text{ où } mA_3, mA_2, \text{ et}$$

$mA_1$  sont les **m%**, évalués à l'aide des classes de figures d'arbuscules (Figure 1B) notées  $A_3, A_2, A_1$ , respectivement, avec

$$mA_i = \left( \frac{95n_5A_i + 70n_4A_i + 30n_3A_i + 5n_2A_i + n_1A_i}{\text{nombre de fragments mycorhizés}} \right) \times \frac{100}{m}$$

, où  $n_i$  désigne le nombre de racines ayant une

classe *i* de colonisation (Figure 1A)

L'abondance arbusculaire **A%** du système racinaire est calculée comme suit :  $A\% = a \times (M/100)$ .

**3.2.3 Détermination des paramètres des physico-chimiques des substrats de culture :** A l'aide d'un pH/moisture tester, le pH et l'humidité du substrat de culture ont été mesurés tous les deux jours depuis l'imposition de la contrainte hydrique. Ces mesures ont été réalisées à 08:00 AM, 01:00 PM et 05:30 PM.

**3.2.4 Détermination des paramètres morphométriques et physiologiques des plantes :** La longueur et le diamètre à la base de la tige issue du greffon ont été mesurés

respectivement au moyen d'un ruban-mètre et d'un calliper électronique en fin d'expérimentation (42 jpi). La température foliaire de la plus jeune feuille complètement développée a été mesurée à l'aide d'un thermomètre à infrarouge (LCD laser IR GM 320) dans les conditions sus-indiquées.. La teneur en chlorophylle également de la plus jeune feuille totalement développée a été déterminée en unités SPAD, en fin d'expérimentation, avec un chlorophyll meter SPAD502 (Minolta Camera, Japan). La mesure de l'indice de réflectance photochimique (PRI) a été effectuée à l'aide du PlantPen PRI 210 (PSI, Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republic) en comparant la réflectance des feuilles dans deux bandes de longueur d'onde étroites centrées à 531 nm et 570 nm. Ces mesures ont été réalisées tous les deux jours depuis l'imposition de la contrainte hydrique à 08:00 AM, 01:00 PM et 05:30 PM. Le nombre de feuilles vertes et non wiltées a été déterminé en fin d'expérimentation. La surface de la plus jeune feuille complètement développée a été déterminée à l'aide du logiciel ImageJ 1.50i après avoir été prestement scannée. L'intégrité membranaire des cellules de la plus jeune feuille complètement développée a été analysée immédiatement après le scan en mesurant la conductivité des électrolytes qui fuient des cellules foliaires (EC) (Azooz, 2009). Brièvement, la plus jeune feuille totalement développée a été lavée à l'eau distillée puis découpée en petits morceaux de 1 mm de longueur qui ont ensuite été placés dans 10 ml d'eau distillée et enfin laissés à température ambiante pendant 3 h avant que la conductivité de la solution  $C_1$  ne soit mesurée par un HI9813-6 Portable pH/EC/TDS/Temperature Meter (Hanna Instruments, Inc. USA). Ensuite, la conductivité a été à nouveau mesurée ( $C_2$ ) après 2 min d'ébullition et refroidissement à température ambiante. Le pourcentage de fuite d'électrolytes, EC, a été calculé comme suit :  $EC = C_1 \times 100/C_2$ .

Les poids frais (FW) et sec (DW) (après 48 heures au four à 65°C) des feuilles ont été utilisés pour calculer leur teneur relative en eau (RWC) selon la formule ci-après :  $RWC = (FW - DW) \times 100 / FW$  (Farhangi-

Abriz and Ghassemi-Golezani, 2018; Kaouther et al., 2013).

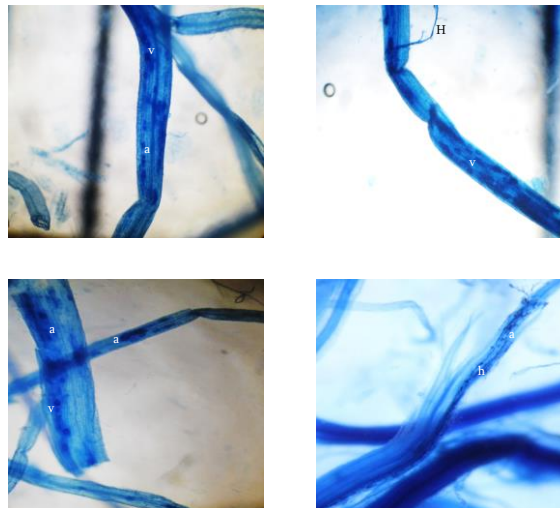
**3.3 Analyses statistiques :** Les résidus des données collectées n'étaient pas distribués selon la loi normale. Toutefois, avec le logiciel

XLSTAT 2018.1., les différences entre les effets des traitements ont été déterminées invariablement par le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis, la robustesse de l'ANOVA classique et l'ANOVA de Welch. Le test de comparaison par paires de Fisher LSD ou de Dunn a suivi pour grouper les traitements à effet identique.

## 4 RESULTATS

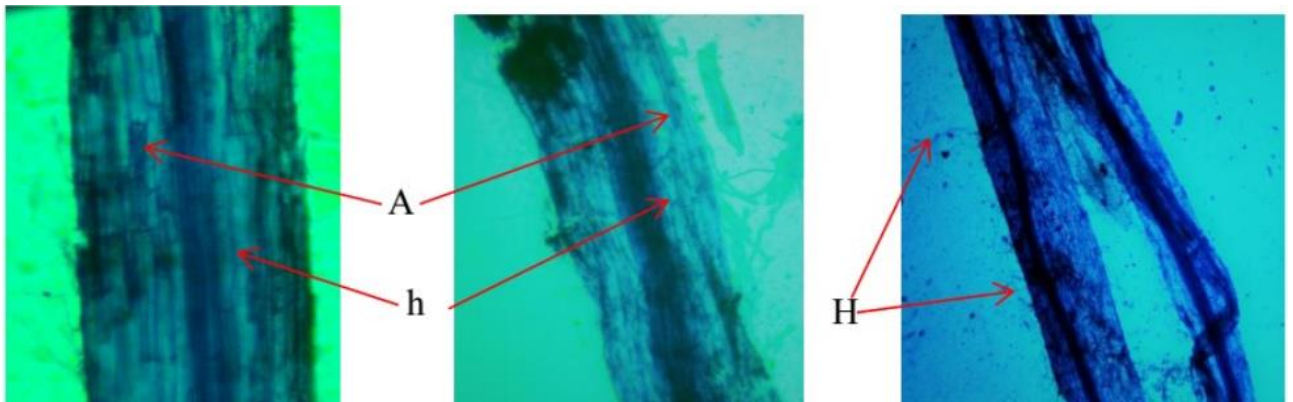
**4.1 Colonisation mycorhizienne :** Les figures 2 à 5 montrent la présence de structures

mycorhiziennes dans des racines de tomate et d'hévéa issues de substrats inoculés.



**Figure 2.** Structures mycorhiziennes des racines des plants de tomates issues de substrat contenant aussi IRCA331.

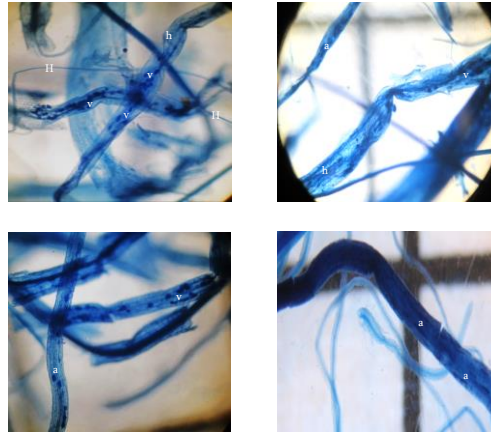
A : arbuscules ; h : hyphe intra racinaires ; H : hyphes extra racinaires (×400).



**Figure 3.** Structures mycorhiziennes des racines des plants de tomate, issues de substrat ne contenant que des pieds de tomate.

A : arbuscules ; h : hyphe intra racinaires ; H : hyphes extra racinaires (×600).





**Figure 4.** Structures mycorhiziennes des racines de IRCA331 issues de substrat contenant aussi de la tomate.

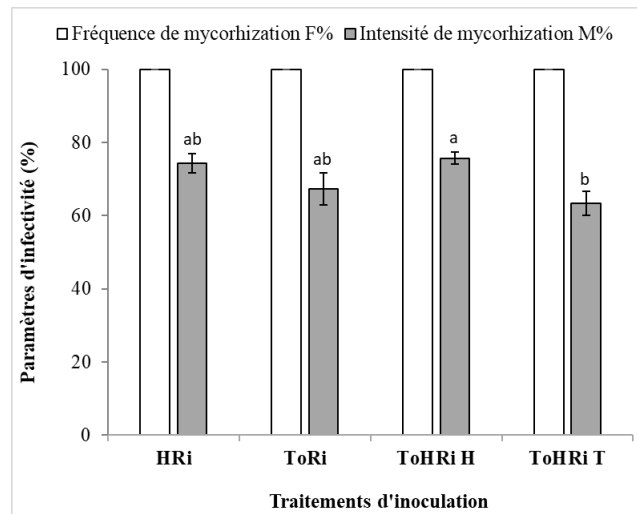
h : hyphe intra racinaires ; H : hyphes extra racinaires (×400).



**Figure 5.** Structures mycorhiziennes des racines de tomate (A) et du porte-greffe GT1 du clone d'hévéa IRCA 331 (B) issues de substrat non inoculé (×600).

Le porte-greffe GT1 avait une meilleure intensité de mycorhization que la tomate réputée mycotrophe (Figure 5). Les figures 2, 4 et 6 indiquent que les exsudats racinaires du

type hévéine du porte-greffe du clone IRCA 331 n'entravent pas la colonisation de ses racines du clone d'hévéa et de celles de la tomate par *R. irregularis* DAOM 197198.



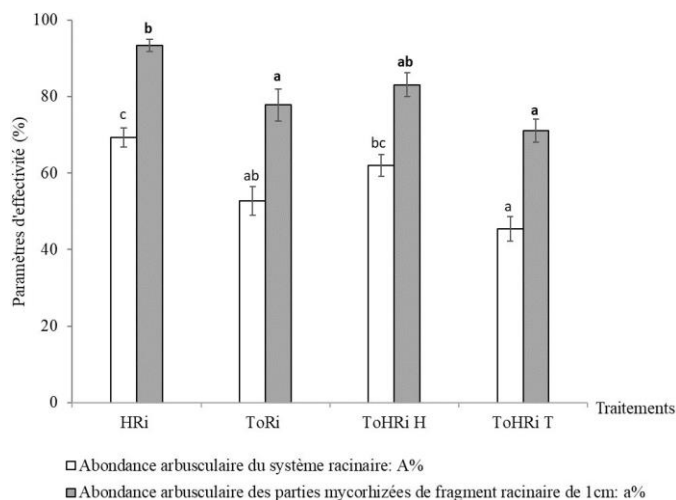
**Figure 6.** Infectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331.

HRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds d'hévéa. ToRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds de tomate. ToHRi T et ToHRi H : Inoculation de substrat contenant à la fois des pieds de tomate et d'hévéa. Les

barres représentant la moyenne de 10 mesures  $\pm$  écart-type, surmontées de différentes lettres sont significativement différentes ( $p = 0.027$ ).

Le porte-greffe GT1 a eu une meilleure abondance arbusculaire que la tomate réputée mycotrophe (Figure 6). Les figures 2, 4 et 7 montrent par l'abondance arbusculaire de *R.*

*irregularis* DAOM 197198 dans les racines que la mycorhization est fonctionnelle et pourrait procurer des bénéfices au clone IRCA 331.



**Figure 7.** Évaluation de l'effectivité mycorhizienne du porte-greffe du clone IRCA 331.

HRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds d'hévéa. ToRi : Inoculation de substrat ne contenant que des pieds de tomate. ToHRi T et ToHRi H : Inoculation de substrat contenant à la fois des pieds de tomate et d'hévéa. Les barres des traitements, représentant la moyenne de 10 mesures  $\pm$  écart type, surmontées de différentes lettres pour un paramètre donné sont très hautement significativement différentes ( $p = 0.0054$  pour a% et  $p = 0.0024$  pour A%).

**4.2 Effet différentiel des traitements sur le clone IRCA 331 :** Le phénotypage des plants IRCA 331 montre que les traitements ont différenciellement impacté leur croissance végétative. La croissance et l'aspect des plants s'est détérioré significativement avec la sévérité du stress quoique le clone IRCA 331 semble

posséder une résilience native au stress hydrique moyennement sévère. Néanmoins, comparativement aux plants non mycorhizés, les plants mycorhizés se développent mieux et présentent un meilleur aspect végétatif (Figures 8 à 10).

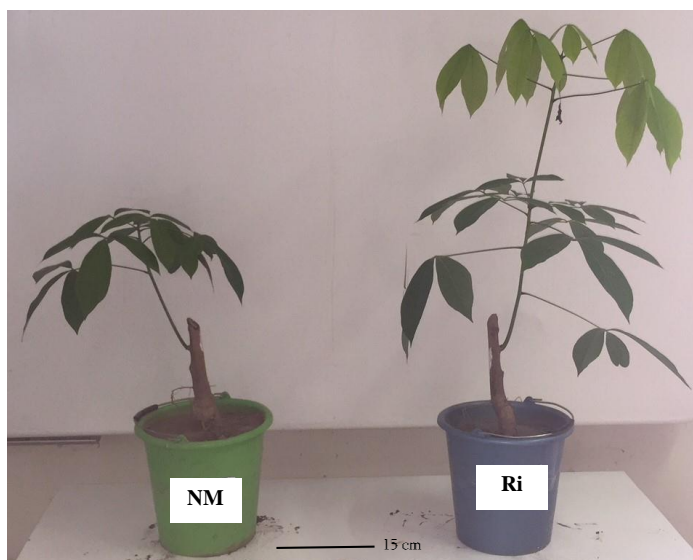


**Figure 8.** Plants IRCA 331 non-stressés photographiés à 14 jours post imposition du stress hydrique.

NM : Plants non mycorhizés cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 100% CR durant 14 jours ; Ri : Plants mycorhizés cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 100% CR durant 14 jours.

La Figure 9 illustre bien que les plants mycorhizés ont un meilleur aspect que les

plants non mycorhizés sous un stress hydrique moyennement sévère.



**Figure 9.** Plants IRCA 331 photographiés à 14 jours post imposition du stress hydrique moyennement sévère.

NM : Plants non mycorhizés, cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 50% CR durant 14 jours ; Ri : Plants mycorhizés cultivés dans un sol dont la teneur en eau a été nivelée journalièrement à 50% CR durant 14 jours.

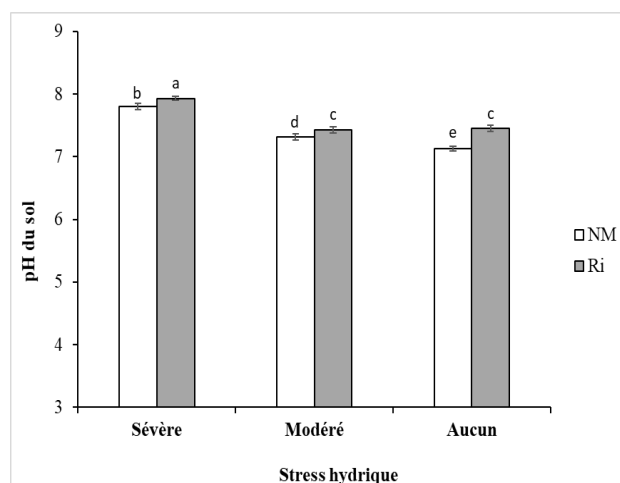
La Figure 10 illustre bien que les plants mycorhizés ont un meilleur aspect que les plants non mycorhizés sous un stress hydrique sévère.



**Figure 10.** Plants IRCA 331 photographiés à 14 jours post imposition du stress hydrique sévère. NM : Plants non mycorhizés sevrés d'eau pendant 14 jours (CR à 5%) ; Ri : Plants mycorhizés sevrés d'eau pendant 14 jours (CR à 5%).

**4.3 pH et humidité du substrat de culture :** Le substrat utilisé a un pH neutre. Toutefois, le stress hydrique a tendance à le rendre plus alcalin. En effet, le pH du substrat

portant des plants mycorhizés est plus basique (7,43 - 7,93) que celui des plants non mycorhizés (7,13 - 7,80) (Figure 11).



**Figure 11.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur le pH du substrat à 42 jours après inoculation de CMA.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

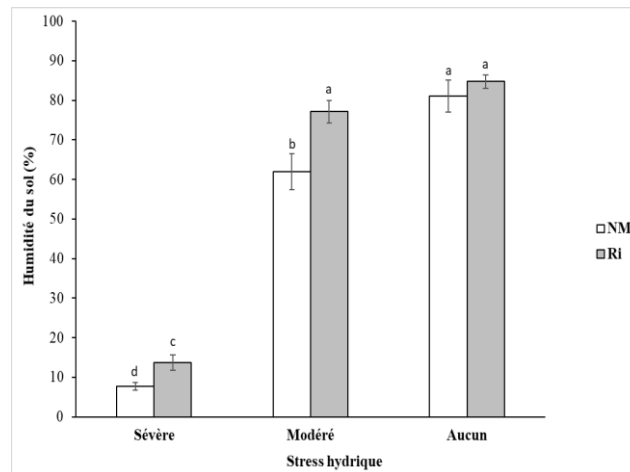
L'humidité du sol a diminué naturellement et de façon drastique avec le niveau de stress

hydrique imposé. Le substrat portant les plantes mycorhizées a eu un meilleur taux d'humidité



(13,8 – 85,4) que celui des plantes non mycorhizées quel que soit la sévérité du stress

hydrique appliqué (8,6 – 81,0) (Figure 12).

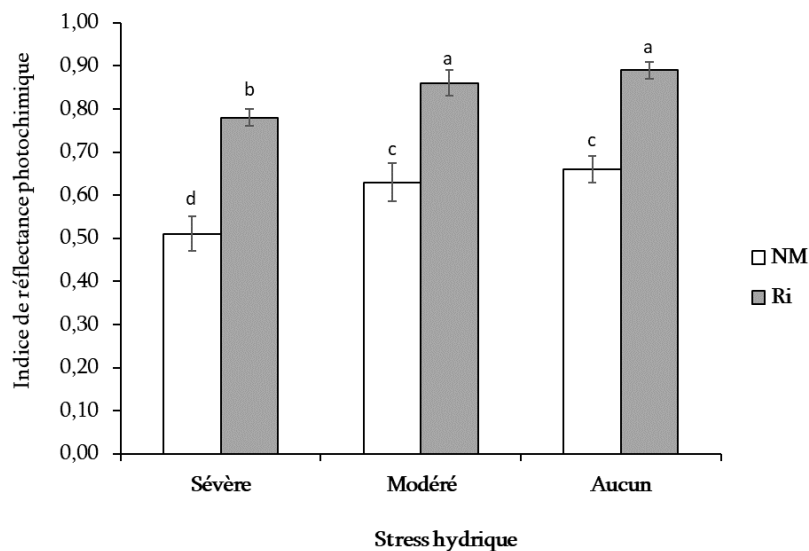


**Figure 12.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur l'humidité du substrat à 42 jours post inoculation du CMA.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures prises à 01:00PM en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

**4.4 Indice de réflectance photochimique (PRI) :** L'indice de réflectance photochimique (PRI) est positivement corrélé à l'utilisation efficace de la lumière ou radiation photosynthétique (LUE ou RUE). Le PRI ou

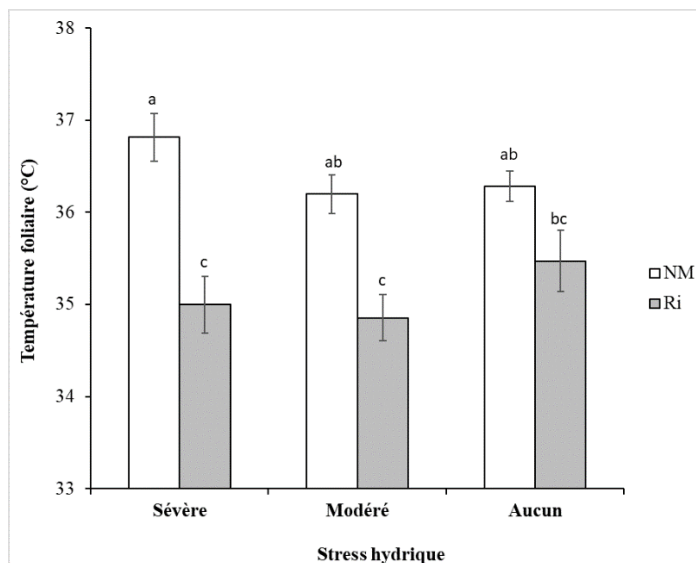
RUE des plants mycorhizés est 1,35 fois supérieure à celui des plants non mycorhizés au moment le plus ensoleillé de la journée (Figure 13).



**Figure 13.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur l'indice de réflectance photochimique. Les barres sont des moyennes de 12 mesures prises à 01:00PM en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

**4.5 Température foliaire :** Les plants mycorhizés ont eu une température foliaire (34,5 - 347°C) significativement inférieure à

celle des plants non mycorhizés (36,2 - 36,6°C) quel que soit le niveau de stress (Figure 14).

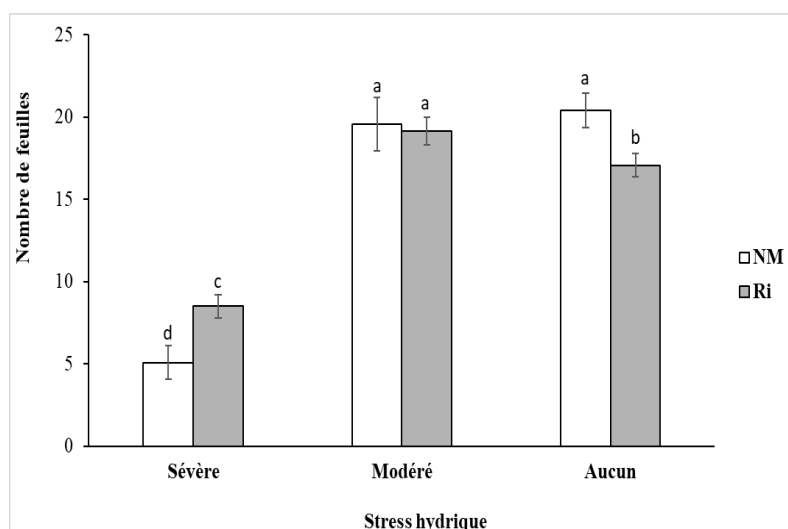


**Figure 14.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la température foliaire.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures prises à 01:00PM en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100%CR) durant 14 jours.

**4.6 Nombre de feuilles vertes et surfaces foliaires :** Le nombre de feuilles vertes et non wiltées des plantes mycorhizées (8,5) sont

significativement supérieurs à celui des plantes témoins (5,1) en condition de stress hydrique sévère (Figure 15).



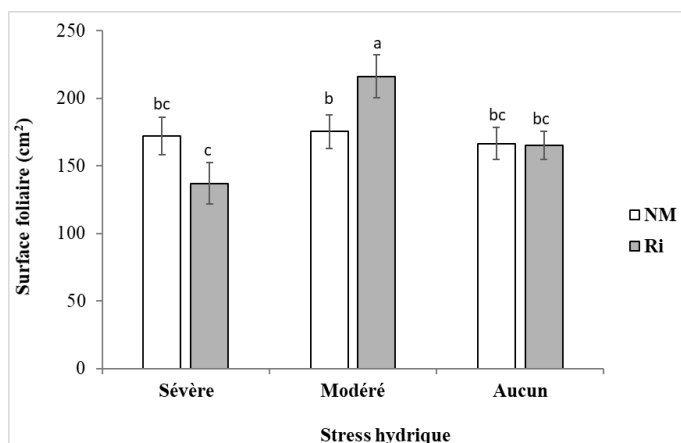
**Figure 15.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur le développement foliaire.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et

mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

L'examen des surfaces foliaires montre un effet différentiel des traitements. La mycorhization a contribué à une augmentation significative de la

surface foliaire (238,57 cm<sup>2</sup> contre 177,43 cm<sup>2</sup>) sous le stress hydrique modéré (Figure 16).

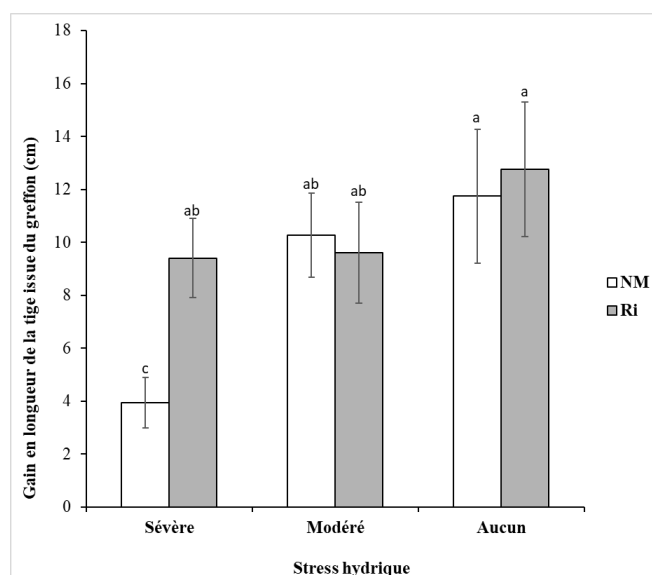


**Figure 16.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la surface foliaire.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) 14 durant jours.

**4.7 Évolution des mensurations de la tige issue du greffon :** Il ressort de l'analyse statistique que la mycorhization n'améliore significativement ces paramètres qu'en

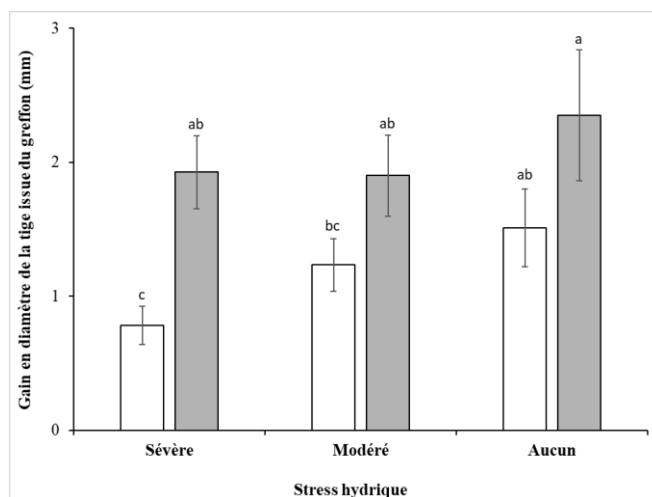
conditions de stress hydrique sévère, où ce gain est approximativement le double de celui des plants non mycorhizés (Figures 17 et 18).



**Figure 17.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur l'élongation.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont significativement différentes ( $p = 0,038$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont

été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100%CR) durant 14 jours.



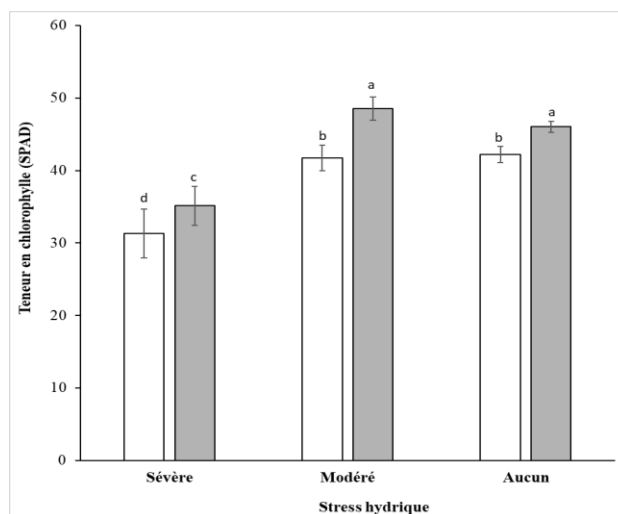
**Figure 18.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur le diamètre à la base de la tige issue du greffon.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

#### 4.8 Teneur en chlorophylle et fuite des électrolytes des cellules foliaires :

Les teneurs en chlorophylle des plants mycorhizés (35,13 – 48,52 unités SPAD) étaient

significativement plus élevées que celles des plants non-mycorhizés (31,33 – 42,18 unités SPAD) (Figure 19).

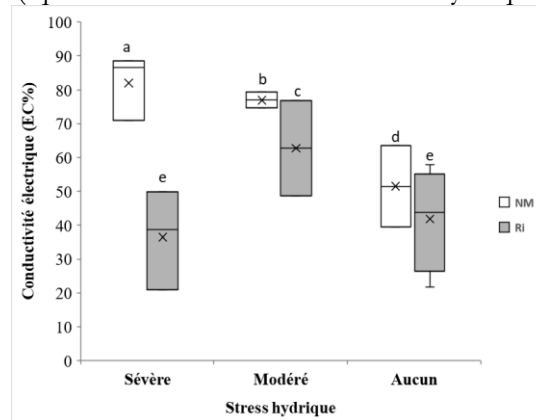


**Figure 19.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en chlorophylle.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

La conductivité chez les plants mycorhizés était significativement plus basse ( que celle des

plants non mycorhizés quel que soit la severité du stress hydrique (Figure 20).

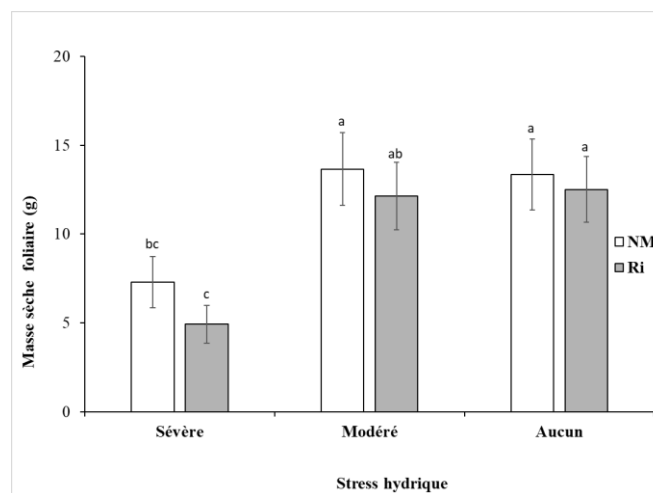


**Figure 20.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la fuite d'électrolytes des cellules foliaires.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

**4.9 Biomasse sèche et teneur relative en eau des feuilles ;** La biomasse foliaire sèche était statistiquement identique entre plants non

mycorhizés (7,3 – 13,4 g) et plants mycorhizés (4,9 – 12,7 g) quel que soit le niveau de stress hydrique (Figure 21).

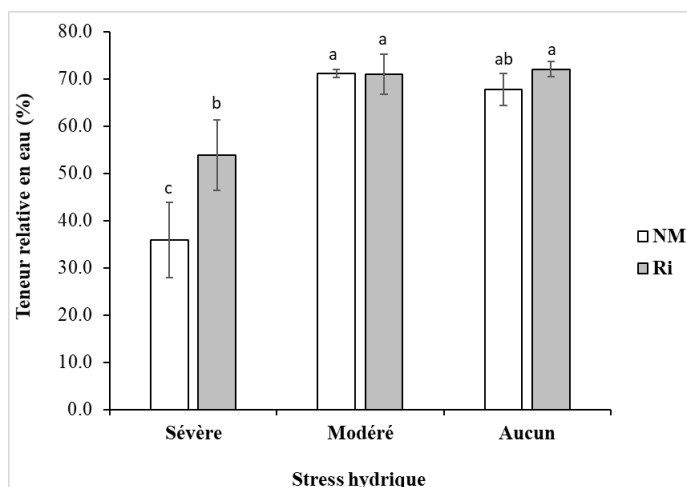


**Figure 21.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la biomasse sèche foliaire.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

En conditions d'alimentation hydrique très réduite, la mycorhization a conduit à une bien meilleure teneur en eau des feuilles (59,30 %)

comparativement aux feuilles des plants non mycorhizés (35,90 %) (Figure 22).



**Figure 22.** Effet du stress hydrique et de la mycorhization sur la teneur en eau.

Les barres sont des moyennes de 12 mesures en fin d'expérimentation (42 jpi). Les barres d'une couleur donnée avec différentes lettres sont hautement significativement différentes ( $p < 0,01$ ). Les plants non mycorhizés (NM) et mycorhizés (Ri) ont été soumis à 28 jpi à un stress hydrique sévère (5% CR), à un stress hydrique modéré (50% CR) ou à aucun stress hydrique (100% CR) durant 14 jours.

## 5 DISCUSSION

L'observation microscopique des racines du porte-greffe GT1 et de celles de la tomate, cultivés dans un même substrat, contenant des spores mycorhiziennes inoculées dans le système racinaire de GT1, a révélé la présence typique de structures mycorhiziennes telles que des hyphes extra et intracellulaires et des arbuscules. Le statut mycorhizien du porte-greffe GT1 est donc établi : il peut établir une symbiose mycorhizienne fonctionnelle avec une très bonne intensité de mycorhization ( $> 70\%$ ) et abondance arbusculaire ( $> 60\%$ ). Ce qui suggère que *R. irregularis* DAOM 197198 posséderait un mécanisme de résistance ou mieux de détoxification des exsudats antifongiques du type hévéine. Bien que contraire aux résultats *in vitro* sur le clone PB 260 par la souche *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 obtenus par (Slavokhotova *et al.*, 2014; Sosa Rodriguez *et al.*, 2013; Van Parijs *et al.*, 1991), nos résultats confortent ceux d'autres chercheurs. En effet, ceux-ci ont plutôt observé un bon pourcentage de colonisation ( $> 60\%$ ) des clones RRIM par des isolats de *Glomus* et/ou d'*Acaulospora* (Basumatary *et al.*, 2014; Herrmann *et al.*, 2016). Il nous semble que ces résultats contrastés soient fonction du génotype d'hévéa et/ou des isolats mycorhiziens utilisés.

Il serait nécessaire d'étudier les mécanismes de résistance aux antifongiques du type hévéine qui sous-tendent l'établissement de la symbiose chez l'hévéa. L'humidité du sol de culture a baissé naturellement et de façon drastique avec le niveau de stress hydrique imposé. Elle varie évidemment avec la température et l'humidité relative de l'air ambiant. Toutefois, le substrat portant les plantes mycorhizées avait un meilleur taux d'humidité que celui des plantes non mycorhizées quel que soit la sévérité du stress hydrique appliqué. La mycorhization participerait ainsi à une meilleure rétention d'eau dans le sol. Il est bien documenté que les hyphes extraracinaires mycorhiziens produisent de la glomaline, une protéine qui augmente la stabilité et l'agrégation des particules du sol de sorte à augmenter sa capacité de rétention d'eau (Li *et al.*, 2015; Martín-Robles *et al.*, 2018; Morris *et al.*, 2019; Rillig *et al.*, 2015; Rillig and Mummey, 2006; Wu *et al.*, 2008, 2014). Fait intéressant qui contribuerait à la résistance des plants mycorhizés au stress hydrique. La plante souffre de stress hydrique surtout quand l'eau absorbée pour ses fonctions métaboliques, est en grande partie perdue par transpiration au niveau des feuilles. Généralement, les feuilles transpirent pour refroidir leur surface foliaire.

Ainsi, la température foliaire est un indice du niveau de stress hydrique et même thermique subit par la plante (Debona *et al.*, 2017). L'analyse des réponses du clone mycorhizé aux régimes hydriques a révélé une réduction significative de la température foliaire, de la fuite d'électrolytes des cellules foliaires, et une augmentation significative de l'indice de réflectance photochimique donc de l'efficacité de la lumière photosynthétique, comparativement aux plants non mycorhizés. Ces trois phénomènes suggèrent que la mycorhization contribue non seulement à améliorer significativement la tolérance ou la résistance du clone IRCA 331 au stress hydrique mais aussi au stress oxydatif (sous réserve de l'analyse comparée de l'activité enzymatique et non enzymatique antioxydante) et au stress thermique, donc à la sécheresse. Les teneurs en chlorophylle des plants mycorhizés, significativement plus élevées que les plants non mycorhizés, jointes aux constats susmentionnés, indiquent que *R. irregularis* DAOM 197198 améliore l'activité photosynthétique chez l'hévéa, même en cas de stress sévère. La mycorhization a significativement protégé la chlorophylle de la dégradation, comparativement aux plantes non mycorhizées sous la contrainte hydrique. L'amélioration de la photosynthèse se répercute en gain de biomasse, d'élongation et de croissance en épaisseur (donc du cubage de bois). (Basumatary *et al.*, 2014). Par ailleurs, la mycorhization du porte-greffe du clone IRCA 331 a amélioré significativement la teneur relative en eau des plants, donc la capacité d'absorption de l'eau et la réduction de la transpiration. Ainsi, la mycorhization pourrait

## 6 CONCLUSION

De cette étude, il ressort que le porte-greffe GT1 est bien mycotrophe. L'évaluation a révélé d'excellents résultats en ce qui concerne les paramètres d'infectivité et d'effectivité de *R. irregularis* DAOM 197198. Le CMA posséderait un mécanisme de résistance (peut-être de détoxification) vis-à-vis des substances de type hévéine. *R. irregularis* DAOM 197198 a

participer la réduction des zones marginales à la culture d'hévéa due la raréfaction ou à la mauvaise répartition des pluies de plus en plus marquée par le changement climatique. L'ensemble des données de phénotypage des plants IRCA 331 dans la présente étude montre que les traitements ont différenciellement impacté leur développement végétatif. Il est intéressant de relever que les plants non mycorhizés, soumis au stress modéré, témoignent d'une résilience propre. Toutefois, les plants mycorhizés se développent mieux et présentent un meilleur aspect végétatif et un meilleur indice de réflectance photochimique (PRI). Il est bien connu que les CMA renforcent la résilience des plantes face aux stress environnementaux tels que le déficit en eau. (Pioufle and Declerck, 2018). Bien que les effets bénéfiques de CMA sur les plantes soumises à un stress hydrique aient été rapportés par plusieurs auteurs (Hamza, 2014; Recchia *et al.*, 2018), cette étude est la première à signaler l'impact positive sur le PRI. Le PRI est positivement corrélé aux changements dans les pigments caroténoïdes qui indiquent des changements dans l'efficacité d'utilisation de la lumière ou de la radiation photosynthétique (LUE ou RUE), le taux d'absorption du CO<sub>2</sub> par unité d'énergie absorbée et comme indice fiable du stress hydrique (Gamon *et al.*, 1997; Garbulsky *et al.*, 2011; Peñuelas *et al.*, 2011, 2013). Cela suggère que l'utilisation de CMA pourrait représenter une approche innovante pour résoudre le problème du déclin de la production hévéicole dans des conditions de sécheresse. Toutefois, ces résultats doivent être confirmés par des tests au champ.

significativement boosté le PRI, et la teneur en chlorophylle même en cas de stress sévère. Elle a également induit une amélioration les capacités de rétention en eau du sol et des feuilles. Au regard de ces résultats, la mycorhization pourrait participer à réduire la marginalisation des zones à la culture d'hévéa liée au manque d'eau. Ainsi, il est possible



d'améliorer la productivité agricole par la promotion des champignons mycorhiziens pour faire face à l'intensification de la

sécheresse due au changement climatique, mais aussi, et surtout, pour la réduction des dépenses liées à l'irrigation.

## 7 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Azooz MM : 2009. Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 343–350.
- Basu S, Rabara RC. and Negi S : 2018. AMF: The future prospect for sustainable agriculture. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102: 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.11.007>
- Basumatary N, Parkash V, Tamuli AK, Saikia AJ, and Teron R : 2014. Arbuscular mycorrhizal inoculation affects growth and rhizospheric nutrient availability in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Mull. Arg. clones. *International Journal of Current Biotechnology*, 2: 14–21.
- Chitarra W, Pagliarani C, Maserti B, Lumini E, Siciliano I, Cascone P, Schubert A, Gambino G, Balestrini R. and Guerrieri E : 2016. Insights on the Impact of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis on Tomato Tolerance to Water Stress. *Plant Physiology*, 171: 1009–1023. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00307>
- Choon Koo J, Jin Chun H, Cheol Park H, Chul Kim M., Duck Koo Y, Cheol Koo S, Mi Ok H, Jeong Park S, Lee S-H, Yun D-J, Oh Lim C, Dong Bahk J, Yeol Lee S. and Cho MJ, 2002. Over-expression of a seed specific hevein-like antimicrobial peptide from *Pharbitis nil* enhances resistance to a fungal pathogen in transgenic tobacco plants. *Plant Molecular Biology*, 50: 441–452. <https://doi.org/10.1023/A:1019864222515>
- Debona D, Rodrigues FA. and Datnoff LE : 2017. Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. *Annual Review of Phytopathology*, 55: 85–107. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035312>
- Farhangi-Abriz S. and Ghassemi-Golezani K : 2018. How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 1010–1016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.070>
- Fotso B, Nandjui J, Bi Voko DRR, Amoa AJ. and Niemenak N : 2019. Native arbuscular mycorrhizal fungi increased resistance of two plantain varieties (Fhia 21 and Orishele), under water deficit conditions in Cote d'Ivoire. *Microbiology and Nature*, 1: 16–28. <https://doi.org/10.26167/xxwd-j920>
- Gamon JA, Serrano L. and Surfus JS : 1997. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia* 112: 492–501. <https://doi.org/10.1007/s004420050337>
- Garbulsky MF, Peñuelas J, Gamon J, Inoue Y. and Filella I : 2011. The photochemical reflectance index (PRI) and the remote sensing of leaf, canopy and ecosystem radiation use efficiencies: A review and meta-analysis. *Remote Sensing of Environment*, 115: 281–297. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2010.08.023>
- Guillemin JP, Gianinazzi S. and Trouvelot A : 1992. Screening of arbuscular endomycorrhizal fungi for establishment of micropropagated pineapple plants. *Agronomie* 12: 831–836.
- Hamza N : 2014. Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*)



- (mémoire). Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Herrmann L, Bräu L, Robin A, Robain H, Wiriyaakitnateekul W. and Lesueur D : 2016. High colonization by native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) of rubber trees in small-holder plantations on low fertility soils in North East Thailand. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62: 1041–1048. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1110238>
- Hu W, Zhang H, Chen H. and Tang M : 2017. Arbuscular mycorrhizas influence *Lycium barbarum* tolerance of water stress in a hot environment. *Mycorrhiza* 27: 451–463. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0765-0>
- Kang Y, Khan S. and Ma X : 2009. Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security – A review. *Prog. Nat. Sci.* 19: 1665–1674. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2009.08.001>
- Kaouther Z, Nina H, Rezwana A. and Cherif H : 2013. Evaluation of salt tolerance (NaCl) in Tunisian chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) on growth, mineral analysis and solutes synthesis. *J. Stress Physiol. Biochem.* 9(1): 209-228
- Li Z, Wu N, Liu T, Chen H. and Tang M : 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on water status and photosynthesis of *Populus cathayana* males and females under water stress. *Physiologia Plantarum*, 155: 192–204. <https://doi.org/10.1111/ppl.12336>
- Macedo AF : 2012. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism to Productivity, in: Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. pp. 41-55.
- Martín-Robles N, Lehmann A, Seco E, Aroca R, Rillig MC, and Milla R : 2018. Impacts of domestication on the arbuscular mycorrhizal symbiosis of 27 crop species. *New Phytologist*, 218: 322–334. <https://doi.org/10.1111/nph.14962>
- Morris EK, Morris DJP, Vogt S, Gleber SC, Bigalke M, Wilcke W. and Rillig MC : 2019. Visualizing the dynamics of soil aggregation as affected by arbuscular mycorrhizal fungi. *The ISME Journal*, 13(7): 1639-1646. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0369-0>
- Noonan J, Williams WP. and Shan X : 2017. Investigation of Antimicrobial Peptide Genes Associated with Fungus and Insect Resistance in Maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9): 1938. <https://doi.org/10.3390/ijms18091938>
- Peñuelas J, Garbulsky MF. and Filella I : 2011. Photochemical reflectance index (PRI) and remote sensing of plant CO<sub>2</sub> uptake. *New Phytologist*, 191: 596–599. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03791.x>
- Peñuelas J, Marino G, LLusia J, Morfopoulos C, Farré-Armengol G. and Filella I : 2013. Photochemical reflectance index as an indirect estimator of foliar isoprenoid emissions at the ecosystem level. *Nature Communications*, 4: 2604. <https://doi.org/10.1038/ncomms3604>
- Phillips JM. and Hayman DS : 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-168. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Pioufle OL. and Declerck S : 2018. Reducing Water Availability Impacts the Development of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 and Its Ability to Take Up and Transport Phosphorus Under in Vitro Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1254. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01254>

- Recchia GH, Konzen ER, Cassieri F, Caldas DGG. and Tsai SM : 2018. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Leads to Differential Regulation of Drought-Responsive Genes in Tissue-Specific Root Cells of Common Bean. *Frontiers in Microbiology*, 9:1339. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01339>
- Rillig MC, Aguilar-Trigueros CA, Bergmann J, Verbruggen E, Veresoglou SD. and Lehmann A : 2015. Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytologist*, 205: 1385–1388. <https://doi.org/10.1111/nph.13045>
- Rillig MC. and Mummey DL : 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>
- Sahraoui A : 2013. La Mycorhize à arbuscules : quels bénéfices pour l'homme et son environnement dans un contexte de développement durable ? *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 26: 06-19.
- Slavokhotova AA, Naumann TA, Price NPJ, Rogozhin EA, Andreev YA, Vassilevski AA. and Odintsova TI : 2014. Novel mode of action of plant defense peptides - hevein-like antimicrobial peptides from wheat inhibit fungal metalloproteases. *FEBS Journal*, 281: 4754–4764. <https://doi.org/10.1111/febs.13015>
- Sosa Rodriguez T, Declerck S, Granet F, Gaurel S, Damme EMJV. and Dupré De Boulois H : 2013. *Hevea brasiliensis* and *Urtica dioica* impact the in vitro mycorrhization of neighbouring *Medicago truncatula* seedlings. *Symbiosis* 60(3): 123-132.
- Trouvelot A, Kough J. and Gianinazzi-Pearson V : 1986. Evaluation of VA infection levels in root systems. Research for estimation methods having a functional significance. *Physiological and genetical aspects of Mycorrhizae*, 217–221.
- Turner NC : 2019. Imposing and maintaining soil water deficits in drought studies in pots. *Plant and Soil*, 439: 45–55. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3893-1>
- Van Parijs J, Broekaert WF, Goldstein IJ. and Peumans WJ : 1991. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*. 183: 258–264. <https://doi.org/10.1007/BF00197797>
- Wu Q-S, Cao M-Q, Zou Y-N. and He X : 2014. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of trifoliolate orange. *Scientific Reports*, 4: 5823 <https://doi.org/10.1038/srep05823>
- Wu Q-S, Xia R-X. and Zou Y-N : 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. *European Journal of Soil Biology*, 44(1): 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.10.001>
- Xu Z, Wu Y, Xiao Z, Ban Y. and Belvett N : 2019. Positive effects of *Funneliformis mosseae* inoculation on reed seedlings under water and TiO<sub>2</sub> nanoparticles stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(6): 81. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2656-3>



# Rhizophagus irregularis DAOM 197198 and Pseudomonas chlororaphis 30-84 Suppress Maize Anthracnose Leaf Blight due to Colletotrichum graminicola

## SUMMARY

This is the first report of effective **induced systemic resistance** by both *Pseudomonas chlororaphis* 30-84 and *Rhizophagus irregularis* (formerly *Glomus irregularis*) DAOM 197198 against maize anthracnose diseases caused by *Colletotrichum graminicola* strain M1.001. *Colletotrichum* species are among the most damaging fungal plant pathogens of economically important crops. Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) represent potentially important tools for the management of this disease complex because of their ability to alter the host-pathogen-environment, mainly via their capacity to prime systemic resistance against the hemibiotrophic lifestyle of *C. graminicola*.

Using an *in vitro* bioassay, we discovered the ability of *P. chlororaphis* 30-84 to locally inhibit *C. graminicola*.

We demonstrated that root colonization by *R. irregularis* and/or *P. chlororaphis* 30-84 triggered induced systemic resistance against *C. graminicola*-induced foliar lesions on the susceptible B73 maize line. Both biological agents drastically reduced fungal biomass on leaves compare to the control.

We compared responses of B73 and a B73 maize signaling mutant (*9-zmlox12-1*) when challenged by *C. graminicola* but preinoculated with *R. irregularis* and/or *P. chlororaphis* 30-84. We found that mutation of the *zmlox12* gene resulted in accentuated disease severity on bacterized and/or mycorrhizal plants compare to the control.

Finally, we characterized the nature of the interaction between the two beneficial microbes by using a split root system in which one part of the root system was preinoculated with one of the two beneficial organisms and the second part (in a separate pot) was inoculated three weeks later by the same organism or the other one. We found a neutral influence on the rate of root colonization by each organism on the other. Although they synergistically promoted systemic resistance, they did so in a non-additive manner.

## INTRODUCTION AND OBJECTIVES

*Colletotrichum* species, the etiological agents of anthracnose, are among the top 10 fungal plant pathogens of economically important crops (Balmer et al., 2013). *C. graminicola* causes severe anthracnose seedling and leaf blight (ALB) and, stalk-rot (ASR) diseases on maize and sorghum (da Costa et al., 2014). Effectiveness and durability of maize genetic resistance as a management strategy against anthracnose depends on knowledge of the pathogenic variability of *C. graminicola* (da Costa et al., 2014). Since the genus *Colletotrichum* contains great phenotypic plasticity and rapid evolution of races or pathotypes (Beim et al., 2014), it is therefore challenging to diagnose disease accurately, and to breed for durable genetic resistance (Than et al., 2008). Subsequently, according to Valério et al., (2005), long-lasting control of anthracnose relies on inoculum sources reduction, and handling of both host resistance genes and host-pathogen environment. In this perspective, Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) are suitable to alter the host-pathogen environment, mainly because of their ability to prime systemic resistance against both the biotrophic and necrotrophic lifestyles of *C. graminicola*. It is hypothesized that co-inoculation with rhizobia and AMF could positively interact to stimulate at a great extent plant growth and control fungal diseases since they share the so-called common symbiosis signaling pathway (Giovannetti, Mari, Novero, & Bonfante, 2015). Indeed, although there are numerous examples demonstrating that both AMF and PGPR can prime plant defense, it is unclear how they will act together and this is somewhat difficult to predict since the interactions can be specific. One area that still requires investigation is the plant signaling pathways that mediate interactions with beneficial microbes and pathogens and how established interactions with one type of beneficial microbe alters plant signaling to affect subsequent interactions with other beneficial or pathogenic microbes. It is now well established that lipoxygenases (LOX), key regulatory components of plant signaling pathways, affect interactions with important rhizosphere microorganisms. The effect of mutations to the LOX genes on AMF and PGPR colonization and disease control has not yet been investigated.

### This study consists in 2 objectives.

- In preliminary assays, we assessed the ability of *R. irregularis* and/or *P. chlororaphis* 30-84 to induce systemic resistance (ISR) against *C. graminicola* when applied onto the leaves of maize line B73 and its *lox12-1* mutant. In doing so, we got an overview of the role of each of these in ISR.
- Using a non-dividing and a split root system, we determined the nature of the interaction between the symbionts *in planta*.

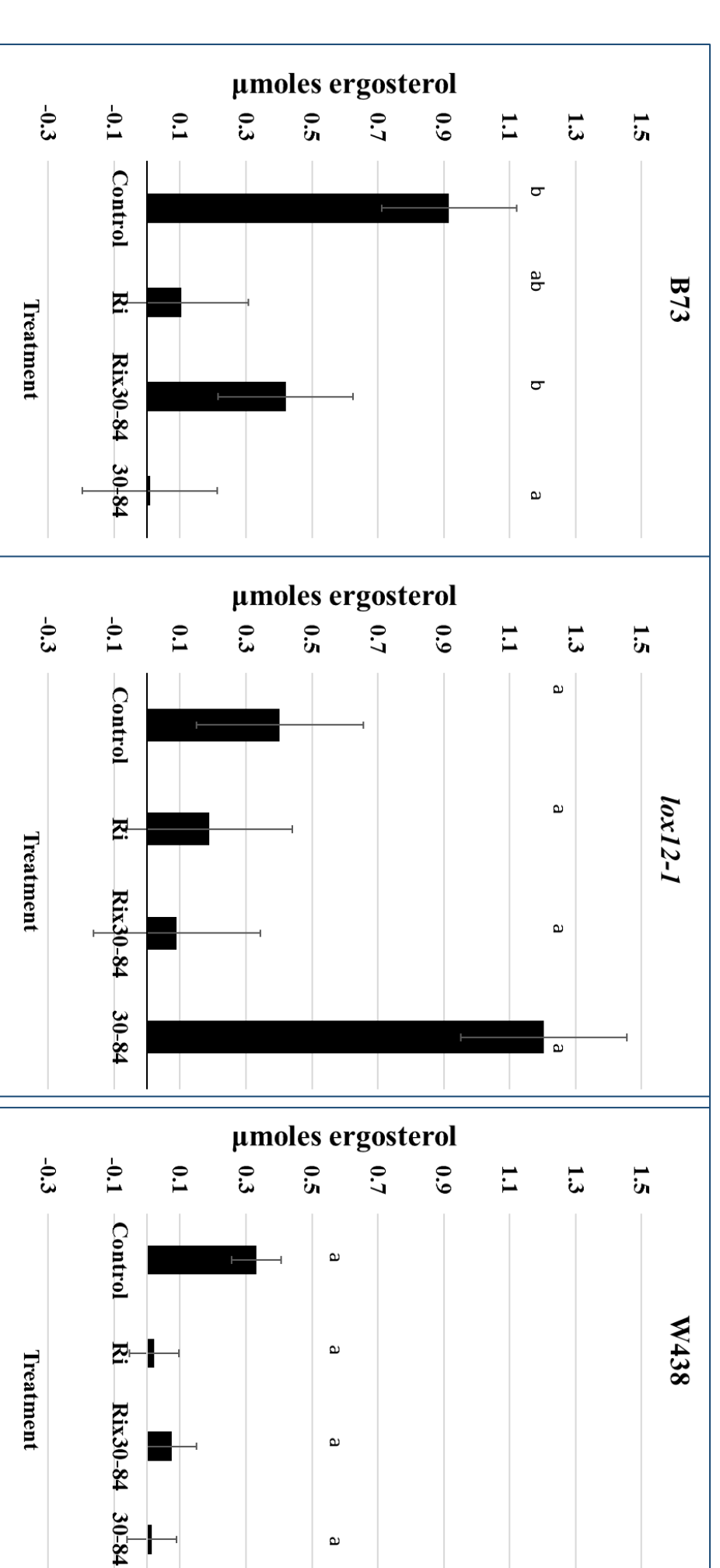
## EXPERIMENTAL DESIGN AND RESULTS

An *in vitro* PDA plates bioassay revealed strain 30-84 efficiently inhibited mycelial growth of *C. graminicola* strain 1.001 as compared to mutants incapable of producing phenazine (Phz- and Gac- mutants). Inhibition zones were measured between the edges of area covered by 30-84 and the mycelial growth (Figure 1). 30-84 also suppresses fungal growth *in planta* evaluated by ergosterol measures with LC/MS (Figure 5).

A factorial experiment showed that B73 treated with 30-84 and/or *R. irregularis* are resistant to foliar pathogen strain 1.001 compared to the uninoculated control. Even W438 was significantly more resistant when inoculated. The *ZmLOX12* gene may be involved in this resistance (Figure 2, 3 & 4). Maize lines grown on turfaced and sand in 164 ml containers.

**Pathogen application** : six weeks after plant establishment, 10µl of fresh inoculum of 1 × 10<sup>6</sup> spores per mL were applied on the 3<sup>rd</sup> or 4<sup>th</sup> leaf. **Assessment of the antagonism in planta**: Three to four days after pathogen inoculation, leaves were cut and lesion area scanned and measured using the ImageJ 1.49t software. Statistical differences (letters on bars) was inferred via non-parametric tests.

Figure 5: Comparison of pathogen colonization per corn line



**Assessment of the interaction**: Plants roots were checked immediately for colonization by 30-84 (Maddula, Pierson, & Pierson 2008) and *R. irregularis* (Phillips & Hayman 1970) after leaves were cut. Split root assays revealed no effect of 30-84 preinoculation on *R. irregularis* root colonization and vice versa (Figure 6).

Figure 6: No influence of root prebacterization on mycorrhization rate

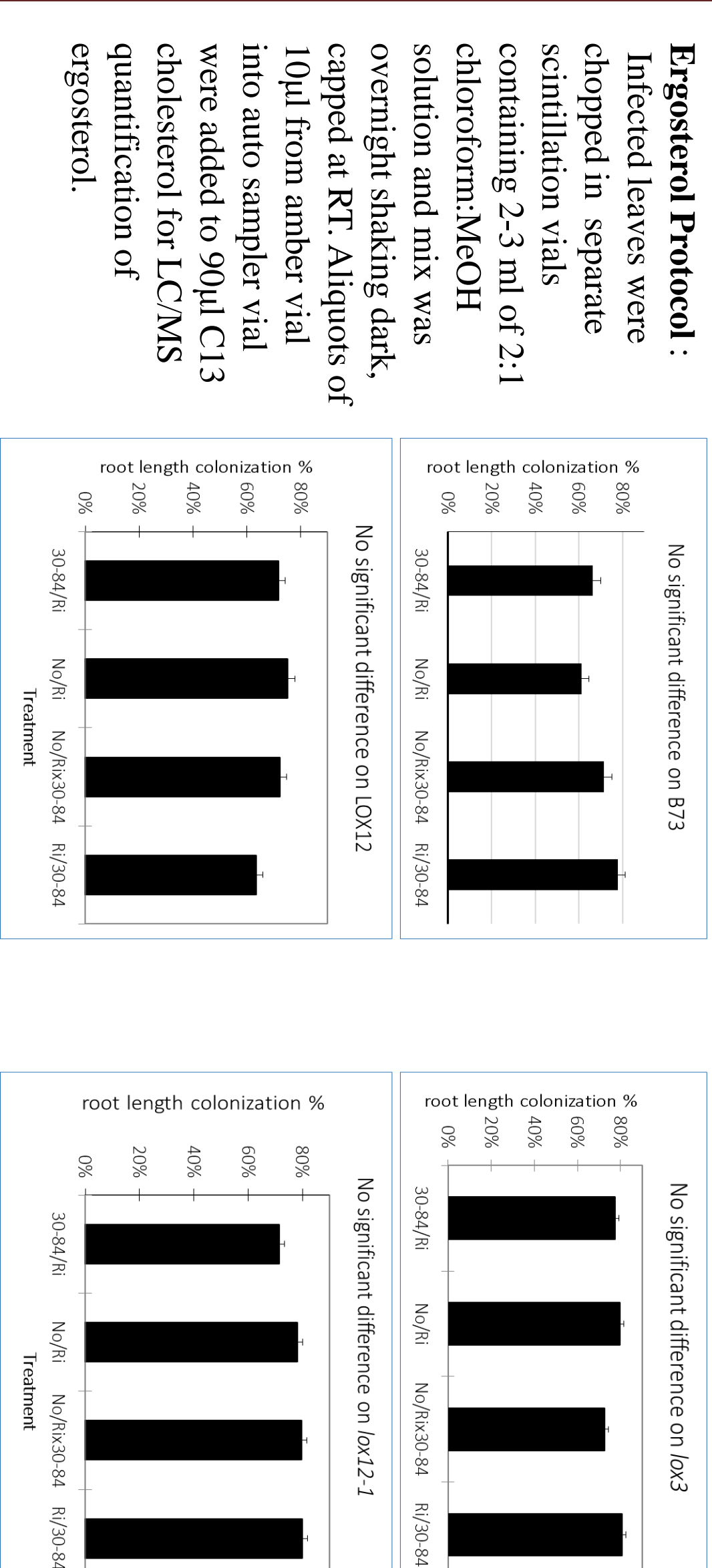
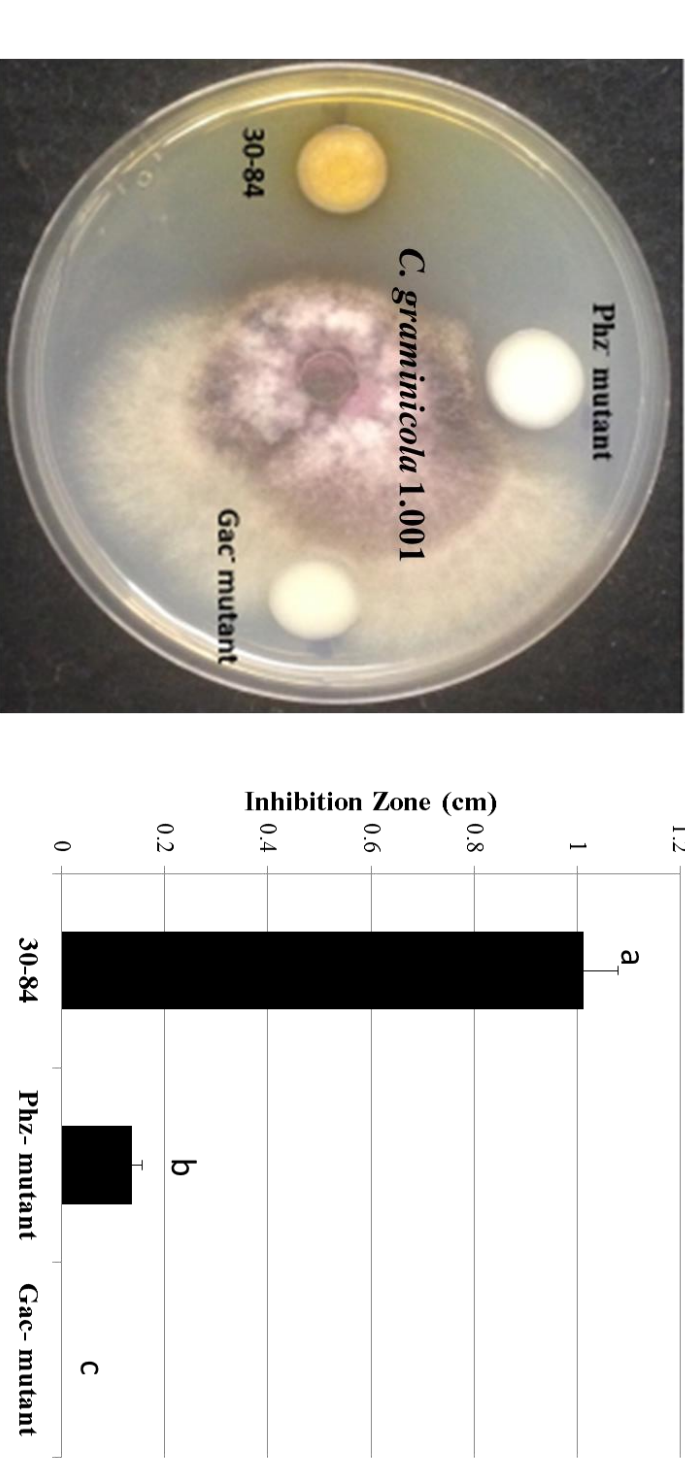


Figure 1: Fungal inhibition assay of Phz- and Gac- mutants with 30-84 wild type. Fungal strains were



mainly grown on PDA for 48hrs and a 2-cm-diameter plug was taken from the edge of the colony and 84 wild-type. This mutant (non-phenazine producer, phz1::G2) and Gac- mutant (sporeless gac2 mutant), grown in 3 ml LB medium at 28°C, and 5 µl of each culture was spotted onto 3 cm apart from center of fungal plug inoculated. After 10n days, the zone of inhibition was measured. Bars represent means of eight replicates ± s.e. Data further show Phenazine is putative inhibitor of 1.001 growth.

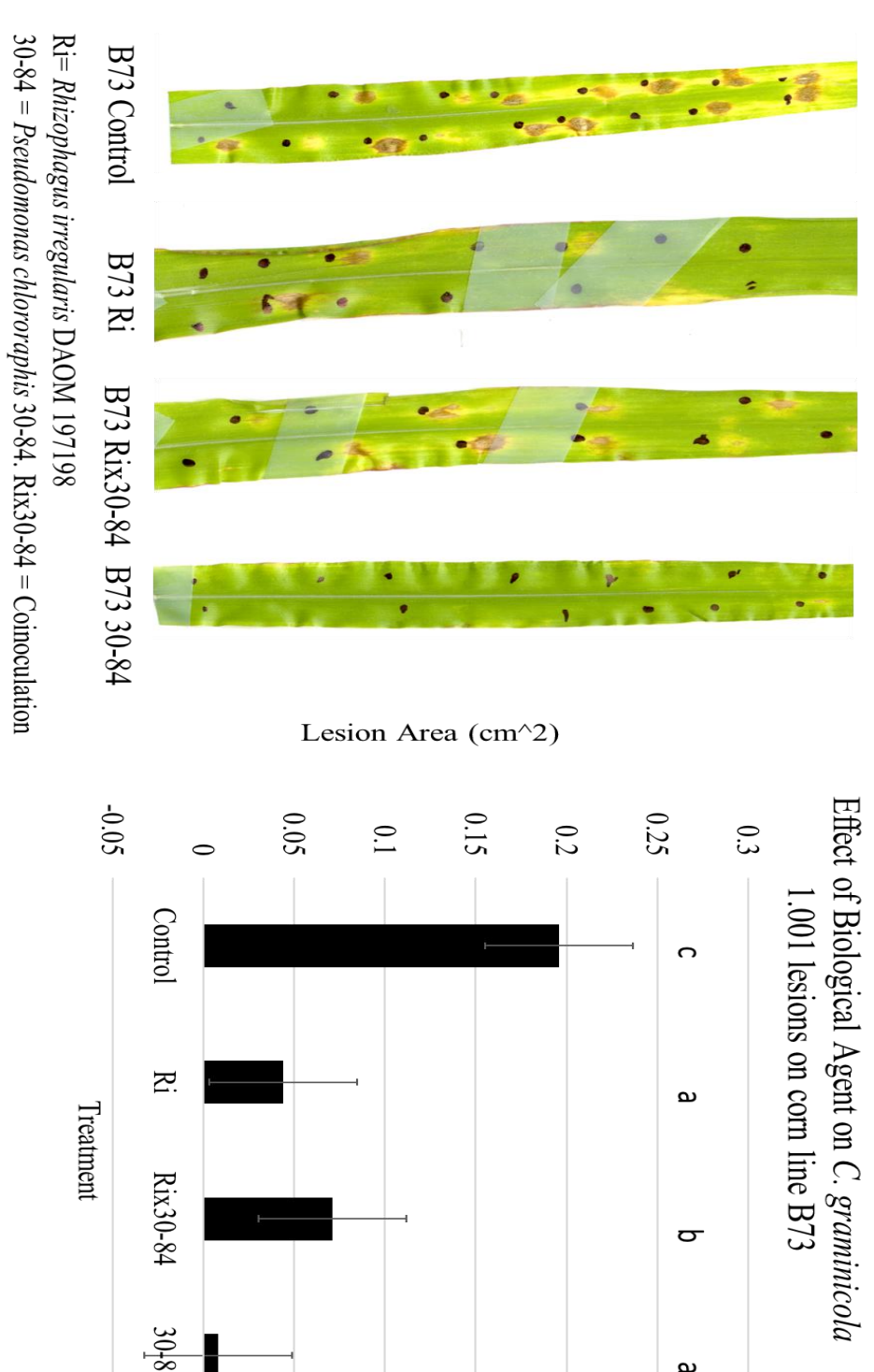


Figure 2: Effect of Biological Agent on *C. graminicola* 1.001 lesions on corn line B73. Three weeks old B73 plants were preinoculated with *R. irregularis* and/or 30-84 were and 42 DAS were leaf-inoculated with 10 days old of 1.001 culture. Leaves were cut and scanned 5 days after pathogen application and lesion area were measured with ImageJ software. Bars are mean of 13 residues ± S.E. Experiment were repeated twice in growth chamber: dark (20°C, 12h) and light (20°C, 12h).

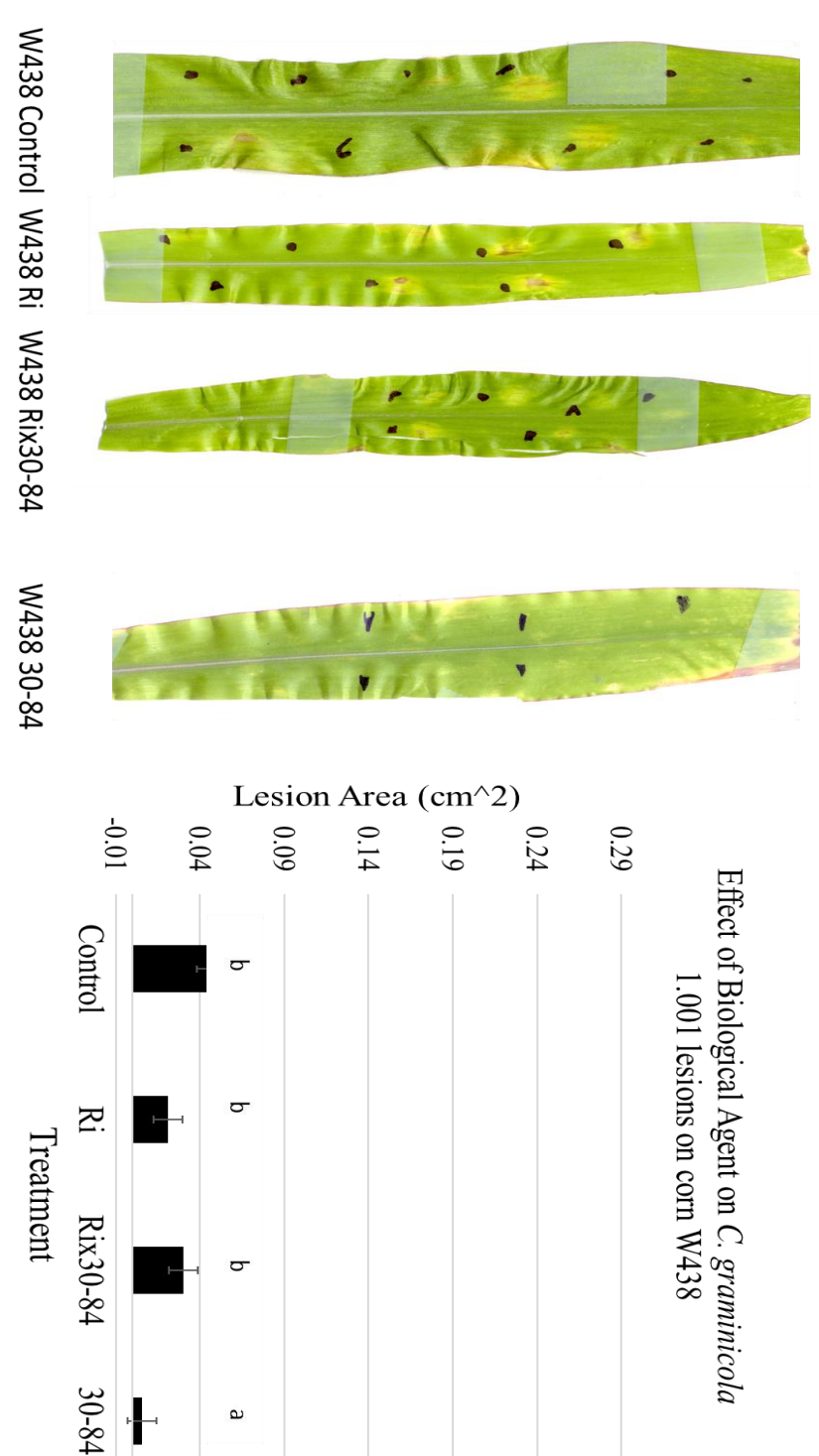


Figure 3: Effect of Biological Agent on *C. graminicola* 1.001 lesions on corn line W438. Three weeks old B73 plants were preinoculated with *R. irregularis* and/or 30-84 were and 42 DAS were leaf-inoculated with 10 days old of 1.001 culture. Leaves were cut and scanned 5 days after pathogen application and lesion area were measured with ImageJ software. Bars are mean of 13 residues ± S.E. Experiment were repeated twice in growth chamber: dark (20°C, 12h) and light (20°C, 12h).

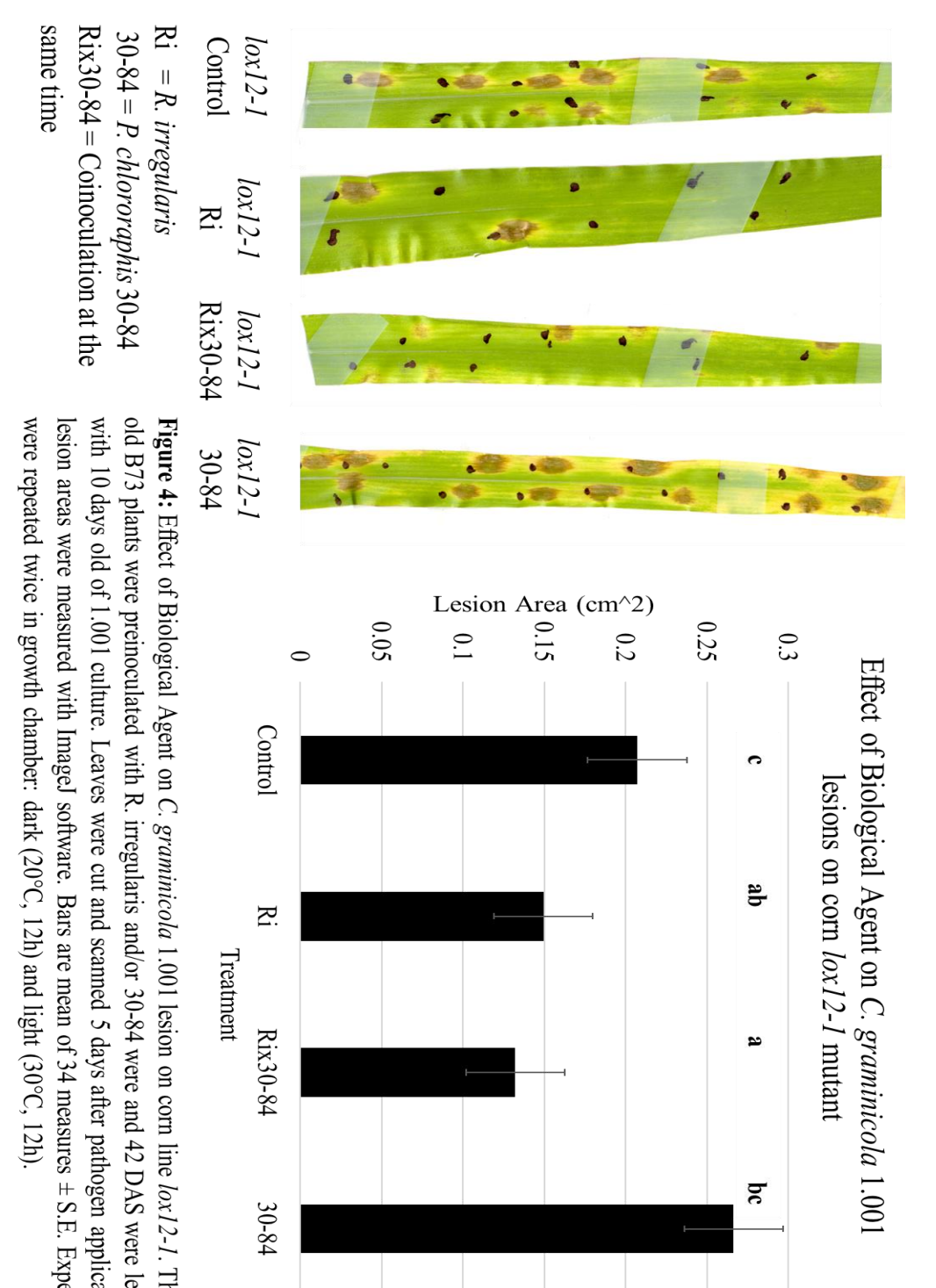


Figure 4: Effect of Biological Agent on *C. graminicola* 1.001 lesions on corn line lox12-1. Three weeks old B73 plants were preinoculated with *R. irregularis* and/or 30-84 were and 42 DAS were leaf-inoculated with 10 days old of 1.001 culture. Leaves were cut and scanned 5 days after pathogen application and lesion area were measured with ImageJ software. Bars are mean of 13 residues ± S.E. Experiment were repeated twice in growth chamber: dark (20°C, 12h) and light (20°C, 12h).

## ACKNOWLEDGEMENT

E. Tienbo is fully supported by the Fulbright Foreign Student Program as well as funding from Dr. E. Pierson. Special thanks to Dr. M. Kolomiets, C. Finley, Dr. F. Malsouri and Dr. E. Borrego for assistance with the LC/MS, providing maize seed and Colletotrichum inoculum and inoculation protocols. Gratitude to Dr Hsishi Koivwa for the use of this microscope.

## REFERENCES

- Balmer, D., de Pajotowski, D. V., Planchamp, C., Glusker, G., & March-Monti, B. (2013). Induced resistance in maize is based on organ-specific defense responses. The Plant Journal, 74(2), 213-225. <https://doi.org/10.1111/tpj.12114>
- Berni, L. A., Clarke, B. B., & Conch, J. A. (2014). Influence of Host and Geographic Location on the Distribution of Colletotrichum cereale Lineages. PLoS ONE, 9(5), e97706. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097706>
- Da Costa, R. V., Coda, L. V., Coda, L. V., da Silva, D. D., Pereira, D. F., Casella, C. R., Landim, E. C., & Figueiredo, J. E. F. (2014). Races of Colletotrichum graminicola pathogenic to maize in Brazil. Crop Protection, 56, 44-49. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121941300238X>
- Giamberini, E., Trinia, A., Massa, N., Copetta, A., Martiniotti, M. G., & Berta, G. (2003). Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. Mycorrhiza, 14(3), 185-192. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0256-3>
- Giovannetti, M., Mari, A., Novero, M., & Bonfante, P. (2015). Early Lotus japonicus root transcriptomic responses to symbiotic and pathogenic fungal exudates. Plant Biotic Interactions, 480. <https://doi.org/10.3389/plbi.2015.00480>
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55(1), 158-178. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Maddula, V. S. R. K., Pierson, E. A., & Pierson, L. S. (2008). Altering the Ratio of Penicillins in Pseudomonas chlororaphis (amovitchensis) Strain 30-84: Effects on Biotin Formation and Pathogen Inhibition. Journal of Bacteriology, 190(8), 2759-2766. <http://doi.org/10.1128/JB.01587-07>



## **Titre : Interactions entre plante, rhizobactérie symbiotique et/ou champignon mycorrhizien arbusculaire : applications pour la gestion de stress biotiques ou abiotiques du maïs, de la tomate et de l'hévéa**

### **Résumé**

Les plantes peuvent établir avec leur rhizobiome des interactions symbiotiques qui sont utilisées aujourd'hui en agroécologie comme moyens de lutte biologique. Toutefois, cette utilisation connaît des succès divers. La manipulation correcte des gènes et des partenaires impliqués dans ces interactions peut permettre de mieux exploiter ces interactions à des fins de gestion de stress, d'amélioration végétale ou de transgénèse. Si la régulation de la transduction des signaux intervenant dans les interactions plante - microsymbiote - pathogène par les lipoxygénases 13-LOX est bien documentée, celle des lipoxygénases 9-LOX n'est pas élucidée. Par ailleurs, le mécanisme de l'interaction entre champignon mycorrhizien arbusculaire (CMA) et *Pseudomonas* promotrice de la croissance des plantes (PGPP) ou racines végétales, sécrétant des substances antifongiques telles que respectivement les phénazines ou l'hévéine, n'a pas été étudié. En outre, une interaction quadripartite plante - microsymbiote - pathogène vivant - vecteur de pathogène n'a été que rarement étudiée. Au moyen de différents plans factoriels, les effets de l'inactivation des gènes *9-ZmLOX12* et/ou *9-ZmLOX3* et les effets de la préinoculation de PGPP et/ou de CMA sur les réponses du maïs à l'antracnose foliaire (ALB) et au stress hydrique ont été analysés. Cette étude a également analysé l'interaction entre CMA et PGPP ou exsudats racinaires d'hévéine dans la rhizosphère respectivement du maïs et de l'hévéa. Les effets de la prémycorrhization sur les réponses de la tomate à la bactériose causée par les haplotypes A et B de "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" (LsoA et LsoB) et sur la reproduction du psylle vecteur ont aussi été étudiés. L'étude a ainsi mis en évidence une résistance systémique induite vis-à-vis de l'antracnose foliaire du maïs. Les phénazines ont été des inducteurs de résistance systémique dans les lignées sensibles mais de susceptibilité dans les lignées résistantes à l'ALB. L'induction de résistance par le CMA est indépendante du gène *9-ZmLOX12* alors que celle par le PGPP ne l'est pas. En outre, le CMA est capable de réduire la production et/ou la sécrétion de phénazines du PGPP. Le CMA possède également un mécanisme de résistance aux exsudats racinaires antifongique du type hévéine. Par ailleurs, les indices de tolérance (STI) au stress hydrique des mutants *9-zmlox3* et *9-zmlox12* étaient respectivement au moins 2,0 fois et 1,2 fois plus élevés que ceux du type sauvage B73. Les gènes *9-ZmLOX3* et *9-ZmLOX12* semblent donc être des facteurs génétiques de susceptibilité au stress hydrique. La mycorrhization a amélioré les STI de toutes les lignées à l'exception du mutant *9-zmlox12*. L'inactivation du gène *9-ZmLOX3* a accru la résistance induite par la mycorrhization au stress hydrique. Par ailleurs, la mycorrhization a réduit l'incidence de la bactériose à Lso, l'oviposition et la survie des nymphes issues des psylles vecteurs de LsoA mais pas celles des psylles vecteurs de LsoB. En somme, cette étude montre que la compréhension des mécanismes moléculaires des interactions permet une meilleure gestion des stress.

**Mots clés :** interactions plante - microbe et microbe - microbe, gènes *9-LOX*, résistance systémique induite, stress biotiques et abiotiques.

### **Title: Interactions between plants, symbiotic rhizobacteria and/or arbuscular mycorrhizal fungi: applications for the management of biotic or abiotic stresses in maize, tomato, and rubber trees**

#### **Abstract**

Plants can establish with their rhizobiome, symbiotic interactions that are used today in agroecology as biocontrol tools. However, this approach is experiencing inconsistent successes. Proper manipulation of the involved genes and partners can though lead to better use of these interactions for stress management, plant breeding, or transgenesis. While signal transduction regulation of plant-microsymbiont pathogen interactions by 13-LOX lipoxigenases is well documented, regulation by 9-LOX lipoxigenases is not well understood. Furthermore, the mechanism of interaction between Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Plant Growth-Promoting *Pseudomonas* (PGPP) or plant roots, releasing antifungal substances such as phenazine or hevein, respectively, has not yet been investigated. Besides, a four-way plant - microsymbiont - living pathogen - pathogen vector interaction has been poorly explored. Using different factorial designs, the effects of *9-ZmLOX12* and/or *9-ZmLOX3* genes' silencing and the effects of PGPP and/or AMF preinoculation on maize responses to anthracnose leaf blight (ALB) and water stress were investigated. This study also analyzed the interaction between AMF and PGPP or hevein root exudates in the rhizosphere of maize and rubber tree respectively. The effects of premycorrhization on tomato responses to bacterial infection by the haplotypes A and B of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' (LsoA and LsoB) and on the reproduction of the psyllid vector were also studied. The study thus demonstrated an induced systemic resistance against anthracnose leaf blight in maize. Phenazines induced systemic resistance in susceptible lines but induced susceptibility in ALB-resistant lines. The induction of resistance by AMF was independent of the *9-ZmLOX12* gene while induction by PGPP was not. Also, AMF was able to reduce the production and/or secretion of PGPP phenazines. AMF also appeared to have a mechanism of resistance to hevein-like root exudates. In addition, the tolerance indices (STI) to water stress in the *9-zmlox3* and *9-zmlox12* mutants were at least 2.0 and 1.2 times higher, respectively, than those of the wild type B73. Thus, the *9-ZmLOX3* and *9-ZmLOX12* genes appeared to be susceptibility genetic factors towards water stress. Mycorrhization improved STIs in all genotypes except the *9-zmlox12* mutant. Inactivation of the *9-ZmLOX3* gene increased mycorrhization-induced resistance to water stress. Besides, mycorrhization reduced the incidence of Lso-induced disease, oviposition, and survival of nymphs from LsoA vector psyllids but not those from LsoB vector psyllids. In sum, this study confirms that understanding of the molecular mechanisms of interactions, provides basis for enhanced management of various stresses.

**Keywords:** plant-microbe and microbe-microbe interactions, induced systemic resistance, *9-LOX* genes, abiotic and biotic stresses.