



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : PHYTOPATHOLOGIE

Présenté par :

BOUDJEMAA Mounia & KARA Amina

Thème

***Etude de l'action de *Pseudomonas* fluorescents chez
*Arabidopsis thaliana****

Soutenu le : 19/09/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme MECELEM DALILA

MCA

Univ. de Bouira

Examinatrice

Mme BOUKERMA Lamia

MAC

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme CHEKRONE Malika

MAB

Univ. de Bouira

Président

Année Universitaire : 2020/2021.

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons tout d'abord à adresser nos plus chaleureux remerciements à notre promotrice Mme BOUKERMA Lamia d'avoir accepté d'encadrer ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury ; Mme MECLEM Dalila et Mme CHEKRONE Malika d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont permis d'évoluer dans la réflexion et l'élaboration de ce travail

Dédicaces

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne. Son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui ;

A mon père Abdallah, à ma mère Hassina, pour leurs effort qu'ils ont suscité en moi.

A mes sœurs (Rima, Khadidja), ma copine et sœur Farah, qui m'ont toujours soutenue et encouragée durant ces années d'études.

Mounia.

Dédicace :

Je dédie ce travail à

*** La lumière de ma vie est bien mes parents sans leur présence je ne serai pas ce que je suis aujourd'hui.**

*** Mes chers frères OMAR et KHALED.**

*** Mes chers sœurs SIHAM et HOUDA.**

*** Et à toutes ma famille.**

*** Mes chers amies KHAOULA, AMINA, DJIHAD, HAFIDA, ASMA, IMANE, ASMA .**

*** Sans oublié ma binôme MOUNIA avec qui j'ai réalisé ce travail.**

***particulièrement à la meilleure personne de ma vie LAMINE.**

Amina.

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

| | |
|--|---------|
| Tableau 1 : les plantes hôtes de <i>Fusarium</i> vasculaire. | 21 |
| Tableaux 2 : Les références de partie matérielle et méthode et résultat et discussion..... | (23-24) |
| Tableaux 3:Les composition de milieu King B et milieu PDA..... | 26 |
| Tableau 4 : Pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne en culture solide..... | 31 |
| Tableau 5: activité d'antagonisme de <i>Pseudomonas</i> spp et <i>Fusarium</i> spp..... | 33 |
| Tableau 6 : moyennes du diamètre au collet, de longueur de la tige, de la longueur de la tige, du nombre de racines courtes et de poids sec racinaires des plantes..... | (38-39) |
| Tableau 7 : Effet de la bactérisation sur les paramètres de croissance du blé gains (%) obtenus par rapport aux témoins non bactérisés..... | 41 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Photo microscopique de <i>P. fluorescens</i> | 03 |
| Figure 2: Colonisation de la racine de <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 04 |
| Figure 3 : Expression des gènes par le quorum sensing | 08 |
| Figure 4 : Processus général du transport du fer dans une bactérie à Gram négatif par un sidérophore tridentate (NIOL..... | 11 |
| Figure 5 : Interactions entre les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents, les Microorganismes pathogènes et les cellules racinaires..... | 13 |
| Figure 6 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries..... | 14 |
| Figure 7 : La résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries..... | 15 |
| Figure 08 : <i>Arabis thaliana</i> | 17 |
| Figure 9 : La structure d' <i>Arabidopsis thaliana</i> | 18 |
| Figure 10 : Les formes de spore asexuée de <i>Fusarium oxysporum</i>)..... | 20 |
| Figure 11 : Plantes hôte de Fusariose vasculaire..... | 21 |
| Figure 12 : Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas fluorescens</i> sur milieu King B | 25 |
| Figure 13 : Antagonisme in vitro | 27 |
| Figure 14 : Symptomatologie de la fusariose vasculaire d' <i>Arabidopsis thaliana</i> | 29 |
| Figure15 : Effet des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents sur laS croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i> | 32 |
| Figure16 : Inhibition des cultures de <i>Verticillium dahliae</i> Par <i>P. fluorescens</i> | 32 |
| Figure17 : Antagonisme in vitro entre <i>Pseudomonas fluorescens</i> et <i>Fusarium</i> | 33 |
| Figure18 : Activité antagoniste de quelques souches de <i>Pseudomonas</i> | 34 |
| Figure19 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des colonies de <i>F. oxysporum</i> et de <i>Alternaria alternata</i> en présence des souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 35 |

| | |
|---|----|
| Figure 20: Production de sidérophores et assimilation de fer..... | 35 |
| Figure21 : taux d'infection (%) de la souche FopR1 des géotypes étudiés chez les traitement bactérisé et non bactérisé | 37 |
| Figure 22: effet de la bactérisation sur la croissance des plantes après 3 semaine d'inculatioonn | 38 |
| Figure23 : sévérité des symptômes des géotypes étudiés avec la souche FopR1 (Yala et al 2017), | |
| Figure 24: stimulation de souches Pseudomonas sur la germination des graines..... | 40 |

Sommaire

| | |
|--|----|
| Introduction | 1 |
| 1. Pseudomonas fluorescents | 3 |
| 1.1. Généralités..... | 3 |
| 1.1.1. Identification et systématique | 3 |
| 1.1.2 . Caractéristique de Pseudomonas..... | 3 |
| 1.1.3 .Habitat de Pseudomonas..... | 4 |
| 1.1.4 . Les Pseudomonas dans la lutte biologique..... | 4 |
| 1.1.5 .La pyoverdine | 5 |
| 1.1.6 .La rhizosphère | 5 |
| 1.1.7 .Le biofilm | 5 |
| 1.1.8 .Le quorum sensing..... | 6 |
| 1.2. Mécanismes d'action des Pseudomonas fluorescents..... | 7 |
| 1.2.1. Stimulation de la croissance des plantes | 8 |
| 1.2.1.1.Solubilisation du phosphore..... | 8 |
| 1.2.1.2. Production de l'acide indole acétique AIA | 9 |
| 1.2.1.3.Fixation d'azote..... | 9 |
| 1.2.1.4.Production d'acide 1-Aminocyclopropane -1-carboxylique désaminase (ACC-désaminase)..... | 10 |
| 1.2.2. Effets d'antagonisme | 10 |
| 1.2.2.1. Production de sidérophores..... | 10 |
| 1.2.2.2. Production d'antibiotiques..... | 10 |
| 1.2.2.3. Compétition pour l'espace et les nutriments..... | 12 |
| 1.2.2.4. Production de cyanure d'hydrogene d'HCN..... | 12 |
| 1.2.3. Induction de la résistance chez les plantes..... | 13 |
| 1.2.4. Pseudomonas spp. face aux stress abiotiques..... | 14 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 2. Arapidopsis thaliana..... | 16 |
| Systématique | 16 |
| 3. Fusariose vasculaire..... | 19 |
| Taxonomie..... | 20 |
| Symptômes de F.oxysporum..... | 21 |
| Matérielle et méthode | |
| 1. Microorganismes..... | 25 |
| 2. Essais d'antagonisme..... | 26 |
| 2.1. Antagonisme in vitro..... | 26 |
| 2.2. Antagonisme in situ | 27 |
| 3. Paramètres analysées..... | 28 |
| 3.1. Evaluation de la maladie | 28 |
| 3.2. Paramètre de croissance..... | 30 |
| Résultat et discussion | |
| 1. ANTAGONISME IN VITRO..... | 31 |
| 2. Essais in situ | 36 |
| 2.1. Taux d'infection..... | 36 |
| 2.2. Sévérité de la maladie | 37 |
| 2.3. Stimulation Croissance | 38 |
| Conclusion | 43 |
| Résumé..... | 44 |
| Liste d'abréviation | 48 |
| Référence bibliographique..... | 47 |

Introduction générale

Introduction

Dans leur environnement, les plantes vivent en interaction avec d'autres organismes dont la diversité peut être importante. Il en résulte une grande variabilité d'interactions directes ou indirectes. Les conséquences de ces interactions sont variables, allant des bénéfices mutuels, en passant par la neutralité, jusqu'à l'interaction délétère (Zaker et al. ; 2016). Les agents pathogènes peuvent causer des pertes de récoltes atteignant au moins 30% du rendement. Le nombre et l'importance des maladies varient selon les zones climatiques (Zaker et al. ; 2016).

Face à une telle situation, l'utilisation des intrants chimiques constitue la principale stratégie dans la gestion des productions agricoles (Nakkeeran et al., 2005). L'application abusive et répétée de ces produits chimiques après tant d'années a provoqué des problèmes écologiques, tout en favorisant le développement de formes résistantes chez les agents pathogènes à ces matières actives; sans omettre les problèmes liés à la santé humaine par l'accumulation des molécules chimiques dans les produits alimentaires (Nakkeeran et al., 2005; El Guilli et al., 2009 ; Zaker et al., 2016).

Hormis leurs coûts relativement élevés, les produits chimiques ne sont pas très spécifiques dans la plupart des cas, ils peuvent avoir des effets négatifs sur les composantes biotiques et même abiotiques. Globalement, à l'échelle mondiale malgré les bonnes volontés appelant et même exigeant la diminution des intrants chimiques en agriculture, le volume de ces produits ne cesse d'augmenter dans la balance commerciale (Muthamilarasan et Prasad, 2013 ; Piertese et al 2014 ; Zaker et al, 2016). Les enjeux d'avenir de l'agriculture s'efforcent à répondre aux objectifs de la production qualitative et quantitative, dans le respect des exigences du développement durable (Muthamilarasan et Prasad, 2013 ; Piertese et al 2014 ; Zaker et al, 2016).

Dans les dernières années, les scientifiques ont tourné leur attention vers l'exploitation du potentiel des organismes bénéfiques pour la protection des végétaux, l'introduction de microorganismes bénéfiques dans le sol ou dans la rhizosphère a été proposée pour le contrôle biologique des maladies (Boukerma, 2012). Les techniques moléculaires et microbiologiques contribuent à la compréhension des mécanismes d'action pour une meilleure exploitation des agents de biocontrol (Boukerma, 2012).

Les bactéries rhizosphériques *Pseudomonas* spp. fluorescents qualifiées de PGPRs (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) ont des effets bénéfiques directs et indirects sur les plantes.

Les effets directs concernent la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante et les effets indirectes concernent la modification des équilibres des populations microbiennes pathogènes (Ficheret al., 2007 ; Benchaabene, 2000 ; Boukerma 2012 ; 2017).

L'objectif de notre travail consiste à étudier les effets bénéfiques de deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents en caractérisant l'effet d'antagonisme (*in vitro*). Ce travail est représenté sous forme de synthèse de travaux de plusieurs études concernant la stimulation de la croissance et le biocontrôle (*in situ*): interaction *Pseudomonas* spp. fluorescents-*Arabidopsis thaliana*-*Fusarium oxysporum matthioli*.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. *Pseudomonas* fluorescents

1.1. Généralités

1.1.1. Identification et systématique

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des bactéries à Gram négatif, aérobies strictes qui se présentent sous forme de bâtonnets. Elles évoluent à un pH neutre dans une température optimale de croissance de 25 à 30 °C mais elles peuvent aussi se développer à une température basse que 4°C (Palleroni, 1984). La bactérie *P. fluorescens* (Figure 1) ne forme pas de spores ou d'autres structures de survie et ne peut pas se développer dans des conditions acides (< pH 4,5) (Holt, 1994). Comme sa demande nutritionnelle est modeste, elle peut survivre et se multiplier pendant plusieurs mois dans des environnements humides (Holt, 1994). L'arbre phylogénétique construit à partir des séquences partielles de l'ADNr 16S regroupe les principales espèces du genre *Pseudomonas* : groupe *putida*, groupe *fluorescens*, groupe *aeruginosa*, groupe *syringae*, groupe *chlororaphis*, groupe *stutzeri*, groupe *pertucinogena* (Holt, 1994).

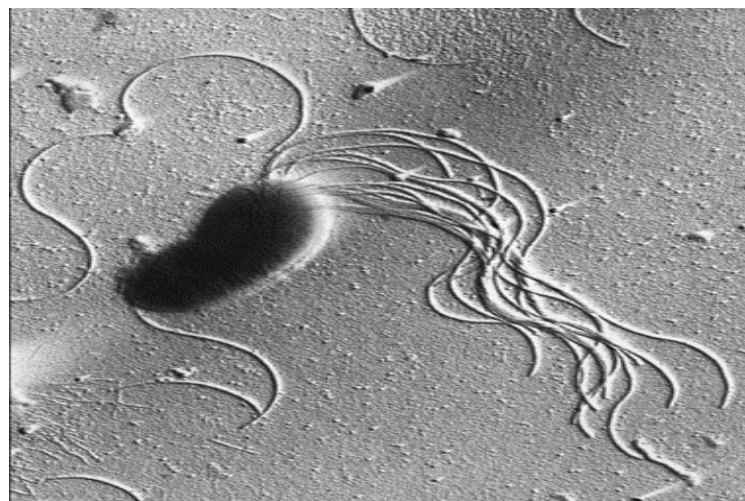


Figure 1 : Photo microscopique de *P. fluorescens* (Bazemlal, 2017).

Systématique

Règne : Bacteria
Classe : Schizomycetes
Ordre : Pseudomonadales
Sous-ordre : Pseudomonadineae
Famille : Pseudomonadaceae
Genre : *Pseudomonas*
Espèce : *Pseudomonas fluorescens* (Holt, 1994).

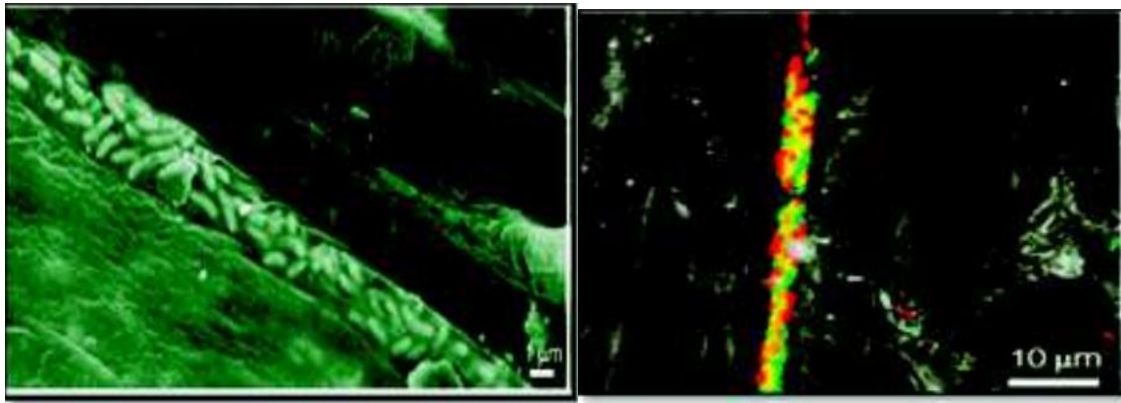


Figure2: Colonisation de la racine de *Pseudomonas fluorescens*.

A : micrographie électronique à balayage de *Pseudomonas flourescens*.

B : analyse microscopique confocal à balayage de la colonisation de *Pseudomonas flourescens* (Boukerma, 2012).

1.1.2 .Caractéristique de *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose). Donc il caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif (Mezaache 2012).

Les *Pseudomonas* fluorescents saprophytes possèdent tous un cytochrome oxydase c ayant un maximum d'absorption caractéristique à 552/554 nm qui peut être mise en évidence par l'oxalate de N, N-diméthyl-paraphénylène-diaïne, Elles sont aussi catalase positive, mésophile chimio-organotrophe puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone (Mezaache 2012). Certaines sont chimio organotrophes facultatives et peuvent utiliser l'hydrogène comme source d'énergie et n'ont pas besoin de facteurs de croissance pour se multiplier, Elles peuvent utiliser des sources de carbones variables (versatilité nutritionnelle), et certaines ont la capacité de croître même dans l'eau (Stanier *etal*, 1966). La plupart étant saprophytes (Ramalho *etal*, 2002).

1.1.3 .Habitat de *Pseudomonas*

Les températures cardinales aux quelles les espèces se multiplient varient de 4° à 42°C, alors que la température optimale pour la croissance des espèces saprophytes est située entre 28°C et 30°C, Toutes espèces de ce genre ne peuvent croître à pH inférieur à 4.5 (Mezaache 2012).

Les *Pseudomonas* ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, la cellulose (Mezaache 2012), De nombreux isolats de *P. fluorescens* et *P. putida* ont été cités en exemple comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes (Campbell et al, 1995).

1.1.4. Les *Pseudomonas* dans la lutte biologique

Les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* ont été identifiées comme agents potentiels de biocontrôle, impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes, sont considérés comme des composés biologiques diminuant la sévérité de la maladie et stimulant la croissance des plantes. Différentes espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été rapportés à la fois comme PGPR, et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (Mezaache 2012).

1.15. La pyoverdine

Les bactéries du groupe *Pseudomonas fluorescents* représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Digat et Gardan, 1987). Ces bactéries sont capables d'utiliser les exsudats de plantes comme nutriments (Lugtenberg et al, 2002). Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont connus pour leur aptitude d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan. Ils peuvent produire des antibiotiques (Mezaache 2012) et des enzymes hydrolytiques (Neilsen et Sorensen, 1999). Certaines espèces peuvent produire des pigments fluorescents ou non fluorescents, Le groupe de *Pseudomonas* fluorescents produisent un pigment fluorescent appelé pyoverdine (jaune vert) jouant le rôle de sidérophore (Freney et al, 2007 ; Palleroni, 2008).

1.1.6. La rhizosphère

L'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol (Dobbela et al., 2003). Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (Gray et Smith, 2005). La rhizosphère héberge ainsi une très grande quantité de microorganismes, pouvant aller jusqu'à

10^{11} bactéries par gramme de racines (Egamberdieva *et al*, 2008 ; Berendsen *et al*, 2012). Ces bactéries de la rhizosphère sont regroupées sous le terme PGPRs (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago, 2005).

La rhizosphère, région environnant les racines des plantes, est influencée à la fois par les racines, le sol et les microorganismes. C'est une zone d'interaction majeure entre plantes et les microorganismes. Des sécrétions racinaires de différentes natures vont fortement modifier la composition et les propriétés physico-chimiques du sol pour en faire une zone propice au développement des microorganismes (Somers *et al*, 2004 ; Badri *et al*, 2009 ; Vacheron *et al*, 2013). En effet, les nutriments libérés par la racine sous formes d'exsudats ou de rhizo-dépôts, attirent fortement les microorganismes et, en conséquence, favorisent leurs activités et accroissent leur nombre. On parle de « rhizosphere effect » (Bais *et al*, 2006).

1.1.7. Biofilm

Les espèces du genre *Pseudomonas* produisent une couche d'exopolysaccharide entourant leurs cellules, la protégeant de la phagocytose par les macrophages chez les mammifères. Cette Couche d'exo-polysaccharide (E.P.S) leur permet de former des bio films (figure 2), grâce auxquels elles peuvent rester collées aux surfaces (Visca *et al*. 2007). Ce genre produit beaucoup de poly hydroxy alcanates et d'alginate ainsi que d'autres substances métaboliques. Ce qui les rend d'un grand intérêt biotechnologique (Mezaache 2012).

Ces bactéries ont des exigences nutritives très modestes. Elles survivent et se multiplient dans des environnements humides (Tournus, 2016). Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans l'eau, le sol, les végétaux et les tissus biologiques. Elles ont une capacité à s'installer dans des niches différentes. Il existe des souches psychotropes (capables de se développer de 0 à 20°C mais dont la température optimale de croissance est entre 20 et 35°C) responsables de la détérioration des denrées alimentaires et des produits biologiques conservés au froid (espèces *fluorescens*, *putida*), sont principalement retrouvées dans l'environnement mais aussi en milieu hospitalier (Tournus, 2016).

Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque,

les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Les *Pseudomonas* fluorescents utilisent le biofilm pour la colonisation des racines des plantes. Un biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules attachées de manière irréversible à un substrat, une interface ou tout simplement entre elles, sont organisées sous forme de communautés sessiles fixées à une surface (Chibi, 2015), enrobées d'une matrice extracellulaire de substances polymériques (en général d'exopolysaccharides) qu'elles ont elles-mêmes produites et qui présentent un phénotype particulier en terme de taux de croissance et de transcription de gènes. La structure du biofilm est renforcée par la matrice extracellulaire d'exo-polymères, constituée essentiellement d'exopolysaccharides (EPS). Cette matrice englobe d'autres molécules de nature organique et inorganique, jouant également un rôle dans la résistance aux stress environnementaux, par exemple l'ADN extracellulaire, les protéines et les ramnolipides (Amandine 2010). Les biofilms fournissent un environnement idéal pour l'établissement de relations syntrophiques (symbiose particulière où deux types de bactéries métaboliquement différents dépendent l'un de l'autre pour utiliser certains substrats) (Amandine 2010).

1.1.8. Quorum sensing

La formation d'un biofilm est contrôlée par le mécanisme de quorum sensing, permettant la communication des signaux de cellules à cellules (Figure 3), et dépendant de la quantité de cellules présentes. Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique (Tolker-Nielsen, 2000). Les molécules du quorum sensing sont différentes selon les types de bactéries, on trouve des acylhomosérines lactones (AHL) chez la plupart des bactéries Gram négatives. (Irie et Parsek 2008). Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil (valeur critique), des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques (Irie, 2008). Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm (Irie et Parsek, 2008). Arait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm, jouerait un rôle dans l'établissement d'antibiorésistances, aussi un rôle dans la lutte contre l'attaque d'autres organismes vivants, comme les protozoaires (de Chalvet 2009).

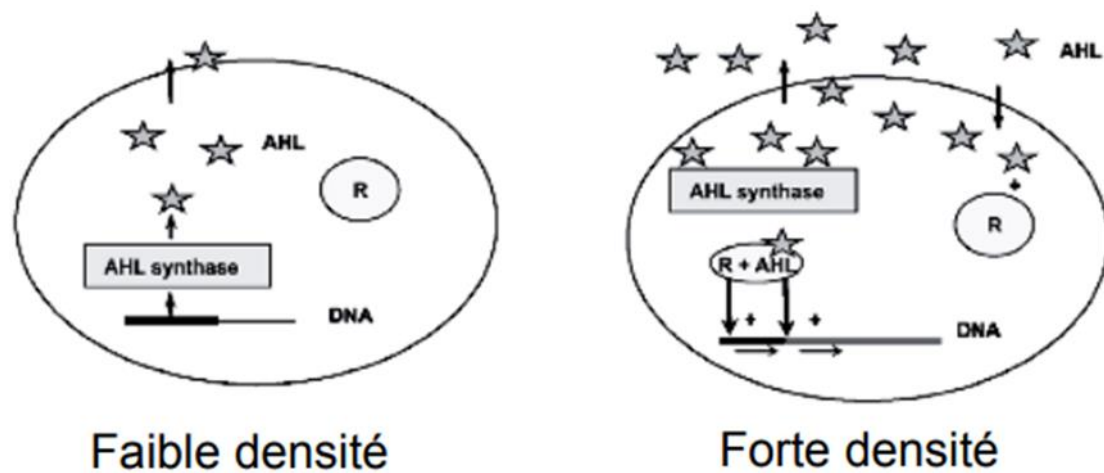


Figure 3 : Expression des gènes par le quorum sensing (Tolker-Nielsen, 2000).

1.2. Mécanismes d'action des *Pseudomonas fluorescens*

1.2.1. Simulation de la croissance des plantes

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes habitants des sols agricoles et de la rhizosphère sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schrothetal.,1992). De nombreux travaux ont montré la capacité des rhizobactéries à stimuler la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation dans des conditions expérimentales variées (Lemanceau, 1992). . Il apparaît clairement que l'augmentation de rendement observée en conditions normales de production, est toujours inférieure à l'augmentation de la croissance des plantes cultivées en conditions contrôlées (Lemanceau, 1992). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents colonisent efficacement la spermosphère et peuvent assurer une bioprotection des semences avant et pendant la germination (Digat,1992). Ainsi certaines souches de *Pseudomonas* peuvent améliorer la germination des semences et la levée des plantules (Kloepper *etal.*,1980),notamment lorsque les conditions d'environnement sont défavorables à leur germination (Compant *etal.*,2005; Haas et defago,2005).

Les rhizobactéries sécrètent des substances qui provoquent une amélioration de la nutrition des plantes colonisées par l'absorption de l'ion nitrate par la plante, la solubilisation du phosphate et la chélation du fer(Adjanoounetal., 2012).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de synthétiser des siderophores qui sont des molécules chélatrices du fer surtout en condition de carence en cet élément nécessaire à leur croissance (Ongena *etal.*, 2002), ces dernières sont impliquées dans la croissance et

la sante des plantes (Latouretal.,2009)et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt *etal*, 2003).

1.2.2. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est connu comme l'un des minéraux nutritifs, le plus souvent, limitant la croissance des plantes (Vessey, 2003). Dans les sols, ils sont généralement présents à de faibles concentrations, en raison des nombreux processus géochimiques contraignant leur mobilité et leur disponibilité (Plassard *etal*, 2015). Dans le sol il existe deux sortes de phosphate, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles, ce qui réduit sadisponibilité pour les plantes (Dahdah et *al*, 2015). Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents comme *P.chlororaphis*, *P. putida* ont été identifié comme rhizobacteries solubilisant le phosphate (Cattelanet *al*, 1999). La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Kimet *al.*, 1998; Richardson, 2001).

1.2.3. Production de l'acide indole acétique AIA

L'acideindole-3-acétique est reconnue comme une auxine principale chez les plantes, impliqué dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongationdes tiges et de nombreux processus mettant en jeu la division et la différenciation cellulaires(O'Gara *etal.*, 2008) . L'AIA favorise l'apparition des racines adventives sur les boutures tout en inhibant leur élongation (Karabaghli e *tal*,1997).Cette phytohormone est impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau desracines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994), et est communément produite par les rhizobactéries (Barazani et Friedman, 1999).Patten et Glick (2002), ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P.putida* dans le développement du système racinaire des plantes. Ces dernières sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines. Cet effet résulte d'une augmentation de surface racinaire ainsi une accessibilitéplus importante à des nutriments pour la plante (Glick ,2002).

1.2.4. Fixation d'azote

Parmi les éléments nutritifs nécessaires, celui qui est le plus souvent limitant pour la croissance des plantes est l'azote, la majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N_2) inaccessible aux animaux et aux plantes (Pujic et Normand, 2009). La fixation biologique de l'azote relève uniquement du domaine des procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Weyens et al., 2010).

1.2.5. Production d'acide 1-Aminocyclopropane -1-carboxylique désaminase (ACC-désaminase)

L'éthylène est une phytohormone capable de lever la dormance des graines. Elle favorise également la maturation des fruits et déclenche l'abscission des feuilles (Bleecker et Kende, 2000). Cependant, l'élévation de sa concentration ($> 25 \mu g/l$) en état de stress causé par les métaux lourds (Belimov et al., 2005), les pathogènes (Wang et al., 2000), la sécheresse (Mayak et al., 2004), la salinité (Mayak et al., 2004) et les contaminants organiques se traduit par une inhibition de la formation des poils et l'élongation racinaire et par conséquent une réduction de la croissance végétale (Reed et Glick, 2005).

La diminution de la teneur élevée de l'éthylène peut être réalisée en dégradant son précurseur direct, l'acide 1-Aminocyclopropane -1-carboxylique (ACC), à l'aide de l'ACC-désaminase. Cette enzyme est exprimée chez plusieurs rhizobactéries (*Alcaligenesspp.*, *Bacillus pumilus*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonasspp.*, et *Variovorax paradoxus*). Celles-ci peuvent dégrader l'ACC en α -ketobutyrate et en ammonium (Glick et al., 2007).

1.2.2. Effets d'antagonisme

1.2.2.1. Production de sidérophores :

La production des sidérophores c'est un mécanisme hautement spécifique développer par la plus part des microorganismes avec une diversité structurale considérable (figure 4) (Benchabane, 2005 ; Maksimov et al., 2011). L'absorption de l'ion ferrique via les sidérophores est largement utilisée par les micro-organismes pathogènes et non pathogènes du sol (Allaire, 2005). Les sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation d'ions

ferriques par des microorganismes aérobies, tels que les bactéries, certains champignons mais aussi organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) en réponse à des conditions de carence en fer (Ratledge et Dover, 2000).

Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux. Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires. Les sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle est de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes. Les *Pseudomonas fluorescens* produisent des sidérophores qui se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent appelé «pyoverdine» qui forme avec le fer un complexe: «ferri-pyoverdine». L'importance des sidérophores est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crosa et Walsh, 2002).

La chélation de fer par les bactéries ou champignons est un caractère très recherché et présente un intérêt considérable en agriculture. Cette activité assure d'une part une source de fer assimilable par la plante et d'autre part assure une compétition avec les agents phytopathogènes surtout les champignons, un caractère recherché dans le biocontrôle des agents phytopathogènes (Dahdah et al, 2015).

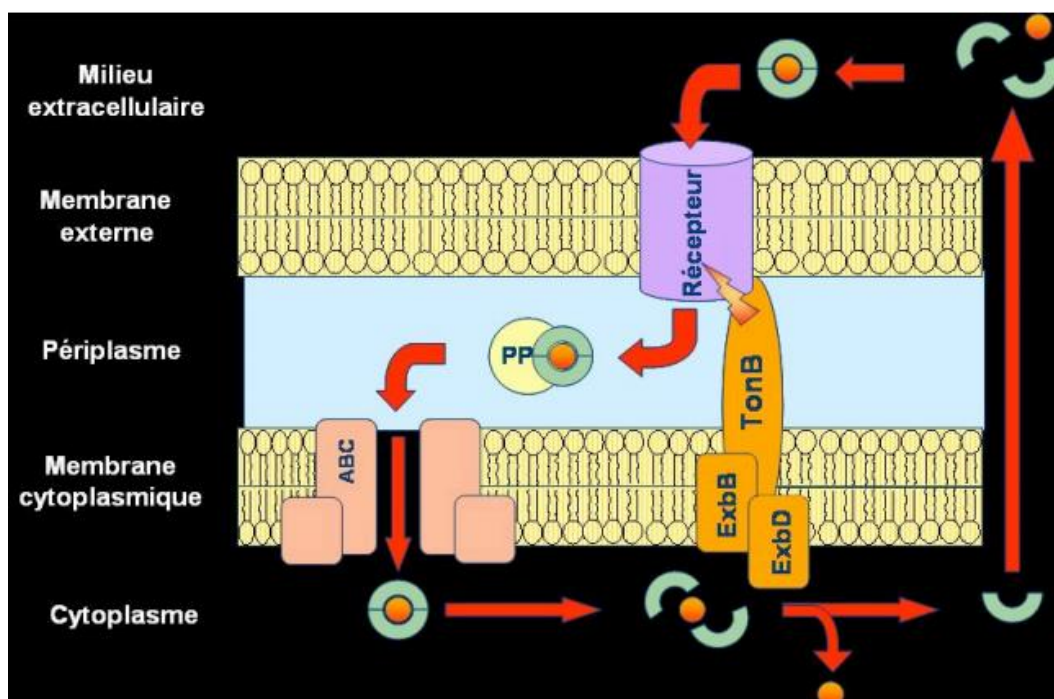


Figure 4 : Processus général du transport du fer dans une bactérie à Gram négatif par un sidérophore tridentate (Niol et *al*).

L'ion Fe^{3+} (sphère orange) chélaté par le sidérophore est puis transporté à travers la membrane externe par un récepteur spécifique. Ce transport requiert un transducteur d'énergie : le complexe TonB-ExbB-ExbD qui permet de coupler ce transport à la force proton-motrice. Une protéine périplasmique (PP) permet ensuite le transport à travers le périplasme jusqu'à un transporteur ABC, responsable de l'entrée du ferrisidérophore dans le cytoplasme où le complexe est dissocié (Nioli et al).

1.2.2.2. Production d'antibiotiques

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974), c'est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPRs pour limiter l'invasion des pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Thomashow et al., 1997). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action, sur des agents fongiques telluriques. Parmi ces antibiotiques le spyolutéorine (PLT), les phenazines (pcA), les pyrrolnitrines (Prn), le 2,4-diacétyl-phloroglucinol (DAPG), les tropolones et l'oomycine... (Keel et al., 1991, Kloepper et al., 1991). Les phenazines (pcA) le 2,4-diacétyl-phloroglucinol (DAPG) sont les majeurs déterminants rapportés dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes (Defago et Hass, 2005). Ainsi le DAPG produit par *Pseudomonas fluorescens* (CHA0) protège *Arabidopsis thaliana* de *Peronospora parasitica* (Lavicoli et al., 2013).

1.2.2.3. Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer les pathogènes fongiques par une compétition pour le carbone et les sources d'énergie (Kamilova et al., 2005). Les PGPRs doivent être présents sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capables d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS),

la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

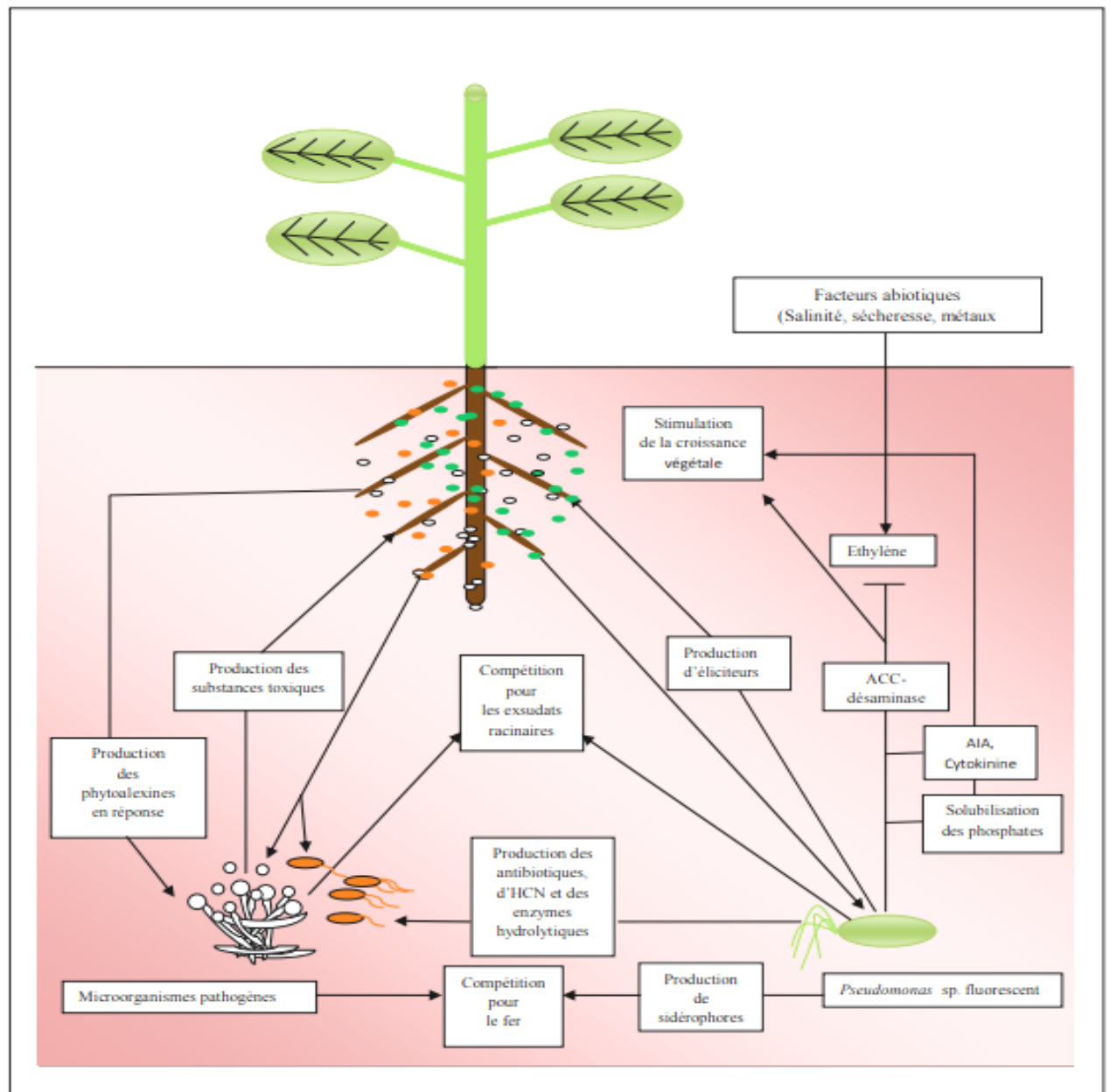


Figure 5 : Interactions entre les *Pseudomonas* spp. fluorescents, les microorganismes pathogènes et les cellules racinaires (Kamilova et *al*, 2005).

1.2.2.4. Production de cyanure d'hydrogene d'HCN

Le cyanure d'hydrogene (HCN) est un métabolite secondaire impliqué dans la suppression d'agents pathogènes (Laville *et al*, 1998; Ramette *et al*, 2003). La production d'HCN au niveau de la rhizosphère peut être avantageuse pour acquérir des nutriments (Ellis *et al*, 2000). Elle peut également contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer et Haas, 2000). La production d'HCN, été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983), l'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O'Gara, 1992).

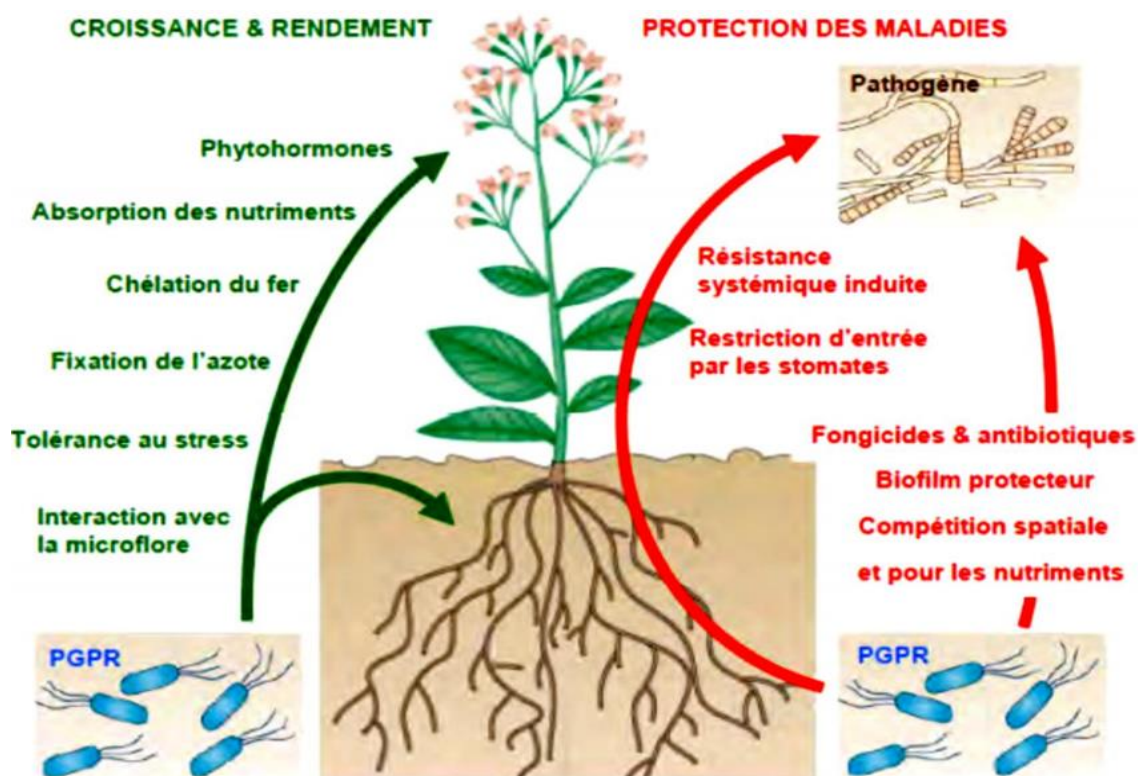


Figure6 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Bazemlal ,2017).

1.2.3. Induction de la résistance chez les plantes

Certaines bactéries de la rhizosphère les PGPR, rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes en stimulant des mécanismes de défense inductibles chez l'hôte, rendant celle-ci moins susceptible vis-à-vis d'une infection ultérieure par un agent pathogène. Ce phénomène appelé «résistance systémique induite»(ISR) a été mis en évidence chez plusieurs plantes pour

lutter contre une gamme relativement large de pathogènes fongiques, bactériens ou viraux (Latour, 2002).

Les rhizobactéries peuvent réduire la sévérité d'une maladie à travers la stimulation des mécanismes de défense inductible chez les plantes, l'induction de la résistance d'une plante consiste à activer les réactions de défense naturelle présente dans la plante mais qui sont à l'état latent (Latour, 2002). Le traitement des racines par les PGPRs induit des effets protecteurs (ISR) sur les autres parties de la plante sans migration des bactéries à travers le système vasculaire de la plante ou à travers ses tissus (Bent, 2005). Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sont responsables de l'amélioration des niveaux de résistance des plantes à l'encontre de différents agents pathogènes par la stimulation et l'activation des mécanismes de défenses (ISR) (Van Loon et al, 1998; Pieterse et al, 2002).

La bactérisation des plantes par des souches de *Pseudomonas* fluorescents améliore la capacité naturelle de se défendre de façon active contre les agents pathogènes (Heil, 2001), ces bactéries peuvent jouer un rôle d'élliciteur efficace dans l'activation de gènes de défense de la plante, ainsi la plante sensibilisée répond fortement et rapidement à l'attaque microbienne sans perte importante d'énergie. L'induction de résistance peut induire des modifications structurales de la paroi végétale, tels que la lignification de la paroi cellulaire et le dépôt de callose (Benchabane 2005).

Les élliciteurs des rhizobactéries sont classés selon trois catégories : les composants de surface cellulaire, les métabolites régulés par le fer et les antibiotiques (Ongena et al, 2006). Après la reconnaissance d'un élliciteur (Garcia-Brugger et al, 2006).

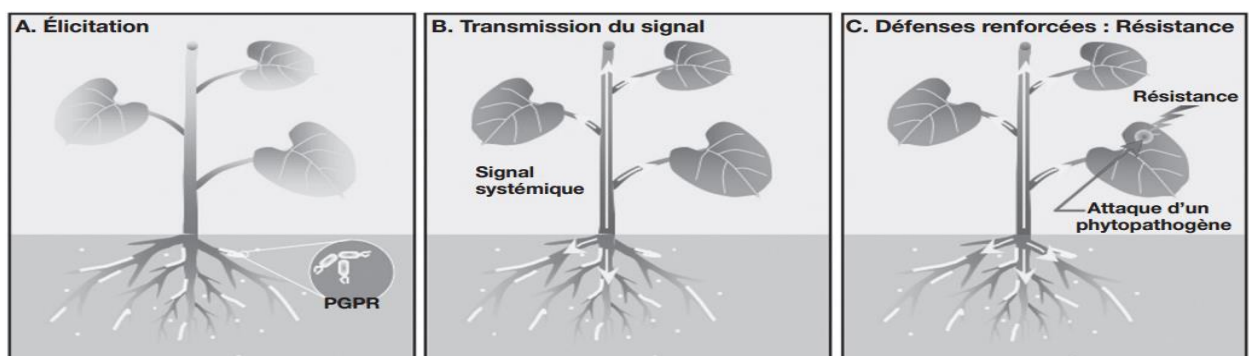


Figure 7 : La résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries

A : l'éllicitation : les rhizobactéries ou PGPR (interagissent avec les racines de l'hôte et produisent des élliciteurs qui sont perçus par la plante).

B : après la reconnaissance (un signal est véhiculé dans l'ensemble de la plante afin de l'alerter).

C : une résistance (éventuelle attaque par un agent phytopathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression) (Jourdan et al, 2008).

1.2.4. *Pseudomonas* spp. face aux stress abiotiques

Divers rhizobactéries, regroupées sous le terme PGPRs, ont une capacité à promouvoir la croissance de leur plante hôte par des effets sur : la nutrition, l'architecture racinaire ou la santé de leur partenaire végétal (Grover et al, 2010). Ils peuvent aussi déclencher l'expression des mécanismes de la tolérance systémique induite (TSI) vis-à-vis de différents facteurs de stress abiotiques tels la sécheresse, la salinité et les métaux lourds (Yang et al, 2009) (Fig. 5).

L'inoculation de la souche *Pseudomonas* AMK-P6, par exemple, induit une thermo tolérance du sorgho (47-50°C) ; ceci est réalisé en améliorant la biomasse végétale ainsi que sa teneur en chlorophylle, en sucres, en acides aminés et en proline (Ali et al, 2009). Chez le maïs (*Zea mays*), l'inoculation de *Rhizobium* et de *Pseudomonas* induit une réaction de tolérance au sel se traduisant par une augmentation de la production de proline, un maintien de la teneur en eau dans les feuilles et une absorption sélective des ions K⁺ (Bano et Fatima, 2009).

La production de sidérophores, de l'AIA et l'expression de l'ACC-désaminase par les *Pseudomonas* permet de diminuer l'état de stress de la plante (Dell'Amico et al, 2008). Certaines espèces de *Pseudomonas* possèdent la machinerie enzymatique nécessaire à lever l'inhibition de la croissance végétale causée par une forte production d'éthylène. Par exemple *Pseudomonas putida* qui possède l'ACC-désaminase qui confère la résistance

2. *Arabis thaliana*

Est une plante de la famille des Brassicacées (Crucifères), c'est une plante herbacée de 10 à 15 cm de hauteur à l'état adulte. Elle est formée d'une rosette de feuilles de 2 à 5 cm de diamètre située au sol dont se détachent une courte racine et un pédoncule floral portant une inflorescence. D'autres inflorescences se forment sur les rameaux secondaires. Les fleurs blanches de quelques mm sont typiques des Crucifères avec quatre sépales et quatre pétales disposés en croix, quatre étamines et un pistil. Il y a autofécondation et chaque fleur se transforme en un fruit qui est une capsule allongée, une silique, contenant de 30 à 50

minuscules graines. Chaque plant peut ainsi produire plusieurs milliers de graines à chaque génération (figure 8), Si la lumière, la température et les autres facteurs de croissance ne sont pas limitants, le cycle se déroule en six à huit semaines(Petricka et al. 2012).

A. thaliana a cinq paires de chromosomes. La longueur de l'ADN d'une cellule haploïde est estimée entre 60 et 100 millions de paires de bases (60 000 à 100 000 kpb), environ cent fois plus petite que celle de plantes cultivées comme l'orge et le maïs. Plusieurs centaines de mutations sont connues et quelques unes d'entre elles sont aisément détectables à l'œil nu (couleur, poils, fleurs etc.).(Petricka et al. 2012).

L'ensemble de ces caractéristiques (nombreuses mutations, culture facile, croissance rapide, petite taille, autopolinisation, descendants nombreux, petit génome) ont conduit la communauté scientifique internationale à faire de cette plante le représentant des végétaux chlorophylliens vasculaires parmi les organismes modèles utilisés en génétique. Un programme international de séquençage de son génome auquel participent des laboratoires du monde entier, dont une trentaine en Europe, a été lancé en 1989(Nils, 2018)



Figure 08 :*Arapidopsis thaliana*(Nils, 2018) .

Systématique

Règne : Plantae.

Famille : Brassicaceae.

Nom scientifique : *Arabidopsis thaliana*.

Classification supérieure : Arabidopsis(Petricka et al. 2012).

L'arabette des dames est une plante de 20 à 25 centimètres de hauteur, formant une rosace de feuilles à sa base. Elle forme des fleurs blanches sur les tiges, qui donneront des siliques contenant chacune une cinquantaine de graines (Nils, 2018).

Elle possède un génome à ADN double brin linéaire, de 157 millions de paires de bases partagées en cinq chromosomes (qui sont entièrement séquencés depuis 2000). Elle se multiplie assez rapidement puisque six à huit semaines suffisent à un cycle complet (Petricka et al. 2012).

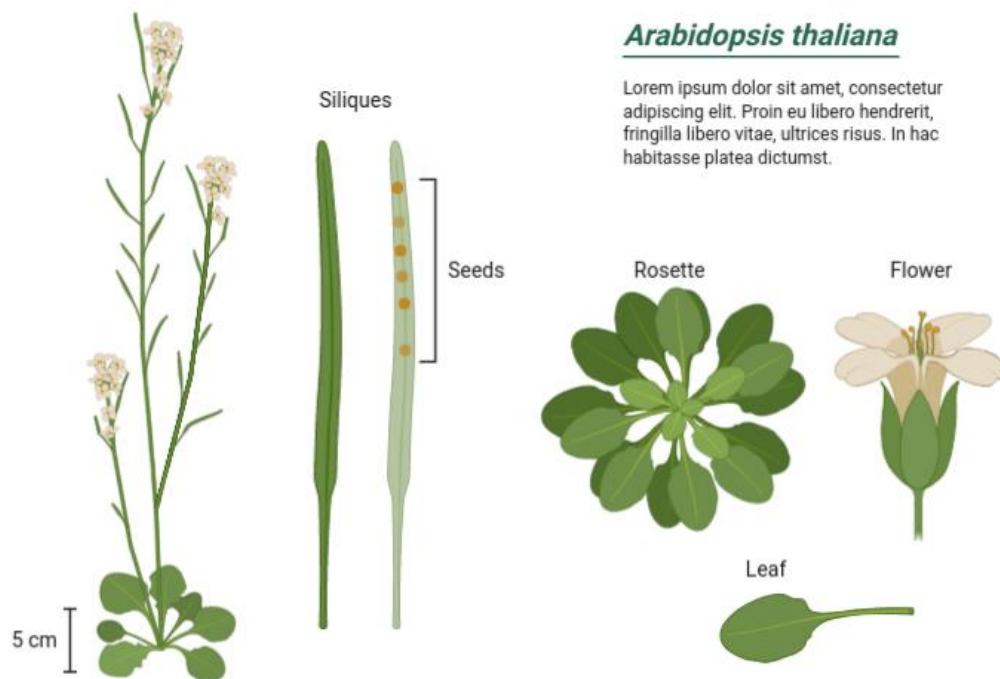


Figure 9 : La structure d'*arabidopsis thaliana* (Nils, 2018).

L'arabette des dames constitue un organisme modèle parfait puisqu'elle en présente tous les avantages (petite taille, multiplication rapide et nombreuse, petit génome). On peut également facilement transformer cette plante grâce à l'utilisation d'une agrobactérie (*Agrobacterium tumefaciens*). (Nils, 2018).

Le système racinaire d'*Arabidopsis thaliana* est composé d'une racine principale d'où partent des racines secondaires (ou latérales), de ces racines secondaires peuvent se développer

des racines tertiaires. La pointe de la racine principale est composée de la même manière que les pointes des racines latérales. A l'extrémité de la pointe racinaire se trouve la coiffe qui est constituée de plusieurs couches cellulaires et dont la fonction est de protéger les cellules situées derrière celle-ci et jouent un rôle dans la perception du gravitropisme. Ces cellules sont endommagées rapidement lors de la croissance de la racine du fait de la friction avec le sol et un renouvellement rapide est nécessaire. Les cellules de la coiffe produisent une gaine de mucilage polysaccharidique jouant un rôle de lubrifiant pour faciliter la progression de la racine dans le sol lors de sa croissance, au-dessus de la coiffe se trouve le centre quiescent et le méristème fondamental (Nils, 2018). Rôle très important dans le contrôle des méristèmes et dans le maintien de leur identité cellulaire (Petricka et al. 2012). Le méristème fondamental est une région de forte division cellulaire, qui vont former les différents types cellulaires constituant la stèle, le péricycle, l'endoderme, le cortex et l'épiderme. Au-dessus de la zone méristématique se trouve la zone d'élongation, où les cellules ne se divisent plus mais croissent en taille. Cette zone est la principale responsable de la croissance racinaire. (Petricka et al. 2012. Nils, 2018).

La zone de différenciation est située au-dessus de la zone d'élongation. La zone de différenciation est la région dans laquelle les cellules se spécialisent en cellules rhizodermiques (Petricka et al. 2012. Nils, 2018).

L'ensemble des cellules conductrices est entouré d'une couche cellulaire nommée péricycle et forme un cylindre au centre de la racine nommé stèle (ou cylindre central) occupant une grande partie de la largeur de la racine (Atkinson et al. 2014).

Sur la base des travaux précédents (Larbaoui, 1999; Benchabane et al., 2000; Ameur, 2009), nous avons sélectionné deux souches de *P. fluorescens* qui ont montré des activités antagonistes très importantes. Les souches bactériennes B1 et B2 sont isolées à partir des rhizosphères de la région de Mitidja. La pureté des isolats bactériens a été vérifiée sur le milieu B de King (King et al., 1954). Les cultures pures sont conservées à 4°C. (Benchabane et al., 2000 ; Ameur, 2009).

3. Fusariose vasculaire

La fusariose vasculaire est l'une des maladies d'origine tellurique provoquée par un champignon imparfait, *Fusarium oxysporum* appartenant au genre *Fusarium* et est considérée parmi l'un des principaux facteurs limitant le rendement des plantes (Bazemlal, 2017. Kaci

,2015).De nombreuses formes spéciales de *F.oxysporum* attaquent un grand nombre de plantes, se caractérisent par une large gamme de plantes hôtes et la plupart des souches pathogènes envahissent le système vasculaire de ces plantes donc y'a une spécificité parasitaire (Abdallah, Kaci ,2015). Ces souches peuvent produire des métabolites secondaires phytotoxiques (phytotoxines), qui ont été impliqués dans la pathogénèse de *F. oxysporum*. La toxine la plus connue produite par *F. oxysporum* est l'acide fusarique, à haute concentration, il induit de nombreuses réponses physiologiques dans les cellules végétales (Bazemlal, 2017).

Taxonomie

Règne: Fungi

Division : Ascomycota

Classe: Hymenoascomycètes

S-classe: Pyrenomycetidae

Ordre: Hypocreales

Famille: Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce: *Fusarium oxysporum* (Bazemlal, 2017).

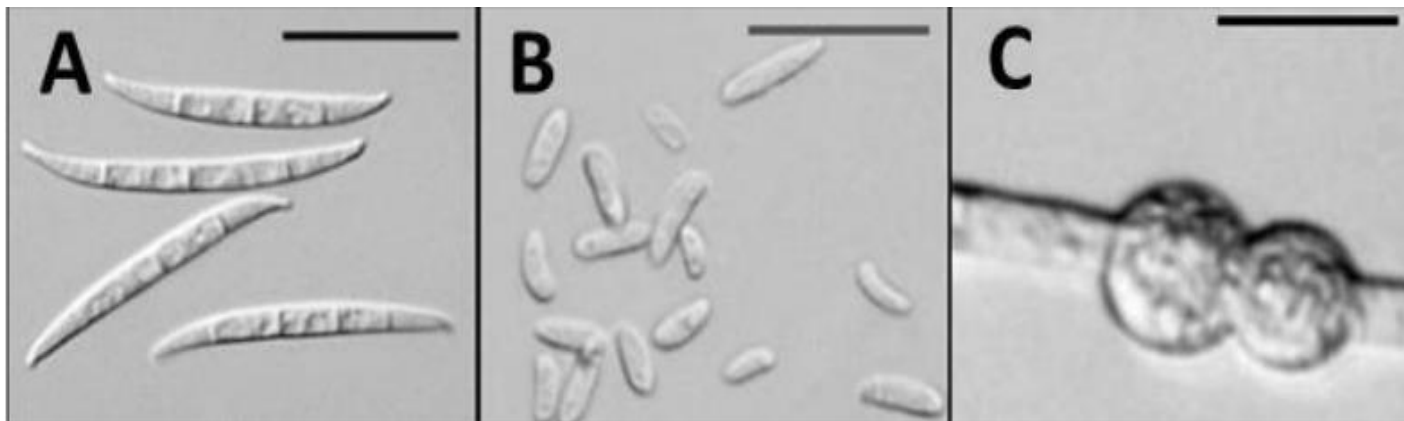


Figure10 : Les formes de spores asexuées de *Fusarium oxysporum*

- **La microconidie (B)** : c'est une spore de petite taille ($3-5 \times 10-15 \mu\text{m}$), ovoïde à ellipsoïde, unicellulaire.
- **La macroconidie(A)** : c'est une spore de grande taille ($5-10 \times 25-35 \mu\text{m}$). en forme de fuseau, cloisonnée transversalement.

- **Le chlamydospore(C)** : c'est une spore de résistance, entourée d'une paroi épaisse. Elle est sphérique ou ovoïde (6 x 30µm)(Leslie et Summerell, 2006).

Tableau 1 : Les plantes hôtes de *Fusarium vasculaire*(Kaci ,2015).

| Plant hôte | Agent causal | Référence |
|-----------------|--|------------------------|
| Palmier dattier | <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (Foa) | (Lepoivre, 2003). |
| la tomate | <i>Fusarium oxysporum lycopersici</i> (Fol) | (Abdallah, Kaci ,2015) |
| Le blé | <i>Fusarium graminearum</i> Schwabe | (Abdallah, Kaci ,2015) |



Figure 11 : Plantes hôte de Fusariose vasculaire(Kaci,2015).

Symptômes de *F.oxysporum*

Les symptômes causés par *F.oxysporum* :

- Feuilles et stipules frisées vers le bas.

- Epaississement d'entre nœuds basaux.
- Feuilles et tiges devenant plus fragiles.
- Jaunissement progressif et nécrose des feuilles.
- Mort des feuilles de base et mort des plantes.
- Décoloration des racines en jaune à orange (Abdallah, Kaci ,2015 ; Biddle et Cattlin, 2007).

CHAPITRE II :
MARERIEL ET METHODES

Cette partie de matériel et méthodes est une description de la méthodologie de travail de notre objectif : étude de l'action de *Pseudomonas* fluorescent sur *Arabidopsis thaliana* décrite par plusieurs auteurs (Tableau 2).

Tableaux 2 : Les références de partie matériel et méthodes ; résultat et discussion.

| Matériel et méthode | |
|---|---|
| Le travail | Référence |
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ Microorganismes..... ✓ Essais d'antagonisme <ul style="list-style-type: none"> • Antagonisme in vitro • Antagonisme in situ | <p>Boukerma, 2012 . Benchabane et al, 2013 (Boukerma, 2017. Kendrick et Snyder, 1942) Diener et Ausubel, 2005). Benhasna, 2017.</p> <p>Benyoub 2011. Becker et Cook 1988. Boukarma ,2012. Benchabane et al., 2013.</p> <p>Boukerma, 2012 . Benchabane et al, 2013 Boukerma, 2017.</p> |
| Résultat et discussion | |
| Travail | Référence |
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ Antagonisme in vitro | <p>Mezaache, 2012 . Benzina Tihar et al ,2020. Boukarma ,2012 . Rabhi, 2011. Djellout et al., 2019.</p> |

| | |
|------------------------------|--|
| <p>✓ Antagonisme in situ</p> | <p>Benhacene et al , 2016 . Houfah, Amour, 2020. Cherif ,2014 . Defago, 1993 . de Souza et al., 2003. Haas et Defago 2005. Persello-cartieaux et al 2003). Whippes, 2001.</p> <p>Schipper et al ; 1995. Gamalero et al ; 2002. Charif, 2014. Lam et al ; 1992. Lemanceau et al ; 1988. Yala et al ; 2017. Satrani et al ; 2008 . Kapulnik et al ; 1995. Frey-Klett et al ; 1999. Bending et al ;2002. Gamalero et al ; 2003. Chanway et al ; 1991. Kidri ,2011 . Mezaache ,2012 .</p> |
|------------------------------|--|

1 .Microorganismes

Les souches de *Pseudomonas fluorescens* (PF12 et PF15) utilisées dans cette expérimentation ont été isolées de la rhizosphère de la tomate. Ces souches ont montré leurs aptitudes à produire des métabolites secondaires (Boukerma, 2012 ;Benchabane et al, 2013 ; Boukerma, 2017).

La souche fongique utilisée pour les essais d'antagonisme *in situ* est *Fusarium oxysporum* f. sp. *matthioli* (**FOM**). Cette forme est responsable du flétrissement vasculaire d'*Arabidopsis thaliana*. La fusariose d'*A. Thaliana* est un pathosystème idéal pour étudier l'interaction plante pathogène (résistance/ sensibilité) (Kendrick et Snyder, 1942 ; Diener et Ausubel, 2005).



Figure12 : Aspect macroscopique de *Pseudomonas fluorescens* sur milieu King B (Benhasna, 2017).

1. Essais d'antagonisme

La finalité des essais a été de tester la capacité des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le contrôle biologique d'un champignon tellurique, *Fusarium*

oxysporum, responsable des fusarioses vasculaires. A cet effet, il a été réalisé des essais d'antagonisme *in vitro* et *in situ*.

1.1. Antagonisme *in vitro*

Le pouvoir antagoniste des souches de *Pseudomonas* a été testé par l'inhibition de la croissance mycélienne de la souche FOM en milieux de culture solides. La pureté des microorganismes utilisés a été vérifiée après repiquage sur milieu gélosé PDA et King B (Tableau 3).

Tableaux 3 : Les compositions de milieu King B et milieu PDA (Benyoub 2011).

| Milieu king B | Milieu PDA |
|--|---------------------|
| Peptone dite "B" 20,0g | Agar 1,5 g/l |
| Glycérol 10,0ml | Dextrose 20g /l |
| Hydrogénophosphate de potassium 1,5g | Potato extract 4g/l |
| Sulfate de magnésium heptahydraté 1,5g | Ph 5,6. |
| Agar 12,0g | |
| Eau distillée qsp 1000ml | |
| PH 7,2 . | |

Les tests d'antagonisme ont été réalisés sur les milieux de culture KB, PDA et KB+ PDA (Annexe 1) selon la méthode de Becker et Cook (1988). Des disques (5mm de diamètre) de papier whatman, tapissés d'une crème bactérienne d'une culture de 24 heures en milieu solide, ont été déposés à la périphérie de la boîte Pétri contenant le milieu de culture. Après 24 heures d'incubation à 25°C, une pastille « milieu solide » de 5 mm de diamètre de l'isolat fongique pathogène a été déposée au centre de la boîte. La lecture portant sur l'existence ou l'absence d'une activité antagoniste a été faite après 8 jours d'incubation à 25°C, la comparaison a été faite avec des cultures témoins ne contenant que l'agent fongique. La croissance mycélienne a été estimée par la mesure du diamètre moyen de croissance fongique (Becker et Cook 1988).

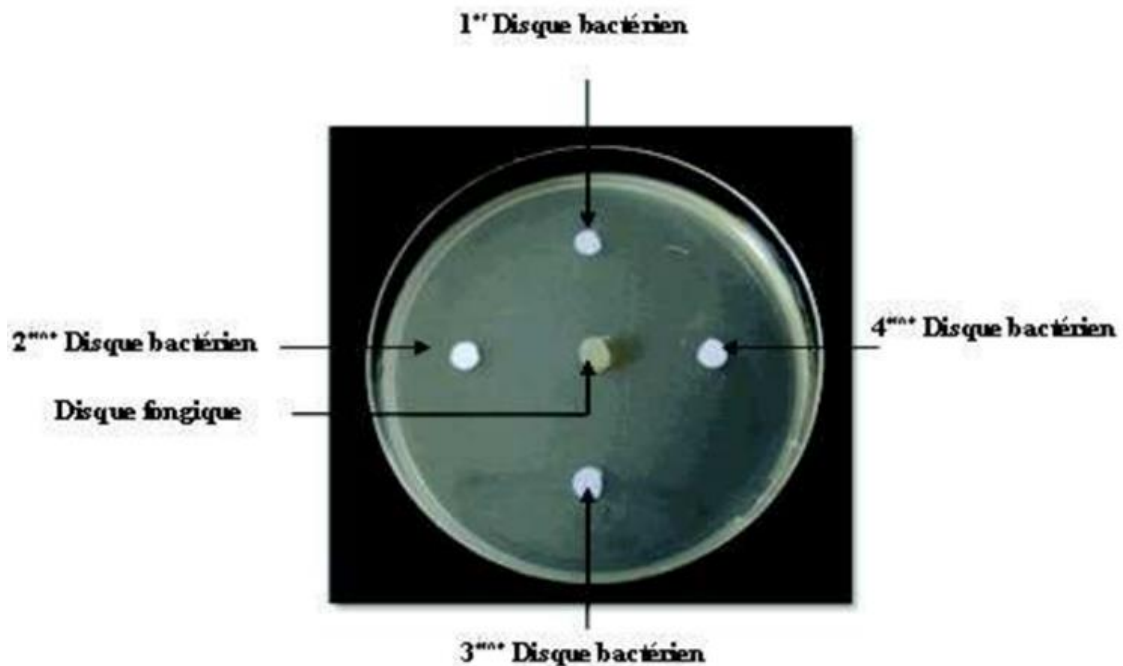


Figure13 : Antagonisme *in vitro* (Boukarma, 2012)

1.2. Antagonisme *in situ*

Les semences d'*Arabidopsis thaliana* ont été désinfectées à l'aide de l'eau javellisée (6° à 20° min) ensuite elles ont été rincées à l'eau distillée stérile et mises à sécher avant d'être semées dans des pots contenant le substrat stérilisé (sol + tourbe). Les pots ensemencés ont été déposés sous serre en verre et arrosés quotidiennement avec de l'eau. Après une semaine, les plantules ont été bactérisées en versant autour des racines la suspension bactérienne de *Pseudomonas* (10^7 ufc/g de substrat). Les suspensions bactériennes ont été préparées dans une solution tampon ($MgSO_4$, pH 7) à partir d'une culture de 24 heures sur milieu KB. (Benchabane et al., 2013).

Les suspensions conidiennes de *Fusarium oxysporum* ont été préparées à partir de culture fongiques âgées de 8 jours sur milieu PDA dans le tampon ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, pH 7). L'isolat fongique a été inoculé 24 h après la bactérisation, au même site et à la concentration finale de 10^7 conidies/g de substrat (Boukarma, 2012 ; Benchabane et al., 2013 ; Boukarma, 2017).

L'essai d'antagonisme *in situ* comprend un dispositif expérimental en quatre blocs aléatoires complet. Chaque traitement comprend 40 plants, soit 10 plants par bloc.

Cinq traitements ont été définis

T1 : *Pseudomonas fluorescens* PF12

T2 : *Pseudomonas fluorescens* PF15

T3 : *Pseudomonas fluorescens* PF12+FOM

T4 : *Pseudomonas fluorescens* PF15+FOM (Benchabane et al, 2013).

Témoin : traité avec l'eau.

2. Paramètres analysés

2.1. Evaluation de la maladie

Les observations des symptômes et du développement de la fusariose vasculaire d'*Arabidopsis thaliana* ont été effectuées à partir du 3^{ème} jour de l'infestation par l'agent fongique), Selon la symptomatologie typique du flétrissement fusarien.

Nous avons adopté une échelle de symptomatologie typique la maladie :

- 0 : Pas de symptôme.
- 1 Jaunissement partiel.
- 2 Flétrissement basal.
- 3 Flétrissement général.
- 4 Mort du plant (figure14), (Benchabane et al, 2013).

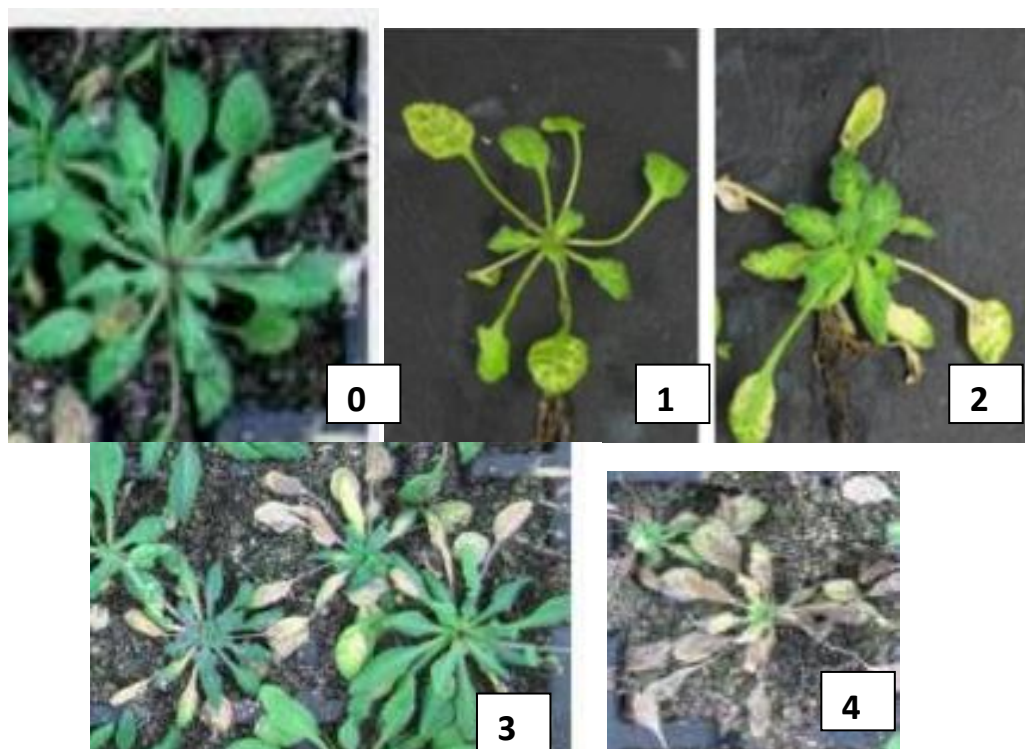


Figure14 : Symptomatologie de la fusariose vasculaire d'*Arabidopsis thaliana* (Benchabane et al, 2013)

Le suivi de l'évolution de la maladie est basé sur deux paramètres : le nombre de plants malades représente le taux d'infection et la gravité de la maladie est appréciée à travers la sévérité des symptômes. Pour les deux affections fongiques, le plant a été considéré comme malade dès l'apparition des symptômes de niveau 1. Le taux d'infection (I %) et la sévérité (S%) de la maladie ont été calculés comme suit :

$$I(\%) = (\text{Totale de plant malades} / \text{Totale de plant observé}) \times 100.$$

$$S(\%) = [\sum(E-a) / N.T \times 100]$$

N : nombre totale de plants observés

T : valeur du niveau le plus élevé.

E : niveau de symptômes.

A : nombre de plants malades pour chaque niveau de symptomatologie.(Benchabane et al, 2013)

2.2.Paramètre de croissance

A la fin de l'expérimentation, des paramètres de croissance ont été analysés afin d'évaluer l'effet phytostimulateur des *Pseudomonas* appliqués, (Benchabane et al, 2013.Boukarma ,2012).

Les parties aériennes des plants ont été coupées à partir du collet, la hauteur des plants (du collet à l'apex), le poids frais des (tige+feuilles). Les racines sont secouées et lavées pour les débarrasser du substrat y'adhérant, étalées soigneusement et leurs longueurs sont mesurées à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à l'extrémité du chevelu racinaire. Ensuite, le poids frais a été déterminé pour chaque plant. La matière sèche de la biomasse aérienne et racinaire a été estimée à l'étuve à 75 °C jusqu'à ce que le poids se stabilise.(Benchabane et al, 2013.Boukarma ,2012)

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), peuvent améliorer la performance et la tolérance des plantes lors de stress environnementaux (Jourdan et al, 2008). L'intérêt du contrôle biologique des phytopathogènes a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies (Chaudhary et Johria, 2009). Les *Pseudomonas* peuvent réduire le pouvoir virulent des pathogènes, en activant les mécanismes de défense et/ou de l'inhibant directement (production d'antibiotique). Les actions de biocontrôle et d'induction de résistance systémique sont très complexes et sont régulées par plusieurs processus au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel (Haas et Défago, 2005).

1. ANTAGONISME *IN VITRO*

Selon l'expérimentation de Mezaache, 2012 (Tableau 4), la croissance mycélienne enregistrée chez les témoins est nettement supérieure à celle des interactions *Pseudomonas*/pathogène *Fusarium oxysporum lycopersici* (**Fol**), *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (**Foa**), *Fusarium solanivar. coeruleum* (**Fsc**), *Pythium ultimum* (**Pu**) et *Phytophthora infestans* (**Pi**) et *Rhizoctonia solani* (**Rs**).

Tableau 4: Pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne en culture solide.

| <i>Pseudomonas</i> avec culture mycélienne | Fsc | Fo | Foa | Fol | Pi | Pu | Rs |
|---|-------|-------|-------|-----|-------|-------|------|
| Taux d'inhibition (%) de culture mycélienne | 52,85 | 70,58 | 41,17 | 75 | 55,29 | 55,56 | 62,5 |

L'action de l'antagonisme dépend du milieu de culture et est indépendant de l'agent pathogène. Cette variabilité dans l'expression de l'activité antagoniste de *Pseudomonas* suggère une diversité dans les mécanismes impliqués dans le biocontrôle (Haas et Défago, 2005).

Selon Benzina Tihar et al, 2020. Après 5 jours d'incubation des *Pseudomonas* fluorescents avec *Verticillium dahliae* (Figure); la souche T27 a montré un taux d'inhibition important de 47,9 %, suivi de la souche T49 avec un taux de 45,3 %. Les souches T23 et T33 viennent en deuxième position avec des taux d'inhibition de 32,3 et 30,8 % respectivement. La souche T34 a montré le taux d'inhibition le plus faible (25,58 %). La souche de référence CHA0 a montré un taux d'inhibition de 28 %. La zone d'inhibition montre la capacité

des *Pseudomonas* spp. fluorescents d'inhiber le champignon phytopathogène *Verticillium dahliae*

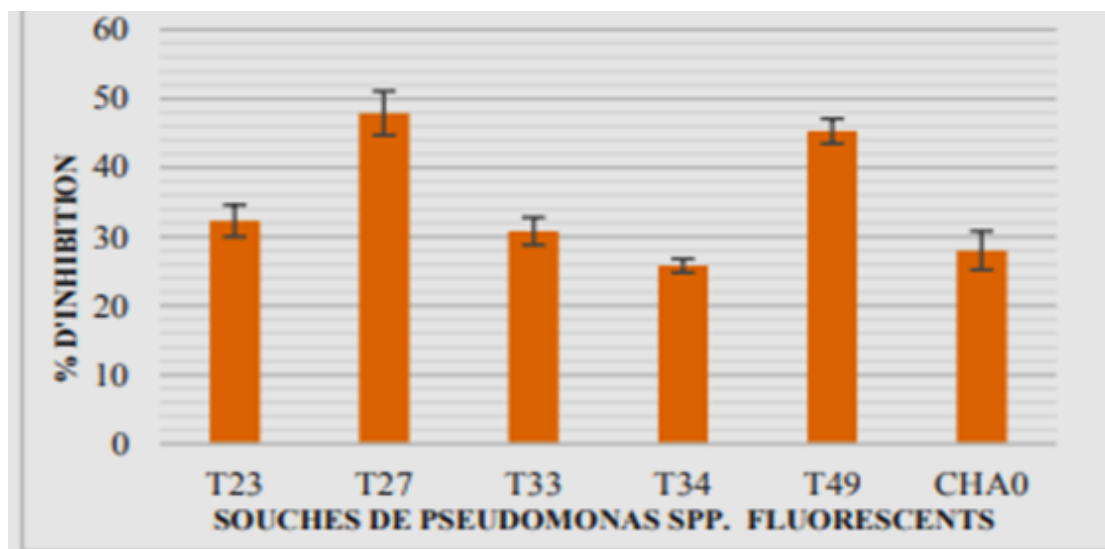


Figure15 : Effet des *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* (Benzina Tihar et al ,2020).

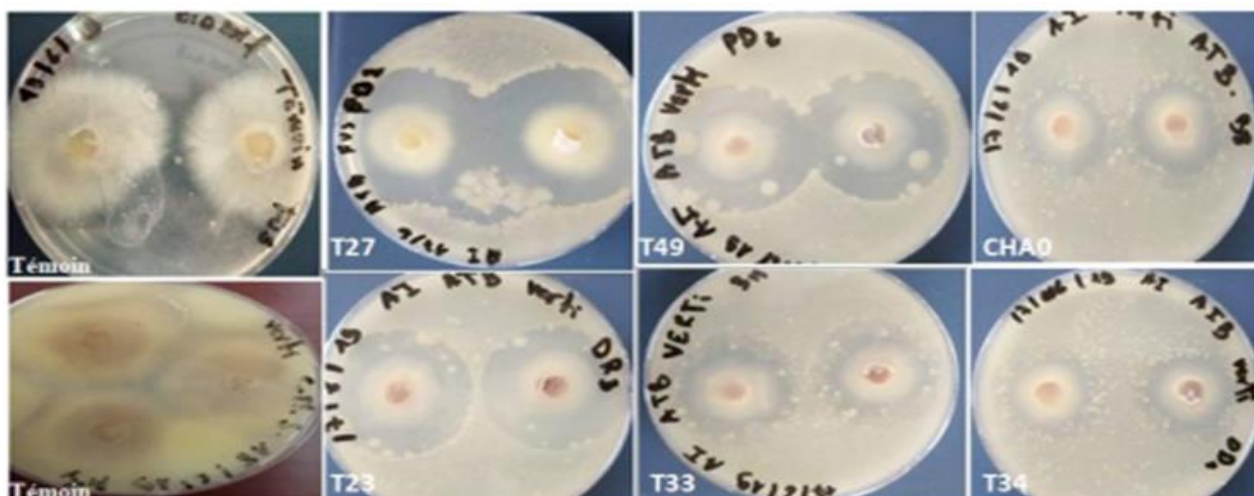


Figure16 : Inhibition des cultures de *Verticillium .dahliae* par *Pseudomonas* fluorescents (Benzina Tihar et al ,2020).

D'après BOUKERMA 2012, l'effet d'antagonisme de *Pseudomonas* testé a été évalué par la réduction de diamètre de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* .f.sp .*lycopersici* (Tableau 5). Le résultat des essais préliminaires a montré une activité inhibitrice appréciable

et variable selon les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et selon les milieux de culture (King B ou PDA).

Tableau 5: activité d'antagonisme de *Pseudomonas* spp et *Fusarium* spp

| Milieu | Diamètre de la croissance (cm) | | | Taux d'inhibition de FOL % | |
|------------|--------------------------------|------------------|-------------------|----------------------------|-------|
| | Témoin | C7R12 | DS131 | C7R12 | DS131 |
| King B | 7,67±0,29 (ab) | 3,14±0,15 (e) | 6,83±0,8 (cd) | 46,15 | 10,95 |
| PDA | 7,30±0,22 (bc) | 4,23±0,21 | 7,27±0,19 (bc) | 10,46 | 0,41 |
| PDA+King B | 8,00 ±00 (a) | 4,23±0,21 (e) | 8,00±00 (a) | 47,16 | 0 |

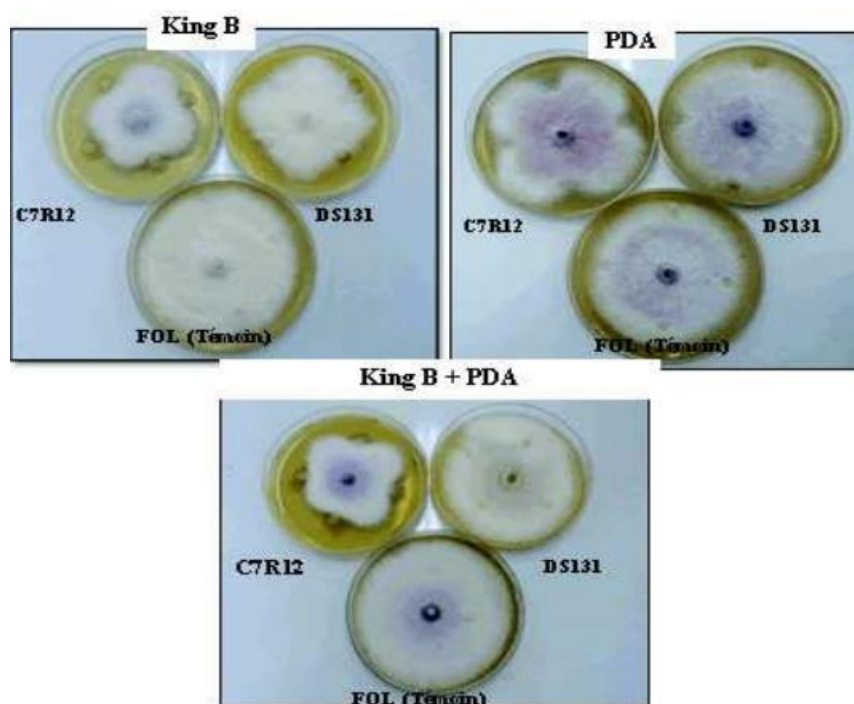


Figure17 : Antagonisme *in vitro* entre *Pseudomonas* fluorescentes et *Fusarium* (Boukerma 2012).

L'évaluation de l'antagonisme a permis d'estimer le potentiel inhibiteur des souches C7R12 et DS131 de *Pseudomonas* fluorescents vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* (Figure). L'action inhibitrice est variable selon la souche antagoniste et la nature du milieu, la C7R12

a réduit fortement la croissance mycélienne de FOL sur le milieu King B et le milieu mixte (46,15% et 47,13%). Un faible taux a été remarqué sur le milieu PDA, mais la souche DS131 n'a été significative que sur le milieu King B (10,95%).

Selon Rabhi, 2011, en présence de souches antagonistes de *Pseudomonas* fluorescents, le diamètre des colonies mycéliennes de *F. oxysporum* a été réduit fortement, comparé au témoin. Les souches de *Pseudomonas* ont révélé aussi une activité inhibitrice envers *Alternaria alternata* comparée à celle observée envers *F. oxysporium* (figure 18).

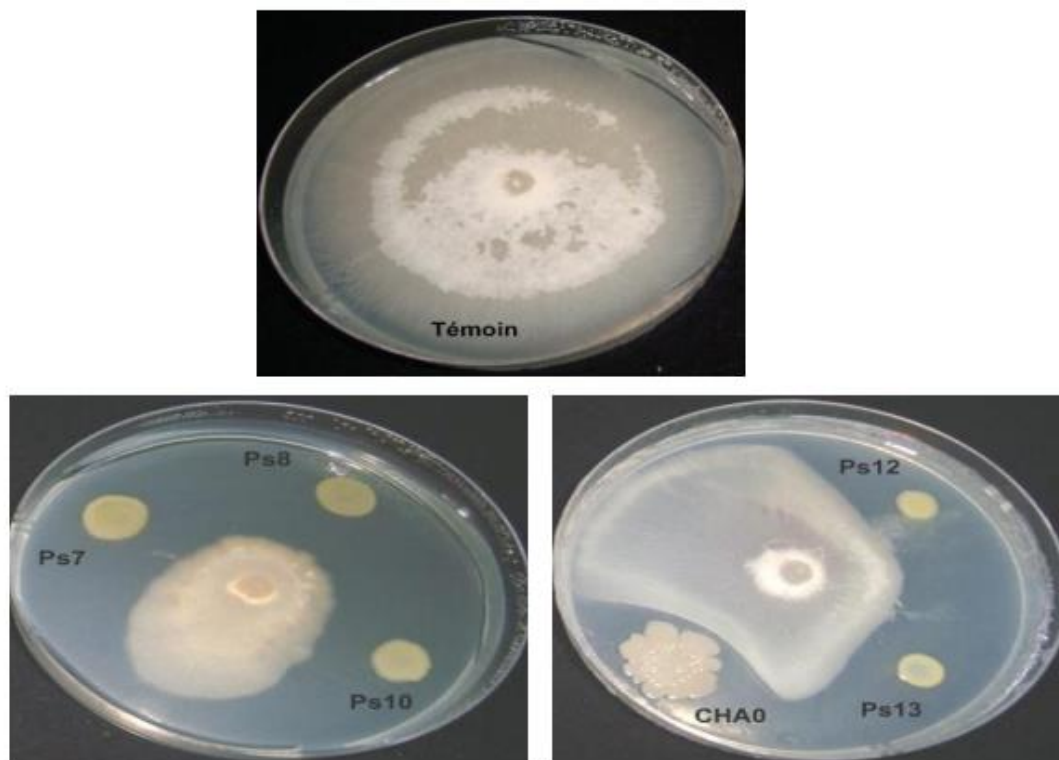


Figure 18 : Activité antagoniste de quelques souches de *Pseudomonas* (Rabhi, 2011)

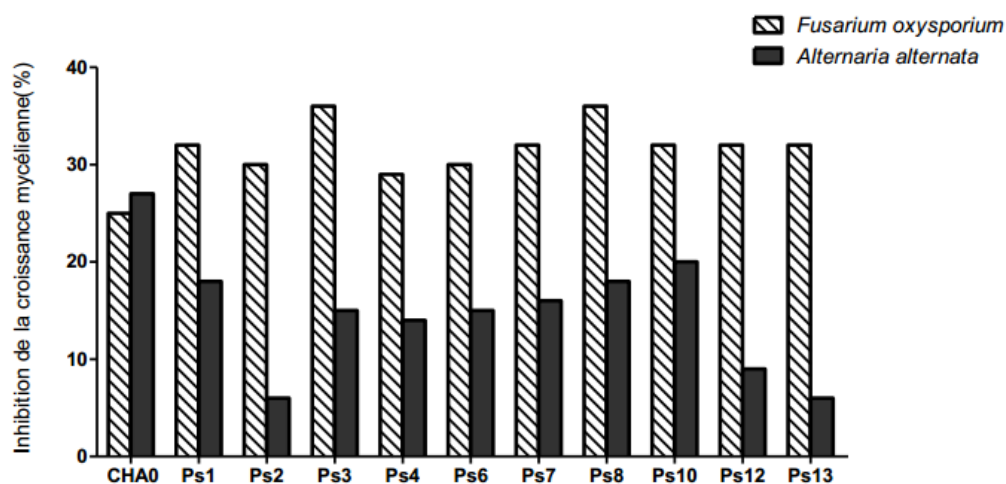


Figure19: Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des colonies de *F.oxysporum* et de *Alternaria alternata* en présence des souches de *Pseudomonas fluorescens* (Rabhi, 2011).

L'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme sur la virulence de l'agent phytopathogène (Djellout et al., 2019). Le fer est l'un des micronutriments les plus importants pour la croissance microbienne dans divers environnements (Benhacene et al., 2016). Les PGPRs utilisent les sidérophores exogènes pour combler leur besoin en fer. Les sidérophores sont principalement spécifiques du fer, ils peuvent aussi complexer d'autres métaux lourds toxiques tel que Al, Cd, Pb et Zn, ils contribuent à la production des pesticides et des agents de bio contrôle et favorisent la solubilisation des phosphates et l'amélioration de la fixation d'azote (Houfah, Amour, 2020).

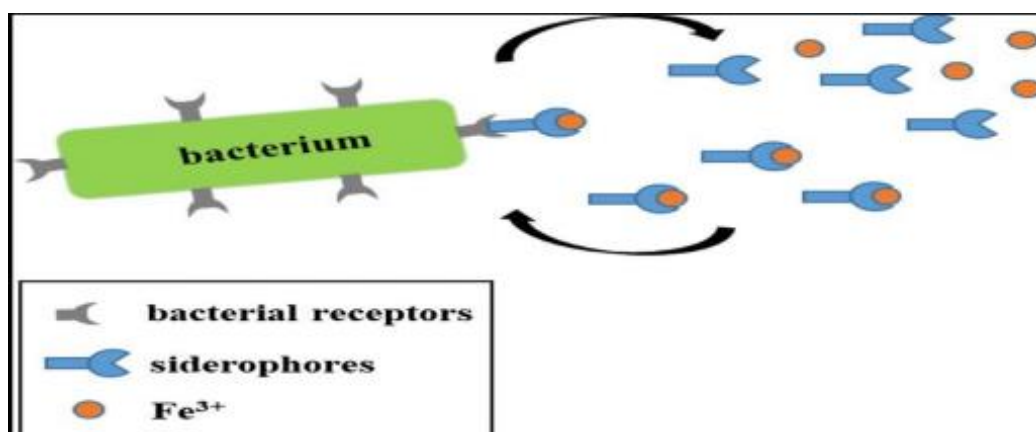


Figure 20: Production de sidérophores et assimilation de fer (Cherif, 2014).

Les PGPRs antagonistes empêchent le développement des agents pathogènes par l'inhibition de leur germination et/ou leur sporulation (BOUKARMA, 2012). L'antibiose

consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants impliquées dans le biocontrôle, par exemple l'acide cyanhydrique (HCN), la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones, les tensines et les tropolones (Defago, 1993 ; de Souza et al., 2003; Haas et Defago 2005). Certaines souches de PGPRs ont la capacité à dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels β -1,3-glucanase, exo-et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001).

Le milieu King B est considéré comme sélectif pour les *Pseudomonas spp.* fluorescents ; aussi ces bactéries peuvent exprimer leur potentialités sur milieu PDA (la présence de substances antimicrobiennes varie considérablement avec le milieu) et l'âge de la culture (plus importante à 72 h qu'à 24). (Benzina Tihar et al ,2020 ; Mezaache ,2012). L'activité antagonisme des *Pseudomonas* implique la production de la pyoverdine ; le milieu King B c'est un milieu carencé en fer, favorise la synthèse de la pyoverdine par les *Pseudomonas* fluorescents afin de chélater les ions ferriques (Boukarma, 2012), qui provoque la diminution de croissance des agents pathogènes (Persello-cartieaux et al 2003). Whippes, 2001).

2. Essais *in situ* :

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents font l'objet d'une attention particulière. L'inoculation des plantes par certaines souches de *Pseudomonas spp* s'accompagne en effet d'une augmentation significative du rendement de la culture, réduction de la symptomatologie et la stimulation de la croissance des plantes et de leur protection contre des microorganismes pathogènes (Schipper et al., 1995 ; Gamalero et al., 2002).

2.1. Taux d'infection

Selon Yala et al., 2020, l'évolution du taux d'infection de la fusariose vasculaire chez le pois, montre une réduction de la maladie chez les traitements bactérisés, avec les deux souches *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21, par rapport aux témoins positifs. Il a été enregistré un taux de **100%** au bout du 25^{ème} jour, alors qu'en interaction avec la souche BB10 l'évolution est plus lente et atteint les **100%** qu'au 31^{ème} jour. Avec la souche F21, qui montre une meilleure performance antagoniste par rapport à la souche BB10, il a été constaté un taux de **84,02%** au 31^{ème} jour.

Les PGPR produisent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes en présence d'un pathogène. Ces modes d'action indirects sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et à la détoxification du milieu (Charif, 2014). La production d'enzyme mycolitique est également évoquée pour expliquer l'action d'antagonisme de *Pseudomonas fluorescens*, la chitinase et laminarinase peuvent être responsable de l'antagonisme *in vitro* (Lam et al 1992).

Les *Pseudomonas*, principalement les souches de l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires dans certains champs, et d'inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes «*in-vitro*». Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites antagonistes et de sidérophores (Lemanceau et al., 1988).

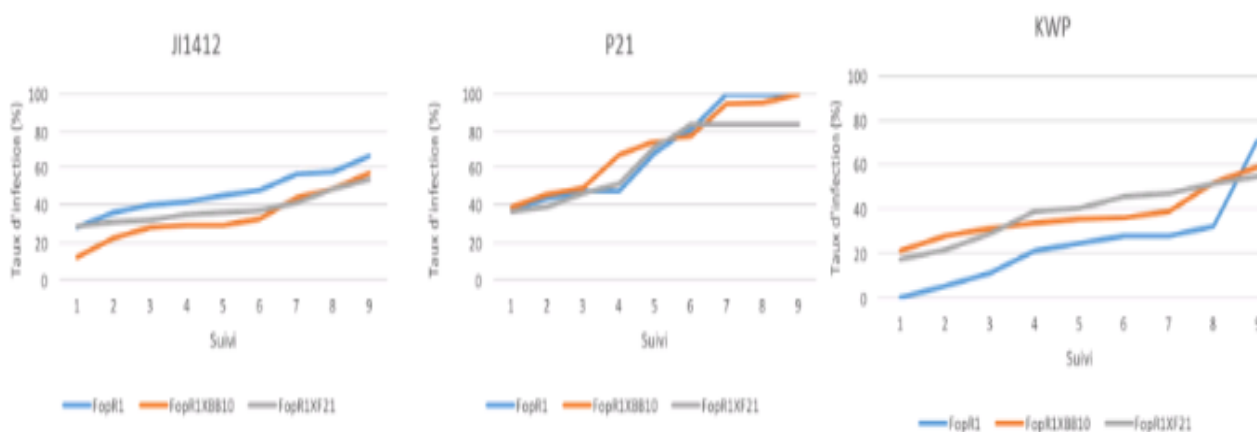


Figure 21 : taux d'infection (%) de la souche FopR1 des genotypes étudiés chez les traitements bactériés et non bactériés (Yala et al 2017),

2.2. Sévérité de la maladie

D'après les résultats obtenus par Yala et al (2017), il existe une correspondance entre les taux d'infection et les sévérités. Il a été constaté que la bactérisation des trois génotypes de pois avec les deux souches bactériennes *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 en interaction avec l'agent pathogène a engendré l'inhibition de la sévérité de la fusariose, en comparaison avec les témoins respectifs. Chez les témoins malades, les niveaux vont de 1 à 2 dès les premières observations, leur évolution est souvent plus dynamique, atteignant des valeurs supérieures à 2 et atteint même le niveau 5 au jour 31. L'application de la bactérisation,

à base de la souche BB10 ou F21, a permis de constater qu'il y'a des symptômes préliminaires de niveaux 1 à 2 ne dépassant pas le niveau 3 même au 31ème jour.



Figure 22 : sévérité des symptômes des génotypes étudiés avec la souche FopR1 (Yala et al 2017),

2.3. Stimulation Croissance

D'après Satrani et al 2008 cinq souches rhizobactériennes ont été testées pour leur effet sur la croissance des plants avant transplantation sur le terrain. Les résultats obtenus ont montré un effet significatif des souches bactériennes sur la croissance végétale. *Pseudomonas fluorescens* A6RI et TGI252 ont stimulé significativement la longueur de la tige, le diamètre au collet, le poids sec des racines et le nombre de racines courtes. Cela nous permettra d'envisager la mise au point de cette technique pour la production de plants de qualité.

Les plants inoculés avec la souche bactérienne *P. fluorescens* A6RI et *P. fluorescens* TGI252 (Tableau 6) ont montré une augmentation hautement significative du diamètre au collet, la longueur de la tige des plantes, le poids sec des racines, la croissance en longueur des plants, le nombre de racines courtes. L'élévation de la biomasse racinaire est étroitement corrélée à l'augmentation de la biomasse de la partie aérienne chez les plants avec des taux respectifs entre 26% et 58% par rapport aux témoins.

Tableau 6 : moyennes du diamètre au collet, de longueur de la tige, de la longueur de la tige, du nombre de racines courtes et de poids sec racinaires des plantes (Satrani et al 2008).

| Paramètres | TGI252 | A6RI | Témoin |
|--------------------------|--------|-------|--------|
| Diamètre de collet (mm) | 1.84 | 1.68 | 1.34 |
| Longueur de la tige (cm) | 9.70 | 9.53 | 8.03 |
| Nombre de | 60.40 | 48.56 | 32.52 |

| | | | |
|-------------------------------|------|------|------|
| racine courte | | | |
| Poids sec racinaire (g) | 0.22 | 0.24 | 0.16 |

Les effets antagonistes vis-à-vis de la croissance des plants a été déjà expliqué par des phénomènes de compétition nutritive quand la densité bactérienne est élevée (Kapulnik et al., 1995 ; Frey-Klett et al., 1999 ; Bending et al., 2002). Pourtant, ces deux bactéries ont été décrites respectivement par Gamalero et al. (2003) et Chanway et al. (1991) comme étant productrices d'AIA et capables de promouvoir la croissance des plantes. Ceci laisse supposer que dans nos conditions expérimentales, il y avait soit un problème de spécificité ou une mauvaise colonisation racinaire par ces deux souches.

Selon l'expérimentation de Mezaache 2012, l'induction de la stimulation de la croissance, par bactérisation des tubercules a été plus marquante dans un sol non stérilisé, en comparaison avec le témoin non traité. En effet, les plantes ont mieux poussées dans un sol non stérile, où il a été remarqué que la stimulation la plus élevée est obtenue avec *Pseudomonas fluorescens* 2 suivit de près par *Pseudomonas fluorescens* 5. Alors que dans le sol non stérile on a uniquement observé un ralentissement de croissance des plantes traitées avec les souche 10 et 12 . D'autre part, les souches ayant stimulé la croissance des plants dans un sol naturel, n'ont pas eu d'effet significatif dans un sol stérile.

Les souches 10 et 12 ont ralenti la croissance des plants dans un sol naturel, mais ont engendrés de nombreux dommages aux plantes dans le sol stérilisé, après trois semaines d'inoculation. En poursuivant l'expérience dans le sol naturel pendant 5 semaines supplémentaires, tous les plants inoculés avec les souches 10 et 12 ont montré un niveau de symptomatologie d'ordre 4, à quelques jours d'intervalle . Alors, que les plants inoculés avec les isolats 2 et 5 n'ont montré aucun signe et les plants étaient plus grands que le témoin non bactérisé.



Figure 23: effet de la bactérisation sur la croissance des plantes , après 3 semaine d'incubationn .

A : dans un sol non stérilisé, **T** : témoin, p2 ...p12 : isolats de pseudomonas utilisés pour la bactérisation .

B : dans un sol stérilisé, **T** : témoin, p2...p12 : isolats de pseudmonas utilisés pour la bactérisation (Mezaache 2012).

Selon l'expérimentation de Benchabane ,2005 quatre souches de *Pseudomonas* (B3, P6, T9 et SN1) ont été utilisées dans les essais de promotion de la croissance végétale. Ces souches ont été retenues sur la base de leur biotope d'origine et leur production de métabolites secondaires, qui pourraient jouer un rôle dans la biostimulation , notamment l'AIA, l'HCN et les phosphatases. Les souches de *Pseudomonas* fluorescents ont influencé le taux de levée finale **100%** pour les tubercules bactérisés et de **83,33 %** pour le témoin. La cinétique de levée des plants bactérisés a été globalement plus rapide que celle des témoins pour toutes les souches testées. Le même constat a été fait concernant les poids frais des tubercules et de la partie aérienne. Sur le plan de la cinétique, des différences ont été observées entre les plants bactérisés, plus performants, et le témoin, principalement aux 3 et 6ème jour après la plantation. La comparaison des cinétiques de levée des trois essais a montré, globalement, une allure plus accélérée pour les essais (B) et (C) par rapport à l'essai (A).

Tableau 7: Effet de la bactérisation sur les paramètres de croissance du blé gains (%) obtenus par rapport aux témoins non bactérisés.

| Souches | Longueur Cotylédonaire (cm) | Longueur Foliaire (cm) | Hauteur tige (cm) | Poids frais Aérien (g) | Poids sec Aérien (g) | Poids frais racines (g) |
|---------|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| P6 | 12.19a (22.51)a | 36.53a (18.03)a | 13.88 (34.63) | 3.28a (26.64)a | 0.67a (28.85)a | 1.98a (94.12)a |
| B3 | 11.83a (18.89)a | 35.54a (14.83)a | 13.48a (30.75)a | 3.26a (25.87)a | 0.67a (28.85)a | 1.53b (50.00)b |
| T9 | 12.18a (22.41)a | 37.61a (21.52)a | 13.72a (33.07)a | 3.2a (24.32)a | 0.62a (19.23) | 1.54b (50.98)b |
| SN1 | 11.71a (17.69)a | 33.71a (8.92)b | 13.51a (31.04)a | 2.86b (10.42)b | 0.62a (19.23)b | 1.03c (0.98)c |
| Témoin | 9.95b | 30.95b | 10.31b | 2.59b | 0.52b | 1.02c |

D'après Kidri ,2011 ,Les 25 souches de *Pseudomonas fluorescens* ont un effet stimulateur de croissance sur les radicules (sur la longueur des radicules) de 29,8 (la souche BRS988 et FKF771)% à 142%(la souche FKS 668 et FKP 449) par rapport au témoin . Les souches *Pseudomonas* peuvent accélérer la germination des graines par rapport au grain témoin et la longueur de tiges .



Figure 24: stimulation de souches *Pseudomonas* sur la germination des graines

A :témoin ; B :stimulation de croissance ,plantule stimulée(Kidri ,2011).

CONCLUSION

Conclusion

Le contrôle biologique des maladies des plantes par l'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère a été proposé comme une alternative à l'utilisation des substances chimiques.

Les bactéries de la rhizosphère regroupées sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) principalement les *Pseudomonas* spp. fluorescents, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires. Elles influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (voie directe) et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (voie indirecte). Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent intervenir dans l'induction de la résistance systématique de plante (IRS) (Benchabane 2005).

Les souches de *Pseudomonas* fluorescents pourraient trouver leurs places dans les applications biotechnologiques visant une amélioration des rendements et la préservation de l'environnement pour un développement durable. De nombreux travaux ont pu mettre en évidence des souches modèles, toutefois il faut garantir la stabilité et la reproductibilité des effets bénéfiques de ces rhizobactéries à l'échelle de pratiques agronomiques. Et bien que des biopesticides à base de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sont déjà commercialisés en Europe et en Amérique, leur application à grande échelle n'est pas encore concrétisée. Les difficultés de formulation et d'utilisation, ainsi que des problèmes relatifs à la manutention et principalement le coût de ces microorganismes sont parmi les obstacles ayant retardé leur vulgarisation.

Parmi les isolats des souches de *Pseudomonas* fluorescents, ont montré un pouvoir antagoniste, *in vitro*, vis-à-vis de bactéries et de phytopathogènes fongiques. Ces isolats, se sont en effet révélés producteurs de métabolites secondaires (sidérophores, HCN, phosphatases, acide salicylique, AIA,). Ces composés jouent un rôle dans l'antagonisme et aussi dans la biostimulation végétale par l'induction de l'ISR.

Dans l'antagonisme, *in vitro*, des souches bénéfiques œuvre dans une perspective de mécanismes d'inhibition des pathogènes, l'antagonisme ceci est dû que l'expression de l'antagonisme est variable selon les milieux de culture et les pathogènes ciblés. Les essais *in situ* conduits dans un sol naturel, ont montré que les isolats sélectionnés protégeaient, de manière évidente et à des degrés variables, la plante bactérisée contre le flétrissement

fusarien. Cette protection se traduit par la capacité de promouvoir la croissance végétale, la réduction du taux et les symptômes de la maladie et en stimulant la levée.

RESUME

Résumé

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR). Ces bactéries peuvent améliorer la performance et la tolérance des plantes lors de stress environnementaux. *Arabidopsis thaliana* est un modèle de choix pour étudier les mécanismes impliqués dans les interactions plante-bactéries et d'évaluer l'effet phytostimulateur des rhizobactéries.

Des études et des expériences ont été faites sur l'interaction de *Pseudomonas fluorescens*-plante et de *Pseudomonas fluorescens*-plante- pathogène ; les résultats ont montré des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des agents fongiques et des pourcentages de stimulation de la croissance végétale de différentes parties de la plante. Selon d'autres expérimentations, les chercheurs ont montré que certaines souches de *Pseudomonas* testé ne présentent pas un effet d'inhibition et de réduction de l'agent pathogène et même de stimulation de la croissance végétal.

Les souches de *Pseudomonas* fluorescents ont un effet sur l'inhibition de la croissance de l'agent pathogène, cette inhibition est basée sur la réduction du diamètre de croissance mycélienne comparée avec le témoin. La stimulation de la croissance végétale par les souches de *Pseudomonas* fluorescents enregistrée est entre 26% et 58% (le diamètre de collet, la longueur de tige, le poids racinaire).

Abstract

Fluorescent *Pseudomonas* are bacteria that promote plant growth (PGPR). These bacteria can improve the performance and tolerance of plants under environmental stress. *Arabidopsis thaliana* is a model of choice to study the mechanisms involved in plant-bacteria interactions and to assess the phytostimulatory effect of rhizobacteria.

Studies and experiments have been done on the interaction of *Pseudomonas fluorescens*-plant and *Pseudomonas fluorescens*-plant-pathogen; the results showed rates of mycelial growth inhibition of fungal agents and percentages of plant growth stimulation of different parts of the plant. According to other experiments, the researchers have shown that some strains of *Pseudomonas* tested do not exhibit an effect of inhibiting and reducing the pathogen and even stimulating plant growth.

Fluorescent *Pseudomonas* strains have an effect on inhibiting the growth of the pathogen, this inhibition is based on the reduction in the diameter of mycelial growth compared with the control. Stimulation of plant growth by fluorescent *Pseudomonas* strains recorded is between 26% and 58% (collar diameter, stem length, root weight).

ملخص

يمكن لهذه البكتيريا تحسين أداء وتحمل النباتات تحت الضغط البيئي (PGPR) الفلورية هيكتيريا تعزز نمو النبات *Pseudomonas*.

Arabidopsis thaliana

هو نموذج مفضل لدراسة الآليات المشاركة في تفاعلات البكتيريا النباتية ولتقييم تأثير تحفيز النبات للبكتيريا الجذرية.

Pseudomonas fluorescens-plant و *Pseudomonas fluorescens*-plant- pathogen

؛ أظهرت النتائج معدلات تنشيط نمو الفطريات الفطرية ونسب تحفيز نمو النبات لأجزاء مختلفة من النبات.

Pseudomonas وفقاً لتجار بأخرى، أظهر الباحثون أن بعض سلالات

النتيجة اختبارها لا تظهر تأثيراً في تنشيط وتقليل نمو العامل الممرض حتى تحفيز نمو النبات.

Pseudomonas سلالات

الفلورية لها تأثير على تنشيط نمو العامل الممرض، ويستند هذا التنشيط على تقليل قطر نمو الفطريات بمقارنةً بالتحكم.

(الفلورية بين 26% و 58% قطر التاج، طول الساق، وزن الجذر *Pseudomonas* تمت تسجيل تحفيز نمو النبات بواسطة سلالات

La liste des abbreviations

| | |
|----------------------------|---|
| PGPR | : Plant growth promoting rhizobacteria. |
| P spp. Fluorescents | :Pseudomonas spp. Fluorescents. |
| <i>A. thaliana</i> | :Apidopsis thaliana. |
| M.O | : Micro-organisme |
| AIA | : Acide indole acétique |
| A.A | : Acide aminé |
| ADN | : Acide désoxyribonucléique |
| ARN | : Acide ribonucléique |
| ADNr 16s | : Acide ribosomique 16 s |
| G- | : Gram négatif |
| G+ | :Gram positive |
| T° : | La température |
| °C : | degré cilsseusse |
| P. putida | : <i>Pseudomonas putida</i> |
| P. fluorescens | : <i>Pseudomonas flourescence</i> |
| E.P.S | : Exo-polysaccharide |
| P. aeruginosa | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| HCN | : Cyanure d'hydrogene |
| ISR | :Résistance systémique induite |
| LPS | Lipopolysaccharides |
| KB | : Milieu King B |
| PDA | : Potato d'extrorse agar |
| F.oxysporum | :Fusarium oxysporum |

REFERANCES BIBLIOGRAPHYQUE

Références bibliographiques

1. Abdallah, K. Kaci, N (2015) . Activités antagonistes in vitro de deux souches de *Pseudomonas* spp fluorescens vis -à-vis des fusarioses vasculaires. diplôme De Master. UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU : Protection Des Plantes Cultivées .60p.
2. Allaire, D (2005).Le quorum sensing bactérienne dans l'environnement marin :diversité moléculaire et génétique des auto inducteur .Thèse de doctorat .Université pierre et marie curie :évolution et écologie.312p.
3. Amandine de almeida cournet ,2010 . Etude de la catalyse microbienne de la réduction électrochimique du dioxygène .Thèse de doctorat. Université de toulouse : obienne et Enzymatique.151p.
4. Bais B., Rijnaarts H. H., Altendorf K., Zehnder A. J. (2006). Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*. 59(11): 3973-3977p .
5. Bakker, P. A. H. M., Schippers, B. and Weisbeek, P. J., 1988. Siderophore production by plant growth promoting *Pseudomonas* spp. *J. Plant Nutr.* 11: 925–933.
6. Bazemlal, A (2017). Application des rhizobactéries (*Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp.) dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire du pois. diplôme de Master II : Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes (BIPM). Université de Blida 1.85p.
7. Benchabane, m. Toua, D. Bakour, R. (2013). Les *Pseudomonas* pp. fluorescents phytobénéfiques Biocontrôle et phytostimulation. les rhizobactéries phytobénéfiques. Ed., Paf:672.
8. Benchabane, m (2005). Caractérisation des effets d'antagonisme microbien et de promotion de la croissance végétale de souche de *pseudomonas* spp fluorescentes .Thèse de doctorat d'état. Université de scienc et de technologie houari boumediene :microbiologie.230p.
9. Berendsen, m. Ila, R.I. & Faylon, P.S. (2005). Recent Advances in Biofertilizers and Biofungicides (PGPR) for Sustainable Agriculture , Cambridge Scholars Publishing. 540p.
10. Bending G.D., Poole E.J., Whipps J.M. & Read D.J., 2002. Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 39, 219-227.

11. Benhacene Z., Messiad I et Slimane BL (2016). Évaluation et taxonomie numérique des bactéries promotrices des plantes isolées de rhizosphère du *Capsicum annum* .Master dissertation, Université 8 Mai 1945 Guelma Université.
12. Benhasna ,n(2017) . L'effet des métabolites de *Pseudomonas* d'origine marine sur *Staphylococcus aureus* .diplôme de Master : BIOTECHNOLOGIE DES microorganismes. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem 39p .
13. BENYOUB,K (2011). Isolement de souches de *Pseudomonas* à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique . Mémoire de magister ; Biotéchnologie végétale. Université des sciences et de la technologie d'oran « mohamed boudiaf » .
14. Biddle J.A. et Cattlin N.D., 2007. Pests and diseases of peas and beans : a colour handbook. Manson Publishing, 128p.
15. Boukarma,l (2012).Effet de PGPR (*Pseudomonas* spp.flourescentes) sur le biocontrol et l'induction de la résistance systemique (irs)cege la tomate vis –a vis de la fusariose vasculaire .Diplôme de magister .Ecol national superieur agronomique El Harrach –Alger :biotechnologie végétale .140p.
16. Boukarma,l(2017). Biotisation des plantes (*Solanum lycopersicum* et *Arabidopsis thaliana*) par les PGPRs et élicitation des réactions de défense inductible. Thèse de Doctorat . Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harra Benchabane,M., Toua,D., Bakour,R., 2013 Les *Pseudomonas*spp. Fluorescents
17. Campbell, J.I.A., Jacobsen, C.S. and Sorensen, J., 1995. Species variation and plasmid incidence among fluorescent *Pseudomonas* strains isolated from agricultural and industrial soils. FEMS. Microbiol. Ecol. 62p.
18. chanway c ,p. radley ,r,a, amp. holl f,b.(1991). inoculation of conifer seed with plant growth promoting .bacillus strains causes increased seedling emergence and biomass. soil biol. biochem., 23, 575-580.
19. Cherif (2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *pantoea agglomerans* isolées de sols (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif 1).
20. Croissance et du développement des plantes. 24eme colloque de la société française de

21. Crosa N., Walsh, J. (2002). Citinolytic activity of *Pseudomonas fluorescens* isolates from barley and sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiol Ecol.* 227.
22. Chibi ,A (2015). Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Memoire de master. Universite aboubekr belkaid tlemcen : Biologie Moléculaire et Cellulaire .62p.
23. Choudhary D.K., Prakash A., Wray V et Johri B.N. (2009). Insights of the fluorescent
24. De chalvet, a(2009). Les biofilms et la peau. These de doctorat. Ecole nationale veterinaire d'alfort :la faculte de medecine de creteil.147p.
25. Diener AC, Ausubel FM (2005) RESISTANCE TO FUSARIUM OXYSPORUM 1, a dominant Arabidopsis disease-resistance gene, is not race specific. *Genetics* 171: 305–321. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
26. Digat, B. and Gardan, L., 1992. Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP.* 568p.
27. Digat, B. 1983. Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices .
28. Digat, B. 1987. Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes. 24eme colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux.Ed . INRApubl. Coll. INRA. 18:239-253
29. Dobbelaereet M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich, P.A., Mukerji, P. and Weller, D.M.(2003). Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2928–2934.
30. Ficheret , E., Buckley, T. and Young, J(2007). Improved resolution on the phylogenetic relationships among *Pseudomonas* by the combined analysis of *atpD*, *carA*, *recA* and 16S rDNA. *Antonie van Leeuwenhoek.* 64.
31. Freney J, Renaud F, Leclercq R et Riegel P. Bactériologie clinique. 2ème édition, Editions ESKA, 2007.
32. Frey-klett P., Churin J.L., Pierrat J.C. amp; Garbaye J.(1999). Dose effect in the dual inoculation,of an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium in two forest nurseries. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1555-1562 .
33. Garcia-Brugger A. et al., 2006. Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Mol. PlantMicrobe Interactions*, 19, 711-724

34. Glick R., Graeber, I., Kaesler, I., Szewzyk, U. and von Dohren, H., 2002. Rapid screening and dereplication of bacterial isolates from marine sponges of the sula ridge by intact-cell-MALDI-TOFmass spectrometry (ICMMS). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67: 539–548.
35. Guilli , P., Pandey, A. and Palni L.M.S., 2008. In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugate*. *Microbiol. Res.* 163 : 329- 336.
36. Haas, D. and Défago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.
37. Haas, D.,and Keel, C.,2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annu.*
38. HEIL,M(2001) .The ecological concept of costs of induced systemic resistance . *ISR..Eur.J.Plant patho.*107.137-146 p.
39. Irie Y, Parsek MR (2008) Quorum sensing and microbial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322: 67- 84
40. Jourdan ,e. Ongena ,m .Thonart,p (2008) . Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. Université de Liège . 437-449p.
41. Jourdan,M . Ongena ,M . Thonart ,P (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes . Université de Liège, Gembloux Agricultural University. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2008 12(4), 437-449
42. Kamilona ,V . Lee C.Y., Son H.J., 2005. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett Appl Microbiol*, 49 2 : 222-228.
43. Karabaghli J. M., Aragno, M. & Matthey, W. (1997). *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols* 3ème édition, PPUR Presses polytechniques, 817 p.
44. Kendrick JB, Snyder WC (1942) Fusarium wilt of radish. *Phytopathology* 32: 1031–1033. [Google Scholar]
45. Kim .R., Patten, C.L, Holguin, G. and Penrose, D.M., 1998. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, London, UK, 267 p.

46. KIDRI,B (2011).Rol de PGPR (Plant growth promoting rézobactéries) .Mimoire magister en science agronomique :ecole nationale superieure agronomique .El harrach_alger.83p .
47. Lam ,S,T .Chaffny,T,D .Legon,J .et al 1992 .Mutans of *Pseudomonas fluorescens* biological control strain with altered production of anti fungal activities .in :nester .E,comai.L,Gorden.M,Leigh.J.ed.Book.Of obstrecte of the sixth international symposium on moleculer plant-microb interaction .Seittl.University of Washington .231p
48. . Le manceau, P., 1992. Beneficial effects of rhizobacteria on plants: exemple of
49. fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*,12 :413-437.
50. Le manceau, P., Offre, P., Mougél, C., Gamalero, E., Dessaux, Y.Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., 2006. Microbial ecology of the rhizosphere. In: Microbiological methods for assessing soil quality. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
51. .Lugtenberg, B.J.. and Kamilova.V (2009). Microbeplant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*.383p
52. Mayak , A., Nielsen A. T., Hentzer M., Sternberg C., Givskov M., Ersbøll B. K. & Molin S. (2000). Quantification of biofilm structures by the novel computer program comstat. *Microbiology* .2407p.
53. Mezaache,s (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. diplôme de Doctorat . Université Ferhat ABBAS Sétif : Microbiologie.221p.
54. Nakkeeran, J., R. Bos, G. F. Belder, J. Engel et H. J. Busscher, (2005) Deposition of oral bacteria and polystyrene particles to quartz and dental enamel in a parallel plate and stagnation point flow chamber. *J. Colloid Interface Sci.* 418p.
55. Nils ,H(2018) . Les transporteurs de saccharose et la répartition du carbone chez *Arabidopsis thaliana* : rôle dans l'adaptation du système racinaire aux contraintes de l'environnement . THÈSE DE DOCTPTAT . L'UNIVERSITE DE POITIERS. UFR des sciences fondamentales et appliquées Ecologie et biologie des interactions - EBI (Poitiers).278p
56. Nils ,n.(2018) . Les transporteurs de saccharose et la répartition du carbone chez *Arabidopsis thaliana* : rôle dans l'adaptation du système racinaire aux contraintes de

l'environnement. Thèse de doctorat : Biologie des organismes ; Biotechnologies Animales, végétales et microbiennes .195p.

57. Niol,S ; Rivault, F.Isabelle j. Schalk, gaëtan I.A. Mislin. Chimie des siderophores :vers de nouvelles molecules pour une sante de fer ? strategies innovantes pour la conception d'antibiotiques .134p.

58. Ongena m. Thonart P., 2002. Resistance induced in plants by non-pathogenic microorganisms: elicitation and defense responses. In: Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues. 1st ed. Japan: Global Science Books, 447-463.

59. .Palleroni, N.J. (1984). Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894, 237AL (Nom. Cons., Opin. 5 of the Jud. Comm. 1952, 121). In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2 The Proteobacteria. The Gammaproteobacteria, Brenner, D.J., Krief, N.R., Staley, J.T. (éd.), New York : Springer, p. 323-373.

60. Palleroni, N.J. (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*. Prokaryotes 6, 646-703.

61. Palleroni, N.J., 2008. The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, 18p.

62. Parker C. T. & Sperandio V. (2009). Cell-to-cell signalling during pathogenesis. Cellular Microbiology 11(3): 363-369

63. Petricka JJ, Winter CM, Benfey PN (2012) Control of Arabidopsis Root Development. Annual Review of Plant Biology 63 :563–590

64. Piesrtes, J., S. Flint et J. Brooks, (2014) Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 588p.

65. Plassard, P., Wadhwani, T., Bahaley, P. and Kothari, V. (2015), —Microbial Chit-Chat: Quorum Sensing‡, The IUP Journal of Life Sciences. Vol. 4 No. 1, pp. 59-72 Donlan RM (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerging Infectious Disease journal. 8 (9): 881-890.

66. Rabhi ,n.(2011) . Isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. diplôme de magistère : Génie microbiologique.121p

67. Ramalho, R., Cunha, J., Teixeira, P. and Gibbs, P. A., 2002. Modified *pseudomonas* agar: new differential medium for the detection/ enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water. J. Microbiol. Meth. 74p.

68. Rappily F., Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Inst. National de le Recherche Agronomique- (1968)101 p.
69. Salisbury (1994) .Cabbage Yellows and the Relation of Temperature to Its Occurrence. Ann Mo Bot Gard 3: 25–84.
70. Schipper, P., K. Sauer, D. G. Davies et J. W. Costerton, (1995) Biofilms as complex differentiated communities. Annu. Rev. Microbiol. 209 p.
71. Stanier, R.Y, Palleroni, N.J. and Doudoroff, M., 1966. The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. J. Gen. Microbiol. 271p.
72. SUTY, L(2010) .La lutte biologique : vers de nouveaux équilibre écologique .édition Quae .328p.
73. Thomashow , M., Brader G. & Palva E.T.(1997). Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. Mol. Plant Pathol., 4, 73-79.
74. Tolker- Nielsen T., Molin S (2000) Spatial organization of microbial biofilm communities. Microb. Ecol., 40: 75-84]
75. TOURNUS ,C (2016) . Validation de l'identification de Pseudomonas sp. par spectrométrie de masse type MALDI-TOF via la caractérisation d'une collection de souches environnementales et cliniques. Diplôme de docteur : UFR de médecine et de pharmacie. Université de Rouen .155p.
76. Vacheron A., Ramírez-Bahena, M.H. and Velázquez, E., 2013. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus Pseudomonas. Infect. Genet. Evolution .1147p.
77. Vansuyt, L., Tarnawski, S., Hamelin, J., Rossi, P., Aragno, M. and Fromin, N. (2003). Specific PCR amplification for the genus Pseudomonas targeting the 30 half of 16S rDNA and the whole 16S-23S rDNA spacer. Syst. Appl. Microbiol. 227.
78. Visca, P., Imperi, F. and Lamont, I.L., 2007. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. Trends Microbiol. 30. Weyens.R., Sholberg P.L., Eastwell K.C et Sayler R.J. (2010). Biological control.
79. Weyens.R., Sholberg P.L., Eastwell K.C et Sayler R.J. (2010). Biological control.
80. Yala, a.Chouih ,s , benchabane ,m, (2016). Potentialitésphytoprotectrices et phytostimulantes de deux souches rhizobacteriennes vis-à-vis de la fusariose vasculaire du pois. Article. U. Blida 12156p.

81. Yala, a. (2016). Potentialités phytoprotectrices et phytostimulantes de deux souches rhizobacteriennes vis-à-vis de la fusariose vasculaire du pois». article. U. Blida 12156p.
82. Yang. Bassler ,b . Crowley, d. (2009). Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status. Appl Environ Microbiol 66(1): 345-351.
83. Zaker, C. et al.2016. Bacterial disease resistance in Arabidopsis through flagellin perception. Nature, 428, 764-767.