



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES **En vue de l'obtention du diplôme Master LMD**

Domaine : Science de la nature et de la vie (SNV)

Filière : Sciences agronomiques

Option : Protection des végétaux

Présenté par

BENAMMAR kenza

Thème

Biocontrôle de *Fusarium.spp* du haricot (*Phaseolus vulgaris* L) par des *Pseudomonas spp.* fluorescents isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanées région arides - et semi arides.

Membres de jury :

Mr. Amara Yacine
Mm. Touati-Hattab Sihem
Mm. Ameer Djamila
Mm. Azouaou Karima

Président
Examineur
Encadreur
Co- Encadreur

Promotion : Novembre – 2020.



Dédicace

Je dédie ce mémoire à

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien,
Tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son
Assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi
Modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle
Gratitude*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de
sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.
Merci pour les*

*Valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous.
Mes frères et sœur qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de
Persévérance, de courage et de générosité.*

*Mes professeurs de qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un
Savoir bien acquis.*

Benamar kenza.



Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Au terme de ce travail, j'adresse ma gratitude et je remercie énormément Mll Ameer Djamila. Qui a dirigé ce travail, pour son encadrement, son aide précieuse, et ses conseils qui ont été essentiels pour l'aboutissement de ce modeste travail.

Remerciements vont également aux membres du jury Mr Amara Yacine et Mme Touati-Hattab Sihem d'avoir accepté de lire et d'examiner mon

Je remercie très vivement Mlle Renan Z ingénieure de laboratoire d'agronomie pour son aide et encouragements. Comme je remercie encore Mme Marfoua Mariam pour conseils et son aide.

Enfin, je dis merci pour tous ceux que de près ou de loin, dont l'assistance ou les conseils m'ont permis de mener à bien ce travail.

Titre du mémoire : Effets bénéfiques de certaines rhizobactéria sur le biocontrôle de certaines maladies de blé.

Nom : Benammar

Prénom : Kenza

Encadreur : Ameer Djamila.

Résumé :

Le biocontrôle met en jeu un ensemble d'agents d'origine biologique et de méthodes basées sur des interactions naturelles. Il participe à une stratégie visant la réduction ou la substitution de produits réputés à risque pour la santé et l'environnement, tout en assurant une production durable.

Nous visant par ce travail la mise en évidence de l'effet effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. fluorescents, isolée de la rhizosphère de certaines plantes spontanées de région aride et semi-aride sur le biocontrôle des agent pathogène fongique du haricot *Phaseolus vulgaris* L.

Ce travail comporte deux essais, le premier est de tester la capacité d'antagonisme *in vitro* des huit isolats de *Pseudomonas* vis-à-vis a deux agents phytopathogènes le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (FOA) et *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi* (FOP), par confrontation directe sur quatre milieux de culture TSA, KB, MH, PDA. Et le deuxième vise le biocontrôle de l'état sanitaire de la semence du haricot, par trempage d'une semence désinfecté et une autre non désinfecté, dans des suspensions bactériennes de deux isolats AS02 et T32.

Les résultats obtenus ont montré une activité antagoniste varies entre 29,15 % et 70,66 %, d'après l'analyse de variance la meilleure performance a été obtenu par isolat AZ24 contre (FOP). Pour l'essai du biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot, les résultats obtenus ont montré l'efficacité des deux isolats testés AS02 et T32 à réduire significativement le taux de contamination totale de la microflore fongique avec 10, 3% respectivement, comparais au témoin non bactérisé avec 28%, indépendamment des milieux de culture et de la désinfection ou pas de la semence.

Mots clé : Biocontrôle, la rhizosphère, *Pseudomonas* spp. fluorescents, PGPR .

These title: Beneficial effects of certain rhizobacteria on the bio-control of certain wheat diseases.

Name: Benammar **First name:** Kenza **Directed by:** Ameer Djamilia.

Abstract:

Biocontrol involves a set of agents of biological origin and methods based on natural interactions. It is part of a strategy aimed at reducing or substituting products deemed to be a risk to health and the environment, while ensuring sustainable production.

We aim by this work to demonstrate the beneficial effects of *Pseudomonas* spp. fluorescent, isolated from the rhizosphere of some spontaneous plants of arid and semi-arid region on bean (*Phaseolus vulgaris* L) pathogen biocontrol.

This work comprises two tests, the first is to test the capacity of antagonism in vitro of the eight isolates of *Pseudomonas* vis-à-vis two phytopathogenic agents, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (FOA) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi* (FOP), by direct confrontation on four culture media TSA, KB, MH, PDA. And the second is the biocontrol of seed-transmitted bean-transmitted fungi, by soaking one disinfected and one uninfected seed in bacterial suspensions of two isolates AS02 and T32.

The results obtained showed an antagonist activity varying between 29.15% and 70.66%, according to the analysis of variance the best performance was obtained by isolate AZ24 against (FOP). For the test of the biocontrol of the fungi transmitted by the seed of the bean, the results obtained showed the effectiveness of the two tested isolates AS02 and T32 to significantly reduce the rate of total contamination of the fungal microflora with 10.3% respectively, compared to the non-bacterial control with 28%, independently of the culture media and of the disinfection or not of the seed.

Key words : Biocontrol, biostimulation, rhizosphere, *Pseudomonas* spp. fluorescents, PGPR .

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01 : Origine des souches <i>Pseudomonas spp. fluorescent</i>	20
Tableau 02 : Taux de contamination (%).	41
Tableau 03 : Effet du facteur bactérisation sur le taux de contamination (%).	42

Liste des figures

Liste des figures

Figures 01 :	Représentation schématique de la rhizosphère.	5
Figure 02 :	les mécanismes PGPR sur la plante.	8
Figure 03 :	Technique de l'essai d'antagonisme in vitro par confrontation directe.	22
Figure 04 :	Méthode de la désinfection des semences du haricot <i>Phaseolus vulgaris. L</i>	24
Figure 05 :	Méthode de l'obtention de l'inoculum bactérien.	25
Figure 06 :	Effet de facteur bactérie sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	30
Figure 07 :	Effet de facteur milieu sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	31
Figure 08 :	Effet de facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	32
Figure 09 :	Effet de facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	33
Figure 10 :	Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur milieu sur le taux d'inhibition du FOP et FOA	34
Figure 11 :	Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA	35
Figure 12 :	Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	36
Figure 13 :	Effet de l'interaction entre facteur milieu et facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	37
Figure 14 :	Effet de l'interaction entre facteur milieu et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	38
Figure 15 :	Effet de l'interaction entre facteur temps et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.	39
Figure 16 :	La classification ascendante hiérarchique (CAH).	41

Figure 17 :	Aspect microscopique de <i>Aspergillus sp.</i> (Gx40).	42
Figure 18 :	Aspect microscopies <i>Penicillium sp</i> (Gx40).	43
Figure 19 :	Aspects microscopies <i>Alternaria sp</i> (Gx40).	43
Figure 20 :	Aspect microscopies <i>Rhizopus sp</i> (Gx40).	44
Figure 21 :	Aspect microscopies d'un champignon non identifiées	44
Figure 22 :	Aspect microscopies d'un champignon non identifiées	45
Figure 23 :	Aspect microscopies d'un champignon non identifiées	45
Figure 24 :	Aspect microscopies d'un champignon non identifiées.	46
Figure 25 :	Aspect microscopies d'un champignon non identifiées.	46

Liste des abréviations

abréviations

Liste des abréviations

Acc :	1-Amino-cyclopropane-1-carboxylate.
AIA :	L'acide indole-3-acétique
Cm :	Centimètre.
°C :	Celsius
DAPG	diacetylphlorolucinol.
Do	Densité optique.
HCN :	Acide cyanhydrique.
IRS :	La résistance systémique induit
KB:	King B.
K :	Le potassium
mm :	Millimètre.
Min :	Minute
N :	L'azote.
PGPR :	Plant Growth Promoting Rhizobacteria ou rhizobactéries stimulant la croissance des plantes.
p.fluorescens :	<i>pseudomonas fluorescens</i> .
PDA :	Potato Dextrose Agar.
Pb :	Plomb Potentiel Hydrogène
Spp :	Plusieurs espèces
FOP :	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> .

Liste des abréviations

FOA :	<i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis.</i>
Zn :	Zinc
%	Pourcentage
UFC/ml :	Unité formatrice de colonies par millilitre

Table des matières

matières

Table de matières

Dédicace		
Remerciements		
Résumé		
Liste de tableaux	I	
Liste des Figures	II	
Liste des abréviations	III	
Introduction	1	
Revue bibliographies		
I. 1.	Généralité sur l'habitat des microorganismes	4
I.1.1.	Le sol	4
I.1.2.	La rhizosphère	4
I.1.3.	Rhizosphère et interaction plante – microorganismes	5
I.1.4.	Les bactéries bénéfiques dans la rhizosphère	6
I.1.5.	<i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents rhizosphériques	6
I.1.6.	Principaux rôles des PGPR	7
I.2.	Effets bénéfiques des rhizobactéries	8
I.2.1.	Effets directs	9
I.2.1.1.	Fixation d'azote	9
I.2.1.2.	Solubilisation du phosphate	9
I.2.1.3.	Solubilisation du potassium	10
I.2.1.4.	Solubilisation du Zinc	11

I.2.1.5.	Production des sidérophores	11
I.2.1.6.	Production des phytohormones	11
a.	Acide indole acétique (AIA)	12
b.	Production des cytokinines	12
c.	Production de gibbérellines	13
d.	Production d'acide 1-Aminocyclopropane-1-carboxylique désaminase (ACC-désaminase)	14
I.2.2.	Effet indirecte	14
I.2.1.	Compétition pour l'espace et les nutriments	15
I.2.2.	Production des antibiotiques	15
a.	2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG)	16
b.	Les phénazines (PHZ)	16
c.	Pyolutéorine (PLT)	17
d.	Cyanure d'hydrogène (HCN)	17
I.2.3.	Enzymes extra cellulaire dégradant les parois fongiques	18
I.2.4.	Induction d'un système de résistance (ISR)	18
I.2.5.	Modification de l'équilibre microbien	19
I.2.6.	La formation de biofilm	19
Matériel et méthodes		
II.1.	Matériel biologique	20
II.1.1.	Isolats bactériens	20
II.1.2.	Isolats fongiques	21
II.1.3.	Matériel végétal	21
II.2.	Recherche des antagonistes <i>in vitro</i>	21

II.2.1.	Dispositif expérimental	23
II.3.	Essais de biocontrôle <i>in vitro</i> des champignons transmis par semences	23
II.3.1.	Désinfection superficielle de la semence	24
II.3.2.	Préparation des suspensions bactériennes	24
II.3.3.	Bactérisation de la semence	25
II.3.4.	Dispositif expérimental	26
II.3.5.	Paramètres étudiés	27
II.4.	Analyse statistique	27
Résultats et discussion		
III.1.	Résultats	28
III.1.1.	Essai d'antagonisme <i>in vitro</i> contre <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	29
III.1.2.	Taux d'inhibition des deux champignons <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	29
III.1.3.	Biocontrôle des champignons transmis par semence du haricot	39
III.1.3.1.	La classification ascendante hiérarchique (CAH)	39
III.2.	Biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot	40
III.3.I	Observation microscopique	42
IV.	Discussion	47
	Conclusion	52
	Références bibliographiques	54
	Annexe	69

Introduction

Introduction

L'agriculture constitue la source principale de nutrition pour l'humanité. Les récents rapports de la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) indiquent que d'ici 2050 il sera nécessaire de doubler la production agricole mondiale actuelle pour nourrir les 9 milliards d'êtres humains.

Essentiellement du fait du recul attendu qui sont sous réserve du respect des intentions de plantations et surtout tributaires aux inquiétudes croissantes concernant la propagation mondiale et la durée de la pandémie de Covid-19 (corona virus), qui pourrait restreindre les transports et entraver la fourniture de semences, d'engrais ainsi que la préparation des terres incertitude croissante quant aux implications à plus long terme pour la production et la consommation (FAO, 2020).

Compte du rythme plus soutenu des exportations en réponse à une forte accélération de la demande mondiale et les stocks devraient diminuer, les effets négatifs à court terme comprennent : i) l'incapacité d'effectuer des opérations agricoles telles que la production et la protection des cultures contre les parasites et les maladies (souvent assurées par des travailleurs saisonniers migrants) ; ii) l'accès réduit aux intrants agricoles ; iii) des services de conseil et de vulgarisation agricoles limités ; et iv) une pénurie de main-d'œuvre, en particulier dans les filières à forte intensité en main-d'œuvre. (FAO, 2020)

Toujours selon FAO. (2020), Les effets négatifs à plus long terme, l'effet domino pourrait conduire à une baisse de la qualité et de la quantité des produits agricoles, à une interruption de la recherche et des activités de développement, à la réduction de la capacité d'achat des agriculteurs en intrants et à une réduction de la demande des consommateurs, ce qui pourrait à terme provoquer l'effondrement de nombreuses exploitations agricoles de petite et moyenne taille et entraîner une pauvreté généralisée chez les agriculteurs les plus vulnérables.

Malgré cette révision à la baisse production mondiale la plupart des travaux de recherche sont basée essentiellement sur les performances agronomiques (CIC ,2019). En revanche l'agriculture durable, dont l'agriculture biologique fait partie, est devenue extrêmement importante pour accomplir les demandes en nourriture (Singh, Sarma *et al.*, 2017). Selon IFOAM. (2012) « l'agriculture biologique est un système de production qui maintient et améliore la santé des sols, des écosystèmes et des personnes. Elle s'appuie sur des processus écologiques, la biodiversité et des cycles adaptés aux conditions locales, plutôt que sur l'utilisation d'intrants ayant des effets adverses. L'agriculture biologique allie tradition, innovation et science au bénéfice de l'environnement commun et promeut des relations justes et une bonne qualité de vie» L'agriculture biologique de cette manière, dispose en théorie d'une gamme de technologies plutôt modernes pouvant remplacer le recours à des produits de synthèse pour lutter contre les ennemis des cultures, comme des variétés résistantes aux maladies et l'utilisation d'antagonistes dans la lutte contre les ravageurs et les maladies (Adam,2008). La lutte biologique reçoit un intérêt particulier, grâce aux résultats prometteurs obtenus elle est considérée comme étant l'une des méthodes alternatives de la lutte chimique, son principe repose sur l'utilisation des microorganismes antagonistes, dont les plus étudiés sont les rhizobactéria (Guanpeng *et al.*, 2012).

Il s'agit de bactéries adaptées à un biotope particulier, la rhizosphère (Vacheron *et al.*, 2017), la zone d'interface entre la plante et le sol, abrite plusieurs microorganismes qui interagissent avec la plante et en influencent sa croissance (Agueniou et Zeggagh, 2017). Parmi les bactéries qui colonisent la rhizosphère et bénéfiques aux plantes, la flore PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Souza *et al.*, 2015) , les mécanismes d'action des PGPR comme agents de lutte biologique sont liés à leur capacité de produire une large gamme de molécule à caractère antibiotique , antifongique, insecticide etc., mais aussi à leur potentiel compétitif par rapport à l'espace et aux nutriments ; permettant ainsi d'écarter les populations des pathogènes (Kenneth *et al.*, 2019), l'augmentation l'absorption des nutriments, l'amélioration des fonctions racinaires, de la germination et de la production des graines sont les plus notables (Amir *et al.*, 2005 ; Kenneth *et al.*, 2019). Ainsi que, à leurs performances dans la phytostimulation de la croissance de nombreuses plantes, à leur capacité de colonisation racinaire, la synthèse de phytohormones, et à la solubilisation des phosphates, à la production d'enzymes et de métabolites, (Ouserir *et al.*, 2018), et à leur

pouvoir dans l'induction de la défense de la plante (la *résistance systémique induit* : IRS) (Osman *et al.*, 2017).

Parmi les bactéries d'intérêt agricole (PGPR) les *Pseudomonas* spp. fluorescents font l'objet d'une attention particulière, Comprend un groupe de saprophytes communs, non pathogènes qui colonisent les environnements de surface du sol, de l'eau et des plantes, il sécrète un pigment fluorescent verdâtre soluble appelé pyoverdine qui est un sidérophore qui jouent un rôle important dans la croissance dans des conditions limitant le fer (Ganeshan et Kumar 2005 ; Michael *et al.*, 2018)

Ces bactéries sont un bon outil de lutte biologique ; car elles peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses grâce à leur activité antagoniste vis-à-vis des phytopathogènes.

L'objectif de ce travail consiste à mettre en évidence *in vitro* l'effet bénéfique de certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescens, isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanée des régions arides et semi arides. Premièrement par la recherche de l'activité antagonistes chez huit isolats ; isolés et identifiés à l'université d'Amar Thelidji - Laghouat ; vis-à-vis de deux agents de la fusariose vasculaire, le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (FOP) et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (FOA) et deuxièmement un essai préliminaire pour étudier l'effet bénéfique de deux isolats (AS02 et T32) sur biocontrôle de la microflore fongique transmis par la semence du haricot *Phaseolus vulgaris* L, touchant ainsi le premier maillon dans le système de production agricole.

**Revue
bibliographique**

bibliographique

I.1. Généralité sur l'habitat des microorganismes

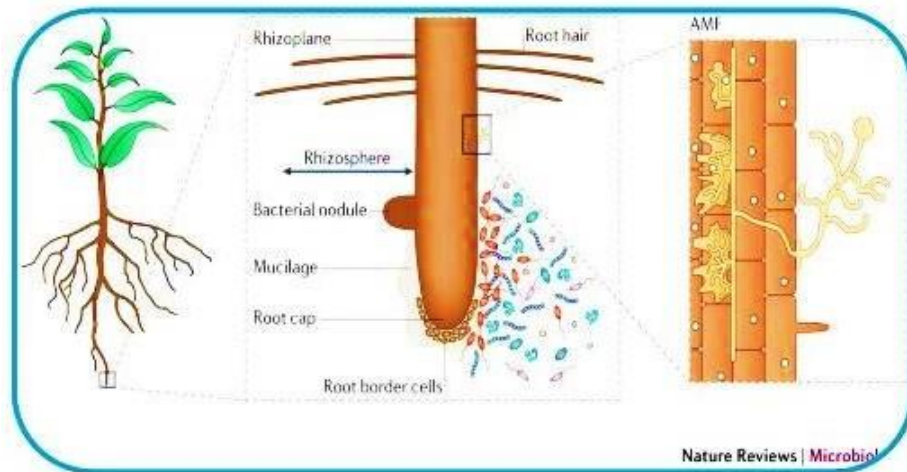
I.1.1. Le sol

Le sol est un environnement où cohabitent les racines des végétaux, les animaux et les microorganismes. C'est un assemblage complexe de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, à l'intérieur duquel se déroulent simultanément des phénomènes de dégradation et de synthèse. A cause de son hétérogénéité, il constitue le support de vie d'une très grande variété d'organismes vivants en interactions continues (plantes, vers, nématodes, acariens, protozoaires, algues, champignons, bactéries, archaea, etc.) (Scow, 2004 ; Kang, Shen *et al.*, 2013)). Il abrite des populations microorganismes avec des particularités biologiques et biochimiques très diverses, les températures ; le PH ; la profondeur du sol ; l'humidité et la présence des substances organiques et inorganiques. (Ameur, 2014).

I.1.2. La rhizosphère

En 1904, Hiltner avait défini la rhizosphère comme étant une niche écologique bien caractérisée comprenant du volume du sol entourant les racines des plantes ayant la plus forte population microbienne qui est 10– 100 fois supérieure à celle d'un sol nu (Weller et Thomashow 1994 ; Singh, Joshi *et al.*, 2017). « rhizo » vient du grec « rhiza » signifiant racine, « sphère » vient du latin « sfaire » signifiant balle, ballon ou globe. La sphère définit le champ d'influence du système racinaire (Philippe, 2010).

Parallèlement, environ 15% de la surface des racines des plantes est couverte de populations microbiennes appartenant à plusieurs espèces bactériennes, et les activités métaboliques de ces bactéries stimulent le transport et l'absorption des nutriments minéraux par les racines des plantes (Singh, Joshi *et al.*, 2017). Cette zone d'interaction peut être divisée en trois zones distinctes (Figure 01) : l'endo rhizosphère (intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'ectorrhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine par opposition au sol distant) (Schroder, 2003).



(Source : Drogue *et al.*, 2013)

Figure 1. Représentation schématique de la rhizosphère.

I.1.3. Rhizosphère et interactions plante-microorganismes

L'ensemble des microbes associés à la rhizosphère constitue le microbiote racinaire. Les plantes vivent en étroite association avec ces microorganismes qui vont jouer un rôle important dans le maintien de la santé des plantes (Berendsen *et al.*, 2012).

La rhizosphère est naturellement colonisée par les microbes (bactéries, champignons, etc.), Il existe différents types d'interactions entre les microorganismes rhizosphériques et les plantes au sein de la rhizosphère. Le type d'interactions que vont entretenir une plante et un microorganisme va dépendre de différents facteurs comme le statut nutritif de la plante, l'environnement du sol, le mécanisme de défense des plantes et le type de micro-organismes qui prolifèrent dans la zone. (Parmar et Dufresne, 2011). Les bactéries sont les organismes les plus nombreux (leur densité est de l'ordre de plus de 10^9 cellules par gramme de tissus des racines de plantes) et les plus variés (Weller, 1988). Les bactéries associées à la rhizosphère peuvent avoir un effet positif, négatif ou neutre sur la croissance des plantes (Suslow, 1982 ; Weller, 1988).

I.1.4. Les bactéries bénéfiques dans la rhizosphère

Les bactéries entretenant une interaction bénéfique avec la plante sont communément désignées comme des PGPR (Beneduzi *et al.*, 2012). Ces bactéries stimulent la croissance des plantes selon différents mécanismes incluant la mobilisation des nutriments du sol, la production de régulateurs de croissance, le contrôle des pathogènes et la séquestration des métaux lourds (Ahemad et Kibret, 2014).

Cependant, pour un effet bénéfique dans l'environnement des racines, les bactéries doivent en rivaliser avec les autres micro-organismes de la rhizosphère, aussi bien pour bénéficier des nutriments sécrétés par la plante que coloniser les sites disponibles (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Parmi les groupes microbiens du sol qui s'influent sur la croissance des plantes, on peut citer *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Azotobacter sp*, *Serratia*, (Kumar *et al.*, 2012 ; Osman *et al.*, 2017) et en particulier le genre *Pseudomonas*, qui sont dotées d'une grande rhizocompétence (Haas and Keel 2003).

Cette grande rhizocompétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries ; et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (Moore *et al.*, 2006).

I.1.5. *Pseudomonas* spp. fluorescents rhizosphériques

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, est une bactérie qui appartient à la classe des Gamma proteobacteria (Silby *et al.*, 2009 ; Shamseldin *et al.*, 2017), Le groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents est capable d'utiliser une large gamme de composés organiques et inorganiques. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, généralement mobiles grâce à des flagelles en position polaire (monotriche ou multitriche) (Dahah, 2017), incapable de sporuler, Chimioorganotrophes (Palleroni, 2009), utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons à l'exception de certaines souches pouvant utiliser le NO₃ comme accepteur

d'électrons en anaérobiose (Palleroni, 1984), ne fermente pas le glucose (Scales *et al.*, 2014), à métabolisme oxydatif, catalase positive et oxydase positive, non exigeantes, se développent entre moins de 1°C (Yumoto *et al.*, 2001) et plus de 55°C et pH neutre (Maniaia et Moore, 2002).

Certaines espèces sont des pathogènes pour les plantes, comme l'espèce *P. syringae* qui compte au moins 37 pathovars capables d'infecter de nombreuses espèces de végétaux (Sawada *et al.*, 2002). D'autres espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été rapportés à la fois comme PGPR (plant growth promoting rhizobactéria), et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (De Salmone *et al.*, 2001). *P. fluorescens* et *P. putida*, *P. aeruginosa*, et *P. chlororaphis* (Tewari and Arora 2016 ; Dorjey *et al.*, 2017). Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003).

I.1.6. Principaux rôles des PGPR

La compréhension de l'effet de la rhizosphère sur les communautés microbiennes ainsi que l'effet de ces dernières sur la croissance des plantes a permis d'apporter une nouvelle lumière sur le rôle de ces microorganismes dans le fonctionnement des écosystèmes (Nie *et al.*, 2009). Les mécanismes par lesquels les PGPR peuvent améliorer le rendement d'une plante sont divers ; leurs effets se manifestent à plusieurs niveaux et à différents stades du développement de la plante.

Le rôle des PGPR ne s'arrête pas à la stimulation de la croissance de la plante et/ou la réduction des maladies causées par les phytopathogènes (virus, bactéries, champignons, nématodes), certaines PGPR stimulent des changements physiques ou chimique améliorant. Les défenses de la plante, ce qui est désigné par 'résistance systémique induite' (ISR) (Shukla *et al.*, 2012).

Selon (Kang, Shen *et al.*, 2013). Les rhizobactéries sont caractérisées par les caractéristiques intrinsèques suivantes :

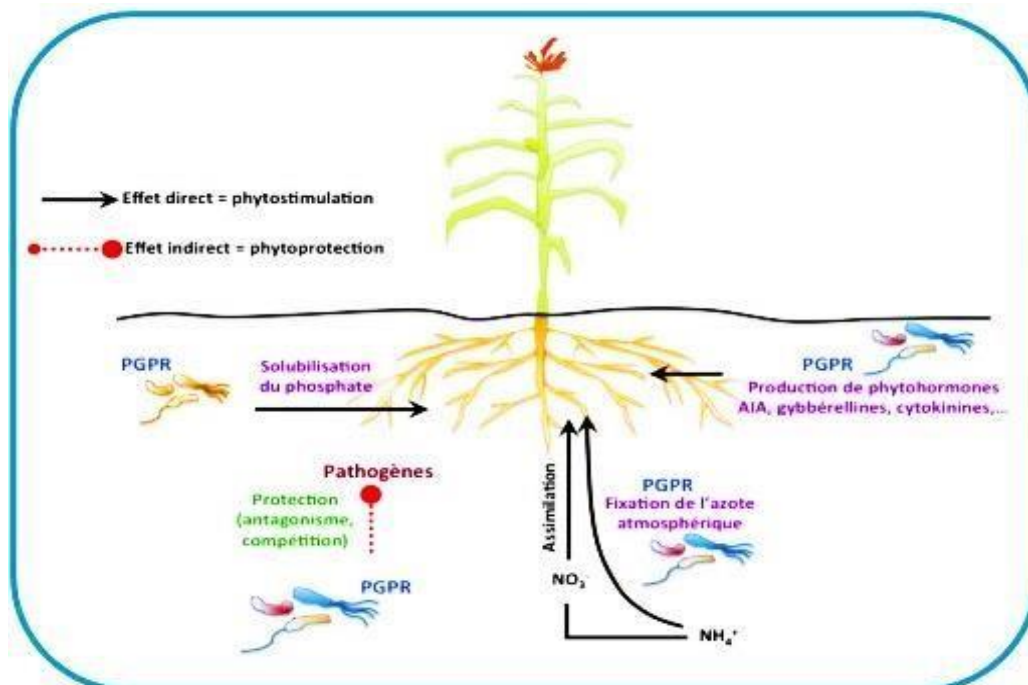
- ✚ Capables de coloniser les racines ou autre partie de la plante.

- ✚ Lorsqu'elles sont utilisées comme des probiotiques (bio-inoculant), elles doivent survivent, multiplier, et expriment leurs activités promotrices de la croissance des plantes.
- ✚ Doivent promouvoir la croissance des plantes.

I.2. Effets bénéfiques des rhizobactéries

Les rhizobactéries stimulatrices de la croissance des plantes ; PGPR (*Plant growth promoting rhizobacteria*) ; sont les bactéries du sol qui colonisent les racines des plantes et améliorent leur croissance directement ou indirectement ; et à leur tour les racines des plantes sécrètent des métabolites qui peuvent être utilisés comme éléments nutritifs (Bhattacharyya and Jha 2012 ; Arora 2015).

Les effets des rhizobactéries sont regroupés traditionnellement en directs et indirects. Bien que la différence entre les deux effets ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur métabolisme tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes (Gopalakrishnan *et al.*, 2012 ; Huang *et al.*, 2014 ; Osman *et al.*, 2017).



(Khan *et al.*, 2009)

Figure 2. Les mécanismes des PGPR sur la plante.

I.2.1. Effet direct

La stimulation directe peut inclure la fixation de l'azote atmosphérique, la synthèse de diverses phytohormones, ainsi que la solubilisation des minéraux du sol (Gopalakrishnan *et al.*, 2012 ; Huang *et al.*, 2014 ; Osman *et al.*, 2017).

I.2.1.1 Fixation d'azote

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78 % de N₂ dans l'atmosphère, il n'est pas disponible pour les plantes en croissance (Muness, 2013).

Le processus de la fixation biologique d'azote par des interactions symbiotique ou non symbiotique entre le microbe et les plantes relève uniquement du domaine procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Rabhi, 2011 ; Sushanto *et al.*, 2017).

Il existe plusieurs types de bactéries fixatrice de l'azote (les bactéries associatives, symbiotes et libres, vivant dans la rhizosphère) ; mais toutes les bactéries fixatrices d'azote comme *Rhizobium* spp, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter* et *Pseudomonas* utilisent forme un complexe enzymatique appelé la nitrogénase (Pereg et McMillan, 2015). Et donc la fixation associative de l'azote et la promotion de la croissance végétale par les rhizobactéries se fait sur des organes végétaux spéciaux appelés nodules de racine ou de tige les rhizobactéries fixatrice de l'azote sont importantes pour une bonne fertilisation du sol et un système agricole durable (Wdowiak-Wróbel *et al.*, 2017). Des PGPR fixatrices d'azote permet d'améliorer la croissance végétale, et de maintenir un niveau élevé d'azote dans les sols agricoles (Damam *et al.*, 2016).

I.2.1.2. Solubilisation du phosphate

Le phosphore est le deuxième nutriment essentiel pour une croissance optimale des plantes (Goudaa *et al.*, 2018). Il joue un rôle important dans tous les principaux processus métaboliques, y compris le transfert d'énergie, la transduction du signal, la respiration, la

biosynthèse et la photosynthèse (Anand *et al.*, 2016). Le phosphate existe dans le sol sous forme de sels minéraux ou incorporé dans des composés organiques. Bien que ces composés du phosphore soient abondants dans les sols agricoles, la majorité d'entre eux se présente sous une forme insoluble (Oteino *et al.*, 2015 ; Alori *et al.*, 2017).

Plusieurs souches bactériennes telles *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, et *Flavobacterium*, *Azotobacter chroococcus*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium* spp. *Bradyrhizobium* spp ont la capacité de solubiliser le phosphate inorganique. L'utilisation de ces bactéries comme bioinoculants augmente sa disponibilité (Giri *et al.*, 2003 ; Saharan et Nehra 2011 ; Idris *et al.*, 2016 ; Sáenz-Mata *et al.*, 2016). Ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (Taktek, 2015).

I.2.1.3. Solubilisation du potassium

Le potassium (K) fait partie des trois éléments majeurs nécessaires à la croissance des plantes avec l'azote et le phosphore. Il joue un rôle important dans le métabolisme de l'azote et la fabrication des protéines et contribue à la résistance aux maladies et à la sécheresse (Faucher, 2017). Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013). En outre, en raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles (Kumar et Dubey, 2012). Des PGPR comme *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acidithiobacillus*, *Bacillus* et *Paenibacillus* sont connus pour solubiliser K et ainsi de faciliter son absorption par les plantes, en excréant principalement des acides organiques (Rogers *et al.*, 1998 ; Parmar et Sindhu 2013 ; Etesami *et al.*, 2017)

I.2.1.4. Solubilisation du Zinc

Le zinc est un élément métallique ou métalloïdes dits « traces » car il est présent en faible concentration dans la croûte terrestre ou les organismes vivants. Il désigne un oligoélément indispensable aux processus biologiques, mais toxiques à des teneurs élevées même dans des concentrations relativement faibles. Le zinc est requis par de nombreuses enzymes en quantités infime (Habibi et Karimi, 2014). Plusieurs genres bactériens sont considérés comme des solubilisant de Zn qui comprennent *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Enterobacter*, et *Xanthomonas* (Vaid *et al.*, 2014 ; Naz *et al.*, 2016).

I.2.1.5. Production des sidérophores

Les sidérophores, du grec *pherein* et *sideros*, signifiant « porter le fer » (Vaulont et Schalksont, 2015). Se sont de petites molécules organiques produites par des microorganismes dans des conditions limitant en fer (Saha *et al.*, 2016). Dans l'environnement, la forme ferrique du fer est insoluble et inaccessible au pH physiologique (7,35 à 7,40), dans ces conditions, Les microorganismes synthétisent des sidérophores, qui ont une forte affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}), puis il est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}) dans le cytosol et devient accessible aux micro-organismes (Saha *et al.*, 2016 ; Arora et Verma, 2017).

Les sidérophores de bactéries rhizosphériques peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer, comme ils peuvent le rendre ainsi non disponible pour les champignons pathogènes (O'sullivan et O'gara, 1992 ; Boiteau *et al.*, 2016). Ils jouent également le rôle de chélateurs de métaux rhizosphériques ayant une faible disponibilité pour les plantes tels le Zn et Pb (Dimkpa *et al.*, 2009).

I.2.1.6. Production des phytohormones

Les phytohormones sont parmi les régulateurs de croissance les plus importants ; ils sont connus pour avoir un impact important sur le métabolisme et la croissance des plantes, et en

outre, ils jouent un rôle essentiel dans la stimulation des mécanismes de réponse de la défense des plantes contre les stress (Egamberdieva *et al.*, 2017). Les régulateurs de croissance des plantes sont également appelés hormones végétales exogènes, car ils peuvent être appliqués de manière exogène par certaines bactéries PGPR. Le groupe de phytohormones englobe les gibbérellines, les cytokinines, l'acide abscissique, l'éthylène, les stéroïdes et les auxines (Damam *et al.*, 2016).

a. Acide indole acétique (AIA)

C'est l'auxine naturelle la plus répandue, est une hormone produite par les plantes, les champignons et les bactéries (Li *et al.*, 2018). De nombreux chercheurs ont signalé que des bactéries promotrices de la croissance peuvent produire de l'AIA, et appartenant à différents genres comme *Bacillus* et *Pseudomonas* (Ozdal *et al.*, 2017).

L'AIA agit comme une molécule de signalisation qui a des effets importants sur la communication entre les plantes et les microorganismes et favorise la croissance des plantes (Li *et al.*, 2018) Cet effet résulte en une surface racinaire plus grande, et une accessibilité pour plus de nutriments pour la plante (Patten et Glick, 2002).

L'AIA bactérienne peut desserrer les parois des cellules végétales et, par conséquent, favorise une exsudation croissante des racines qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries de la rhizosphère. Elle peut attirer plus de bactéries à la rhizosphère en augmentant la quantité d'exsudation racinaire. Étant donné que l'AIA bactérienne stimule le développement du système racinaire de la plante hôte, les isolats producteurs d'AIA peuvent améliorer l'aptitude des interactions plante-microbe (Hassan *et al.*, 2015).

b. Production des cytokinines

Les cytokinines ce sont des hormones végétales dérivées de molécule d'adénine qu'ont la capacité d'améliorer la division cellulaire des plantes et la résistance des plantes aux

facteurs nuisibles (Chanclud, 2015 ; Andrabi *et al.*, 2018) ; régulent le développement et la physiologie des plantes ainsi que leur immunité, leur production par des micro-organismes n'a pas été considérée comme un mécanisme de biocontrôle, mais nous identifions la capacité de *P. fluorescents* G20-18 à contrôler efficacement l'infection à *P. syringae* chez *Arabidopsis*, permettant ainsi de préserver l'intégrité des tissus et, à terme, le rendement en biomasse (Grobkinsky *et al.*, 2016). La production de cytokinines microbiennes a été identifiée comme un déterminant clé de cet effet de biocontrôle sur le pathogène bactérien hémibiotrophique (Grobkinsky *et al.*, 2016).

Depuis, de nombreuses PGPR y compris *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* spp. Sont productrices de cette hormone (Nieto et Frankenberger, 1989 ; Timmusk *et al.*, 1999). L'inoculation de graines avec des bactéries productrices de cytokinines conduit généralement à augmenter le contenu en cytokinines chez les plantes influençant ainsi simultanément la croissance et le développement des plantes (Arkhipova *et al.*, 2005).

c. Production de gibbérellines

Gibbérellines sont diterpénoïdes, régulant la croissance des plantes. Elles sont couramment utilisées dans l'agriculture moderne. Les hormones végétales gibbérellines sont nécessaires à la germination des graines. (Miransari et Smith, 2014).

Ce sont produites à la fois par les microorganismes et les plantes supérieures, le seul groupe d'hormone végétale qui peut être caractérisées par leur structure chimique plutôt que par leur activité biologique. Les gibbérellines appartiennent à une grande famille chimique dont la structure de base est l'entakaurène. Elles stimulent l'allongement des tiges, la croissance des feuilles et des fruits et lèvent la dormance des semences et des bourgeons (Moore *et al.*, 2006)

La capacité des bactéries à synthétiser des substances de gibbérellines été initialement décrite chez *A. brasilense* (Tien *et al.*, 1979) et *rhizobium* (Williams et De Mallorca, 1982) puis chez différents genres bactériens qui peuplent le système racinaire de la plante, y compris *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Agrobacterium*, *Clostridium*, *Burkholderia* et *Xanthomonas* (Mitter *et al.*, 2002 ; Tsakelova *et al.*, 2006 ; joo *et al.*, 2009).

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

Les PGPR possédant une activité ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) désaminase réduit le niveau de stress en éthylène, ce qui confère une résistance et améliore la croissance des plantes dans différentes conditions de stress (Safari *et al.*, 2018).

La bactérie bénéfique pour les plantes *P. fluorescens* F113 abrite un gène *acdS*, qui permet la désamination de l'ACC (Glick, 2014). L'impact des facteurs abiotiques et biotiques sur l'expression de ce gène a été évalué, et différents modèles de colonisation racinaire et d'expression *acdS* ont été observés en fonction du génotype du maïs (Vacheron *et al.*, 2016).

I.2.2. Effet indirecte

Contrairement aux mécanismes directs des PGPR, les mécanismes indirects se produisant à l'extérieur de la plante permettant de réduire ou arrêter les effets nuisibles des phytopathogènes (Tabassum *et al.*, 2017).

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce de *P. fluorescens*, décrites comme des bactéries phytoprotectrices jouant un rôle prépondérant dans le biocontrôle de la rhizosphère (Walsh *et al.*, 2001). Elles sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires dans certains champs ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes « *in vitro* » (Chin *et al.*, 2003), cela peut nuire à la croissance saprophyte de plusieurs agents pathogènes et ainsi réduire la sévérité de la maladie (Frey *et al.*, 2006).

L'environnement rhizosphérique et antagoniste bactérien peuvent être mises en évidence Selon (Beneduzi *et al.*, 2012), via les mécanismes suivants :

- ❖ La concurrence pour les nutriments et la colonisation appropriée des niches à la surface racinaire ;
 - ❖ La production de sidérophores et des antibiotiques ;
 - ❖ La synthèse des enzymes hydrolytiques, telles que les chitinases, les glucanases, les protéases, et les lipases, qui peuvent lyser les cellules fongiques pathogènes ;
- L'induction de la résistance.

I.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments

La compétition est l'interaction indirecte dans laquelle les pathogènes présents dans la rhizosphère sont en concurrence les uns avec les autres pour la nourriture et pour l'occupation physique du site. L'environnement de la rhizosphère est souvent limité en nutriments, et pour que les microbes réussissent à coloniser et à survivre, ils occupent les sites où l'eau et les nutriments sont assimilables, et contenant du carbone facilement disponible. Ainsi, pour que les microbes puissent survivre dans un tel environnement, ils sécrètent des sidérophores qui ont une forte affinité avec le fer et rendent moins disponible aux pathogènes et inhibent leur dans la rhizosphère (Tabassum *et al.*, 2017).

Les espèces de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont un grand pouvoir de chélation du fer et pourraient rendre l'ion ferrique inaccessible aux autres microorganismes (MercadoBlanco et Bakker, 2007).

Certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* sont dotées d'une capacité agressive à coloniser les racines des plantes (Haas et Keel, 2003). La réduction de la maladie peut être le résultat d'une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les microorganismes pathogènes et par conséquence, leur croissance (Messaoudi, 2015).

I.2.2. Production des antibiotiques

Les antibiotiques sont des toxines de bas poids moléculaire produites par Les communautés bactériennes qui peuvent tuer ; ou empoisonner d'autres microbes. Cependant, les biosurfactants sont des composés amphiphiles qui peuvent causer une fuite des composant cellulaire, en interagissant avec les membranes de micro-organismes nuisibles. Plusieurs antibiotiques et des toxines ont été identifiées à partir de la population bactérienne vivant dans la rhizosphère (Tabassum *et al.*, 2017).

Les PGPR, comme *Bacillus* spp. Et *Pseudomonas* spp., jouent un rôle majeur dans l'inhibition des micro-organismes pathogènes à travers la production des antibiotiques.

La plupart des espèces de *Pseudomonas* produisent une grande variété d'antibiotiques tels : l'amphisine, le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène, l'oomycine A, la phénazine, la pyolutéorine, la pyrrolnitrine, la tropolone et lipopeptides cycliques (Goudaa *et al.*, 2018).

a. 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG)

Ce composé était également impliqué dans l'élicitation des défenses des plantes par la résistance systémique induite, et directement dans la modulation de l'équilibre hormonal des plantes en agissant comme un composé mimétique de l'auxine. La synthèse de DAPG a été jusqu'à présent associée à la présence du groupe de gènes *phl*, comprenant l'opéron *phlACBDE* et d'autres gènes tels que *phlF*, *phlG*, *phlH* et *phlI* (Almario *et al.*, 2017).

Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes associées aux plantes, produisent le DAPG (Velusamy *et al.*, 2006), il est produit par *P. fluorescens* à la fois *in vitro* et dans la rhizosphère du blé (Marchand *et al.*, 2000). Il possède des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et antihelminthiques, et joue un rôle important dans la lutte biologique (Velusamy *et al.*, 2006).

b. Les phénazines (PHZ)

Les phénazines sont des métabolites secondaires aromatiques colorés contenant de l'azote produits par diverses espèces de bactéries (Hadla et Halabi, 2018).

Les mécanismes d'action comprennent l'accumulation de molécules toxiques telles que le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde en raison du potentiel rédox de la phénazine ; et élicitation de la résistance induite à l'hôte (Mousa et Raizada, 2015). Les excrètent en grande quantité dans l'environnement sous une forme visible à l'œil nu, les chercheurs ont identifié plus de 100 origines naturelles de phénazines, ayant une activité antimicrobienne contre les bactéries et les champignons des plantes (Hadla et Halabi, 2018). Leur rôle dans la

compétition écologique se traduit également par une action directe sur le biocontrôle des pathogènes racinaires fongiques. Il a ainsi été montré que les phénazines permettent d'inhiber la croissance de champignons phytopathogènes tels que *Gaeumannomyces graminis*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Gibberella avenacea* ou *Drechslera graminea* (Barakat, 2012), par leur capacité oxydo-réductrice cellulaire ; en présence d'oxygène et d'agents réducteurs (incluant le NADH et le NADPH), causant ainsi l'accumulation de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène toxique (Mezaache, 2012).

c. Pyolutéorine (PLT)

La pyolutéorine (PLT) est un antibiotique polycétide phénolique aromatique (Vinay *et al.*, 2016), peuvent agir de manière synergique pour supprimer de telles maladies fongiques transmises du sol, certaines études suggérant que les deux voies de biosynthèse interagissent (Mousa et Raizada, 2015).

Doté de propriétés bactéricides, herbicides et fongicides, le Plt peut supprimer la fonte des semis causée par le champignon *Pythium ultimum* dans le coton (Mousa et Raizada, 2015). Est produite par plusieurs espèces de *Pseudomonas* (Meliani, 2012), mais son rôle dans la suppression d'agents phytopathogènes a été étudié surtout chez les souches de *P. fluorescens* (Brodhagen *et al.*, 2004 ; Meliani, 2012).

d. Cyanure d'hydrogène (HCN)

Les souches de *Pseudomonas* produisent une gamme de métabolites bioactifs volatils, y compris le cyanure d'hydrogène (HCN) (Ossowicki *et al.*, 2017). L'HCN a été étudié pour ses propriétés antifongiques et son implication dans la suppression des maladies telles que la pourriture noire des racines du tabac (Paulin, 2017), d'agents pathogènes comme *Septoria tritici* et *Puccinia recondita* (Allaire, 2005) et peut participer à l'inhibition de nombreuses métallo-enzymes (Mousa et Raizada, 2015 ; Ossowicki *et al.*, 2017).

I.2.3. Enzymes extra cellulaire dégradant les parois fongiques

L'excrétion d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques est fréquemment impliqué dans les attaques des champignons phytopathogènes (Martin et Loper 1999 ; Nielsen et Sorensen, 1998 ; Picard *et al.*, 2000 ; Beneduzi *et al.*, 2012 ; Ramadan *et al.*, 2016).

La lyse des parois cellulaires, par les enzymes dégradatives excrétées par les microorganismes est une fonction bien connue du mycoparasitisme. La Chitinase, la β -1,3 glucanase et la cellulase sont d'importantes enzymes spécialement dans le contrôle fongique, par leurs activités dégradatives des composés des parois cellulaires tels que : la chitine, le β 1-6 glucane et les ponts glucosidiques (Schroth et Hancock, 1981 ; Chet, 1987 ; Lorito *et al.*, 1996). Les microorganismes excrétant la chitinase ont été rapportés comme des agents de biocontrôle efficaces (Ordentlich *et al.*, 1988 ; Inbar et Chet, 1991 ; Kumar *et al.*, 2011). Le contrôle biologique de *Fusarium solani*, se fait essentiellement via les activités des laminarinase et chitinase chez *P. stutzeri* YPL-1 (Lim *et al.*, 1991). Nielson *et al.*, (1998) ont rapporté que dans la rhizosphère de la betterave à sucre, les *Pseudomonas* spp. fluorescents inhibaient *R. solani* par production d'endoctrinasse.

I.2.4. Induction d'un système de résistance (ISR)

Les PGPR fournissent une stratégie alternative pour protéger la plante contre les maladies via la résistance systématique induite (ISR). La reconnaissance par la plante de certaines bactéries de la rhizosphère peut conduire à une réaction d'immunisation lui permettant de mieux se défendre vis-à-vis d'une attaque par un organisme pathogène (Van Loon *et al.*, 2005 ; Jourdan *et al.*, 2008 ; Goswami *et al.*, 2016). L'expression de mécanismes de défense systémiques chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes (Meliani 2012), en produisant différents signaux qui se propagent de façon systémique à l'intérieur de la plante. Les plantes répondent aux signaux envoyés par la bactérie soit en produisant des substances antagonistes ou en induisant une résistance aux agents pathogènes (Jourdan *et al.*, 2008 ; Benhamou et Rey, 2012 ; Tabassum *et al.*, 2017).

Parmi ces rhizobactéries les *Pseudomonas* spp fluorescents qui ont la capacité d'induire une résistance (ISR) chez la plante contre les champignons phytopathogènes. Ce phénomène d'induction de résistance systémique par les rhizobactéries est considéré comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures (RamosSolano *et al.*, 2008).

I.2.5. Modification de l'équilibre microbien

La microflore rhizosphérique est naturellement constituée d'un assemblage complexe de microorganismes procaryotes et eucaryotes, dont la croissance, la santé des plantes et leur diversité sont influencées par la diversité des populations des microorganismes présents dans la rhizosphère (Lemanceau, 1992 ; Whipps, 2001 ; Weller *et al.*, 2002 ; Van der Heijden *et al.*, 2009). Parmi cette microflore les *Pseudomonas* fluorescents qui ont une grande compétence rhizosphérique, qui est défini par la capacité d'une souche à se distribuer le long des racines de la plante hôte, à se multiplier et à survivre pendant plusieurs semaines (Weller, 1988).

I.2.6. La formation de biofilm

La compétition et la capacité à coloniser les racines des plantes pendant la transition du style de vie libre vers le mode de vie associé aux racines est très important pour un potentiel PGP (Souza *et al.*, 2015). Les PGPR sont efficaces pour la racine de la plante lorsqu'ils se multiplient en micro colonies, produisent un biofilm à la suite d'une interaction plante microbe. Les biofilms associés aux plantes sont hautement capables de fournir une protection contre le stress externe. Le biofilm agit comme une barrière protectrice qui empêche la pénétration du pathogènes, et sécrète également diverses enzymes (Gupta *et al.*, 2017), en diminuant la compétition microbienne et en conférant des effets protecteurs à la plante hôte, ce qui favorise la croissance, le rendement et la qualité des cultures (Kasim *et al.*, 2016).



**Matériel et
méthodes**



II. Matériel et Méthodes

Vue l'importance que présente les *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le biocontrôle des maladies des plantes, l'objectif est d'évaluer l'effet bénéfique des certains isolats bactériens isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanées des régions arides et semi arides.

Le présent travail a été réalisé aux laboratoires de l'université Amar Telidji Laghouat faculté des sciences, département des sciences agronomique. D'où l'expérimentation est conduite en deux essais, le premier consiste à chercher des antagonistes vis-à-vis des deux champignons phytopathogène, le *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi (FOP) et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (FOA) , le deuxième essai vise le biocontrôle *in vitro* des champignons transmis par la semences du haricot.

II. 1. Matériel biologique

II.1.1. Isolats bactériens

Dans la présente étude, nous avons utilisé des isolats de *Pseudomonas* spp. fluorescent, qui ont été isolée de la rhizosphère de certaines plantes spontanée des zones arides et semi arides présenté dans le (**Tableau 1**) suivant, et identifiée au niveau du laboratoire de département science agronomique à l'université d'Amar Thlidji Laghouat, dans ce travail nous avons récupéré les souches précédentes qui ont été conservé à une température de 4°C, et nous avons procédé à une réactivation sur le milieu gélosé KB (Annexe1), a une température 28±2°C pendant 24 heure .

Tableau 1. Origine des souches *Pseudomonas* spp. fluorescent .

Code	Origine rhizosphériques	Date d'isolement
P12	<i>Ziziphus lotus</i>	2014
P212	<i>Ziziphus lotus</i>	2015
P432	<i>Pistacia atlantica</i>	2015
AZ24	<i>Pistacia atlantica</i>	2016
P107	<i>Retama retam</i>	2016
AS02	<i>Astragalus armatus</i>	2016
T4	<i>Tamarix gallica</i> L	2019
T32	<i>Tamarix gallica</i> . L	2019

II. 1. 2. Isolats fongiques

Les Isolats fongiques utilisés pour effectuer cette expérience sont des champignons phytopathogènes, *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi (FOP) et *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (FOA) récupérée aux laboratoires de l'université Amar Thledji Laghouat département d'agronomie, réactive sur milieu PDA à une température $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (**Figure 3**)

II.1. 3. Matériel végétal

Pour l'essai du biocontrôle *in vitro* des champignons transmis par semence, nous avons utilisé une semence du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.), appartenant à la variété Tema, récolté en 2019, originaire des pays bas.

II.2. Recherche des antagonistes *in vitro*

Cet essai a été effectué pour la recherche d'activité antagoniste de huit isolats bactériens sélectionnés vis-à-vis de deux agents phytopathogènes (FOP), (FOA) par une confrontation directe.

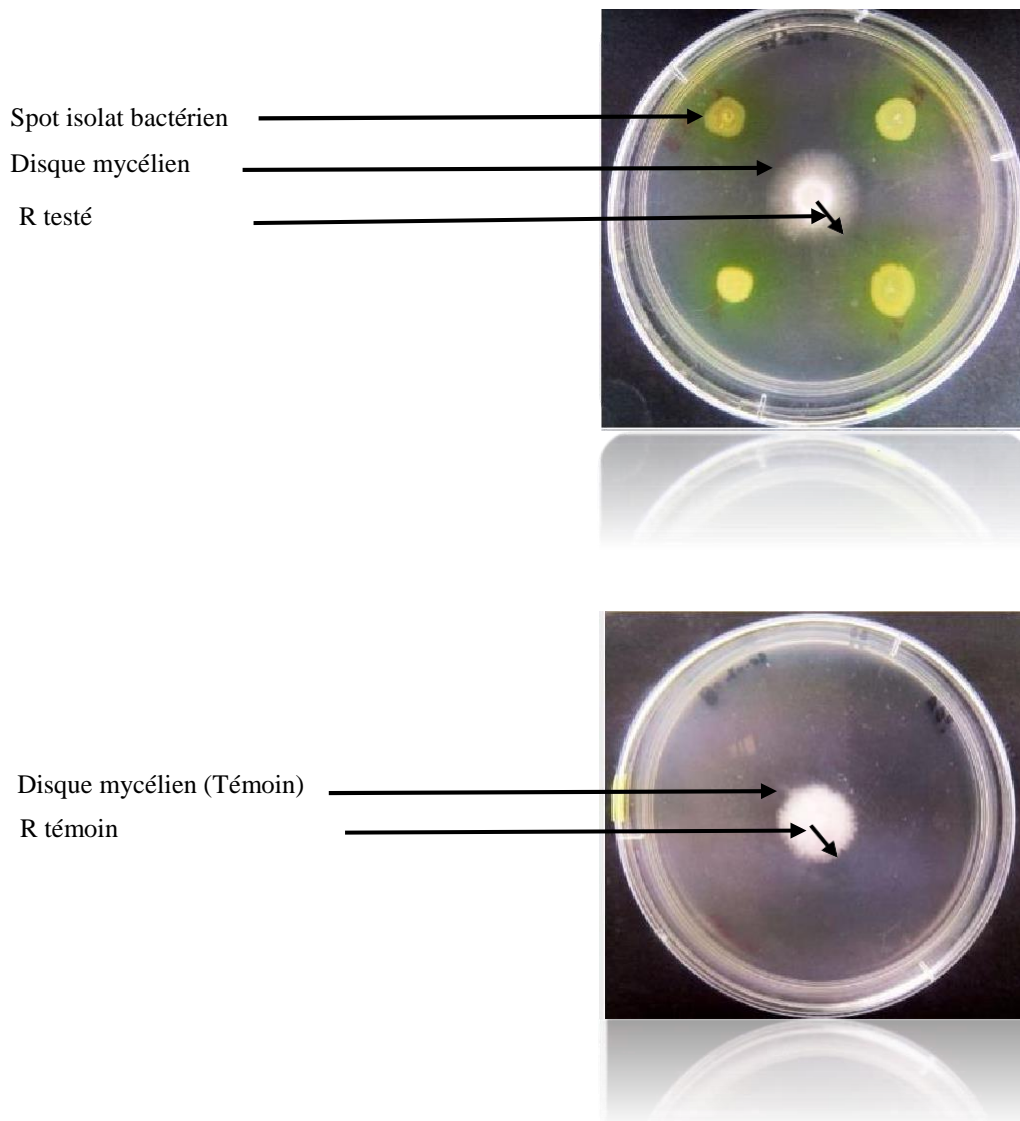
Les huit isolats jeunes âgés de 24 h, testés pour l'inhibition de la croissance mycélienne, ont été ensemencés sur quatre milieux de culture solide King B, PDA, TSA, MH (Annexe 1) où la crème bactérienne déposée en quatre spots bactériens au périphérique de la boîte de Pétri à 2 cm du centre de la boîte. Par la suite les disques de 5 mm de diamètre du champignon phytopathogène (FOA) ou (FOP) âgés de 7 jours ont été également déposés au centre de la boîte de Pétri, après 24h d'incubation des bactéries pour le premier essai, et pour le deuxième essai ont été déposés après 72h de l'incubation des bactéries antagonistes, et toutes les boîtes ont été incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pour estimer l'activité antifongique nous avons déposé des disques pour chaque champignon testé seul comme des témoins sur d'autres boîtes. L'essai a été réalisé en trois répétitions.

La lecture des résultats a été faite par la mesure de la distance parcourue par le mycélium de l'isolat fongique en direction de l'antagonisme bactérien à l'aide d'un pied à coulisse. Le taux d'inhibition a été calculé selon Trivedi *et al.* (2008) comme suit :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = (\text{R témoin} - \text{R testé}) / \text{R Témoin} * 100$$

- ❖ **R témoin** : distance de la croissance radiale du mycélium de l'isolat fongique témoin
- ❖ **R testé** : distance de la croissance radiale du mycélium de l'isolat fongique en présence de bactérie.



Source original 2020.

Figure 3. Technique de l'essai d'antagonisme *in vitro* par confrontation directe.

II.2. 1. Dispositif expérimental

Pour l'essai de l'antagonisme *in vitro*, nous avons opté pour un dispositif en randomisation totale à quatre facteurs étudié et trois répétitions :

- ✚ **Facteur 01** : correspond aux souches bactériennes avec huit niveau (P107, P212, AS02, P432, P12, AZ24, T4, T32).
- ✚ **Facteur 02** : correspond au milieu de culture avec quatre niveau (KB, PDA, TSA, MH).
- ✚ **Facteur 03** : correspond au temps avant l'introduction du champignon avec deux niveau (24h,72h).
- ✚ **Facteur 04** : correspond au champignon phytopathogène avec deux niveau (FOA, FOP)

II.3. Essais de biocontrôle *in vitro* des champignons transmis par semences

Pour étudier l'effet des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur le biocontrôle *in vitro* des champignons transmis par la semence du haricot en utilisant deux isolats bactérienne AS02 et T32 . L'essai a été réalisé par une semence désinfectée et une semence non désinfectée.

II.3.1. Désinfection superficielle de la semence

Les graines du haricot ont subi une désinfection superficielle par trempage dans une solution chlorure de mercure (HgCl_2) (0.1%) pendant 1 min, ensuite nous avons réalisé cinq rinçages successifs à l'eau distillée stérile pour chaque lot de semence, afin d'éliminé le reste de l'agent désinfectant pendant 2 minute chacun, en suite ces graines sont placées sur du papier buvard stérile pour séchage. Pour la semence sans désinfection nous avons passé directement aux cinq rinçages successifs à l'eau distillée stérile des graines et le séchage. **(Figure 4).**

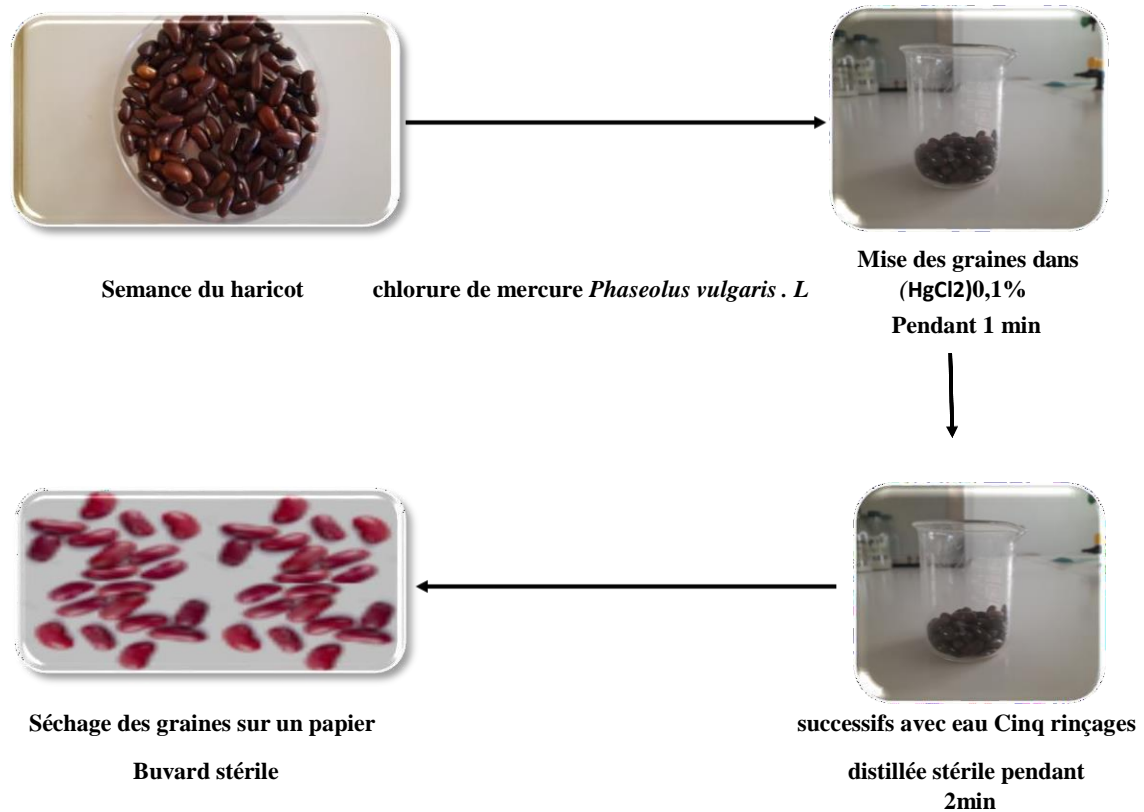


Figure 4. Méthode de la désinfection des semences du haricot *Phaseolus vulgaris . L*

II.3.2. Préparation des suspensions bactériennes

Une suspension bactérienne est préparée, à partir des deux isolat AS02 et T32 du *Pseudomonas* spp. fluorescents cultivée individuellement sur le milieu King B (Annexe 1), les colonies bactériennes âgées de 24 h sont raclées et mise dans des flacons contenant de l'eau distillée stérile, à l'aide d'un spectrophotomètre à une densité optique (DO) de 600 nm, la concentration a été estimée à 10^8 UFC/ml pour chaque suspension (**Figure 5**).



Figure 5. Méthode de l'obtention de l'inoculum bactérien.

II.3.3. Bactérisation de la semence

La bactérisation des graines a été réalisé par des suspensions bactériennes déjà préparées à partir d'une crème bactérienne âgées de 24 heures prélever sur milieu King (cf. II.3.2), la bactérisation a été effectué par trempage des graines dans chaque suspension bactérienne

respective pour une nuit, les semences témoins (non bactérisées) ont été mise dans l'eau distillée stérile.

Le lendemain, les graines sont disposées sur du papier filtre stérile pour séchage, en suit elles sont placées sur deux milieu de culture PDA et malt (Annexe 1), a raison de cinq graines dans chaque boîte de Pétri.

II.3.4. Dispositif expérimental

Les boîtes de Pétri contenant du milieu de culture (PDA ou malt) à raison de cinq graines par boîte, et dix boîtes pour chaque traitement, ont été arrangé en randomisation totale, représentées par l'interaction des trois facteurs étudiés cités ci-dessous, Par la suit ces boîtes ont été incubé a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 6 jours avec une notation quotidienne.

- ✚ **Facteur 01** : correspond à la bactérisation, avec trois niveaux, les souches bactériennes (AS02, T32), et témoin non bactérisée.
- ✚ **Facteur 02** : correspond aux désinfections, avec deux niveaux, sans désinfection et avec désinfection.
- ✚ **Facteur 03** : correspond au milieu de culture avec deux niveau PDA et malt.

Les douze traitements en question sont :

- ❖ **T1, T2, T3** : représente les graines désinfectées déposées sur milieu malt bactérisé par AS02, T32 et le témoin non bactérisé respectivement.
- ❖ **T4, T5, T6** : représente les graines désinfectées déposées sur milieu PDA et bactérisé par AS02, T32 et le témoin non bactérisé respectivement.
- ❖ **T7, T8, T9** : représente les graines sans désinfection déposées sur milieu malt, et bactérisée par AS02, T32 et le témoin non bactérisé respectivement.
- ❖ **T10, T11, T12** : représente les graines sans désinfection déposées sur milieu PDA, et bactérisée par AS02, T32 le témoin non bactérisé respectivement.

II.3.5. Paramètres étudiés

Taux de contamination

Le taux de contamination a été révélée par le nombre de graines contaminé sur le nombre total des graines fois cent selon l'équation suivante :

$$\text{Taux de contamination (\%)} = (\text{nombre de graines infectés} / \text{nombre total des graines}) * 100$$

Identification des champignons

L'identification des champignons isolés a été basé sur les critères culturaux et microscopiques, à l'aide des clés d'identification, Champion,1997 ; Navi 1999 ; Pitt et Hocking, 2009 ; Watanabe,2002 ; Watanabe,2010 ; et Watanabe,2018.

II.4. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été basée sur l'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée en considérant l'essai aléatoire à l'aide du logiciel stat box végétal 6.9 version d'essai. La comparaison des moyennes est établie par le test de Nexman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5%. Pour la classification ascendante hiérarchique (CAH), Nous avons utilisé le logiciel XLSTAT.

Résultats et discussion

discussion

II. Résultats

Les résultats représentés dans cette partie sont issus de l'essai effectué pour mettre en évidence l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. fluorescent isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanées de régions arides et semi arides, considérées comme PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dans la lutte biologique. Premièrement par la recherche de l'effet antagoniste des souches bactériennes contre deux champignons *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*, et deuxièmement par le biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot.

D'après les résultats de l'analyse de variance réalisé sur les résultats obtenus de l'essai d'antagonisme *in vitro*, contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, ont indiqué une différence très hautement significative ($P = 0,000$) pour l'ensemble des interaction et les facteurs étudiés, par ailleurs contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* ont présenté une différence très hautement significatifs ($P = 0,000$) pour deux facteurs, le facteur bactéries et le facteur milieux et une seule interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur temps d'incubation, tandis que le facteur temps d'incubation et les autres interactions soient l'interaction entre le facteur bactéries et le facteur milieux, l'interaction entre le facteur milieux et le facteur temps d'incubation, et interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur temps d'incubation ont montré une différence non significatifs ($P = 0,990$).

L'analyse de la variance réalisée en même temps sur les résultats obtenus contre les deux champignons *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, a montré des différences très hautement significatives ($P = 0,000$) pour l'ensemble des facteurs étudiés ou interactions, exception faite pour l'interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur temps d'incubation, l'interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur champignons et l'interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux, facteur temps d'incubation et facteur champignons sont non significatif ($P = 0,990$).

Nous ne pouvons pas présenter ci-dessous les résultats des interactions entre les trois facteurs, le facteur bactéries, le facteur milieux et le facteur temps de l'incubation, en plus de l'interaction entre les quatre facteurs, le facteur bactéries, le facteur milieux, le facteur temps d'incubation et facteur champignons, parce que nous avons utilisé une version d'essai du logiciel stat box végétal où les comparaison entrés moyenne selon le test de Newman-

keuls ($\alpha = 5\%$) est limité à 50 moyennes, alors que dans nos essais elles dépassent ce chiffre, nous nous sommes contentés de l'ANOVA.

Pour l'essai de biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot, nous avons présenté les taux de contamination ainsi qu'une identification préliminaire des champignons isolés.

III.1.1. Essai d'antagonisme *in vitro* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

L'étude du phénomène d'antagonisme *in vitro* a été effectuée selon la méthode de confrontation directe sur quatre milieux de culture KB, TSA, MH et PDA. L'évaluation de l'inhibition exercée par huit souches bactériennes identifiées comme *Pseudomonas* spp. fluorescents après deux temps 24h et 72h d'incubation des bactéries vis-à-vis des deux champignons (*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*), est estimée par le calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

III.1.2. Taux d'inhibition des deux champignons *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

L'analyse statistique (Annexe 1), a révélé une différence très hautement significative ($P : 0,000$) pour l'ensemble des interactions et les facteurs quatre étudiés, facteur bactéries, facteur milieux, facteur temps d'incubation et le facteur champignons, à l'exception de l'interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur temps d'incubation, l'interaction entre le facteur bactéries, facteur milieux et facteur champignons et l'interaction entre les quatre facteurs, le facteur bactéries, facteur milieux, facteur temps d'incubation et facteur champignons qui sont non significatifs ($P = 0,990$).

Facteur bactéries

Les analyses de variance (Annexe 1), pour le facteur bactéries a présenté une différence très hautement significative ($P : 0,000$), le meilleur taux de 48,85% a été obtenu par l'isolat

AZ24 classé dans le groupe homogène (A), par ailleurs l'isolats (P432, T32) ont été classé dans le groupe homogène (B) avec une moyenne de 47,24 % et 47,60 % respectivement, tandis 'que le groupe homogène (C) a relevé les moyennes les plus basses entre 45,68 % , 45,85 % , 45,86 % , 46,06 % , 46,10% respectivement par les isolats (P12 , P107 T4 , P212 , ASO2) (**Figure 6**).

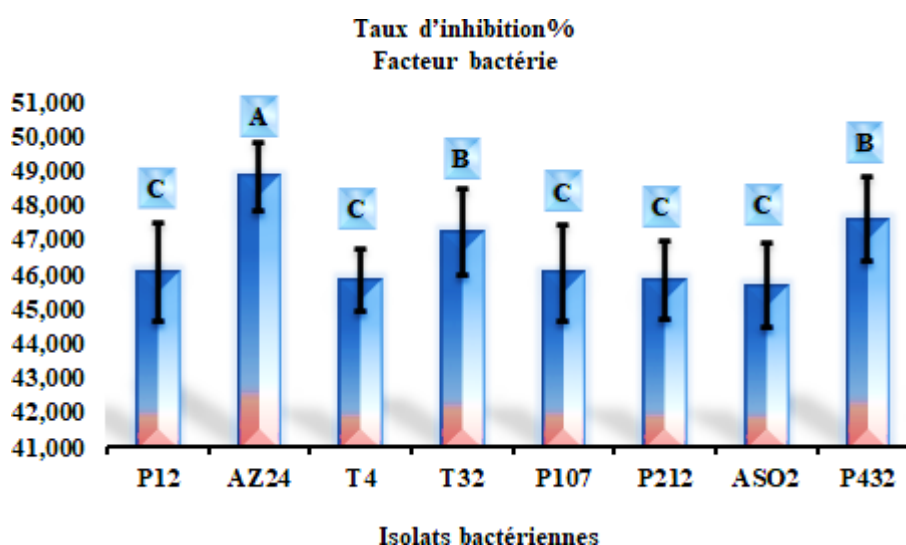


Figure 6. Effet de facteur bactérie sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-Keuls ($\alpha = 5\%$).

FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*

✚ Facteur milieu

L'analyse de variance (Annexe 1), a permis de montrer une différence très hautement significatifs ($P : 0,000$), pour le facteur milieu, la meilleur performance a été notée sur le milieu TSA avec une moyenne maximale de 54,06 % classé dans le groupe homogène (A), suivi par milieu KB avec une moyenne de 47,93 % classé dans le groupe homogène (B) notamment la moyenne de 43,78% a été obtenu sur le milieu PDA notée sur le groupe homogène (C), tandis que la plus faible moyenne de 40,80 % a été obtenus sur le milieu MH classé dans le groupe homogène (D) (**Figure 7**).

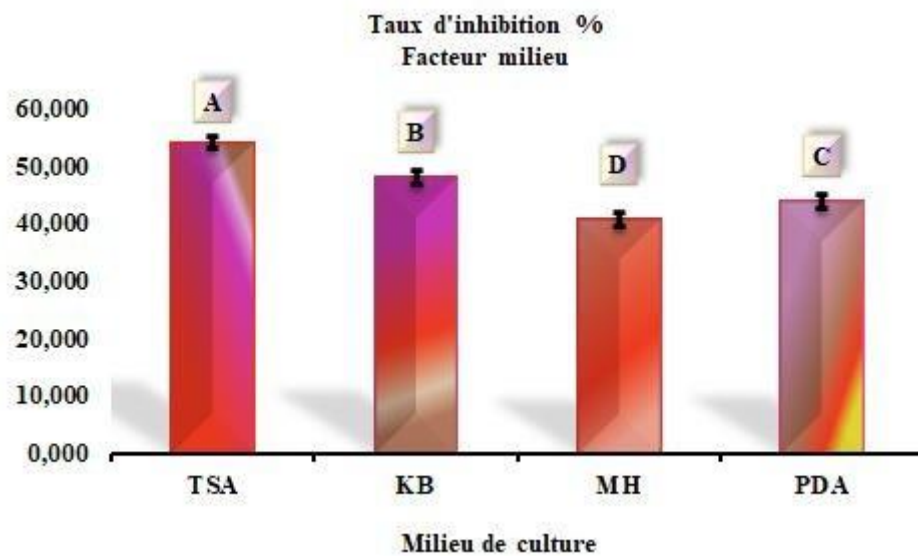


Figure 7. Effet de facteur milieu sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*

✚ Facteur temps d'incubation

D'après les résultats obtenus sur l'analyse de variance (Annexe 1), ont présenté une différence très hautement significative ($P : 0,000$), pour le facteur étudié qui présente la meilleure moyenne enregistrée après 72 h d'incubation avec une moyenne de 48,49 % classé dans le groupe homogène (A), par ailleurs la moyenne la plus faible a été notée après 24h d'incubation par la plus faible moyenne de 44,81 % classé dans le groupe homogène (B). (Figure 8).

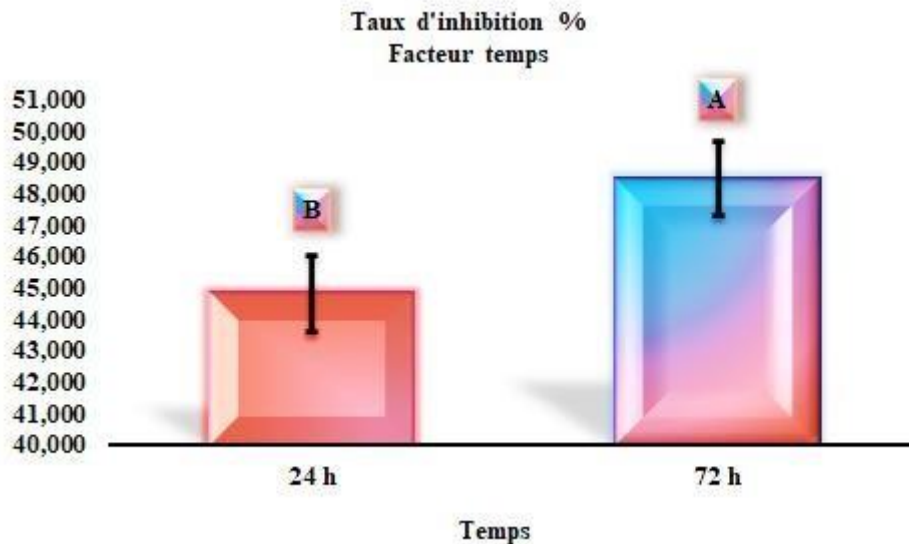


Figure 8. Effet de facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

24h, 72h temps d'incubation des bactéries avant le dépôt du champignon FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*, FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*

Facteur champignons

Selon l'analyse de variance (Annexe 1), effectuée par le facteur champignon est très hautement significatif ($P : 0,000$), la moyenne maximale a été obtenue contre le champignon FOP avec une moyenne de 50,60 % classé dans le groupe homogène (A), par contre le champignon FOA a enregistré une moyenne de 42,71 % classé dans le groupe homogène (B) (Figure 9).

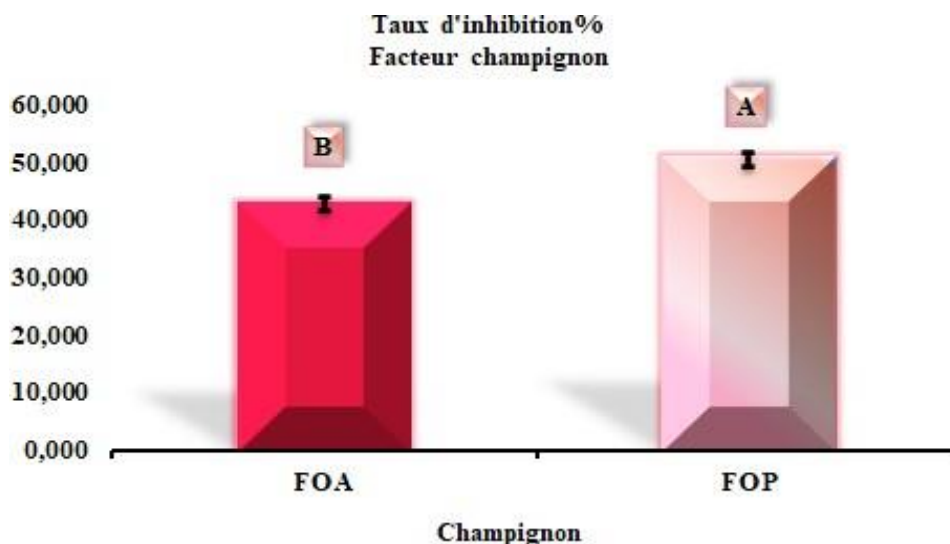


Figure 9. Effet de facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA. Les valeurs suivies de la même lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*

✚ Interaction entre facteur bactérie et facteur milieu

L'analyse de variance (Annexe 1), a révèlé une différence très hautement significatifs pour les deux facteurs étudié ($P : 0,000$), l'isolat AZ24 sur le milieu TSA a présenté une activité inhibitrice notable et nettement supérieur avec une moyenne de 59,38% classé dans le groupe homogène (A), suivi par l'isolat P432 sur le milieu TSA classé dans le groupe homogène (B) avec une moyenne de 55,56 %, les autres traitements ont été classé dans 15 groupes homogènes (B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P) avec une moyenne allant de 39,38 % jusqu'à 55,56 % respectivement , alors que 'une faible moyennes a été obtenu par l'isolat P212 sur le milieu MH avec une moyenne de 37,24% classé dans le groupe homogène (q) (**Figure 10**).

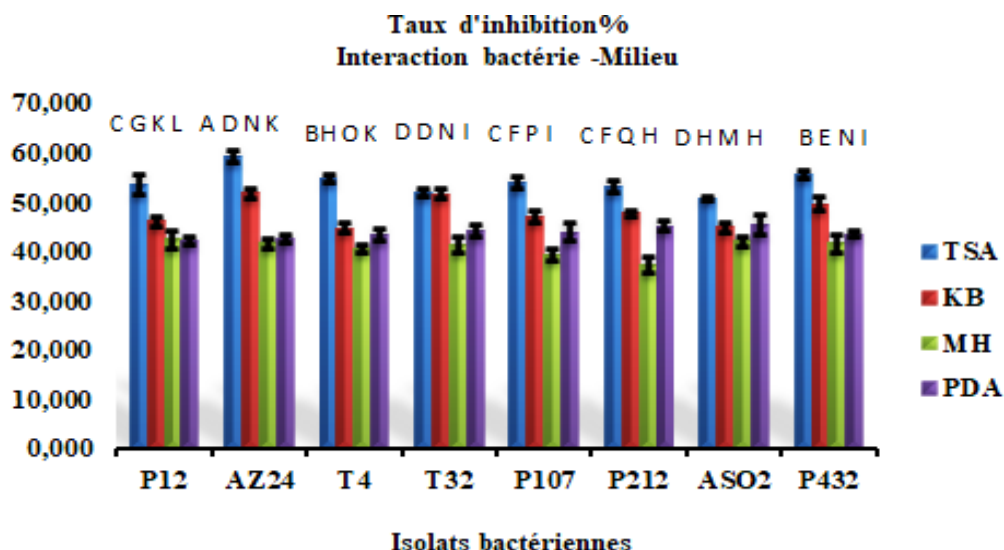


Figure 10. Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur milieu sur le taux d'inhibition du FOP et FOA

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

TSA, KB, MH, PDA, milieux de culture
FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

✚ Interaction entre facteur bactérie et facteur temps d'incubation

L'analyse de variance (Annexe 1), a enregistré une différence très hautement significative ($P : 0,000$), pour l'interaction entre le facteur bactérie et le facteur temps, la meilleure moyenne de 51,43 % a été obtenu par l'isolats AZ24 après 72 h d'incubation classé dans le groupe homogène (A), suivi par l'isolat P432 après 72h d'incubation classé dans le groupe homogène (B) avec une moyenne de 50,54 % , les autres traitement ont été classé dans cinq groupe homogène (C, D, E, F, G) avec une moyenne de 44,13 % à 50,54 % respectivement la plus faible moyenne a été constaté après 24 h d'incubation obtenu chez l'isolat T4 avec une moyenne de 43,83 % classé dans le groupe homogène (G) (**Figure 11**).

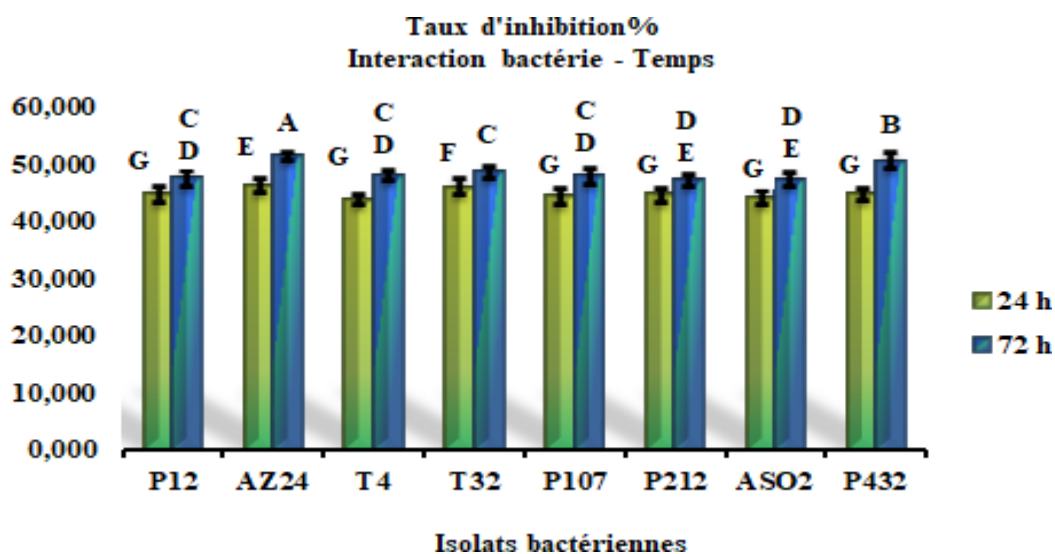


Figure 11. Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

24h, 72h temps d'incubation des bactéries avant le dépôt du champignon

FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,

FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

✚ Interaction entre le facteur bactéries et facteur temps d'incubation

L'analyse de variance (Annexe 1), a montré que le taux d'inhibition pour l'interaction entre le facteur bactérie et le facteur temps une différence très hautement significatif ($P : 0,000$), l'isolat (AZ24 et T32) contre le champignon FOP ont été classé dans le groupe homogène (A) avec la meilleurs moyennes de 52,37 % et 52,49 % , suivi par l'isolats (P107 , P212) avec une moyennes de 51,30 % et 51,46 % classé dans le groupe homogène (B) , suivi par isolats (P432 , T4, P212) contre le FOP ont été classé dans le groupe homogène (C) avec une moyenne de 49,31 % , 49,61 % , 49 , 76 % respectivement , les autres traitement ont été classé dans quatre groupes homogènes (D , E, F, G) avec une moyenne allant de 40,63 % à 48,47 % respectivement , la plus faible moyenne de 40,40 % a été constaté chez l'isolat P212 contre le FOA classé dans le groupe homogène (G) (**Figure 12**) .

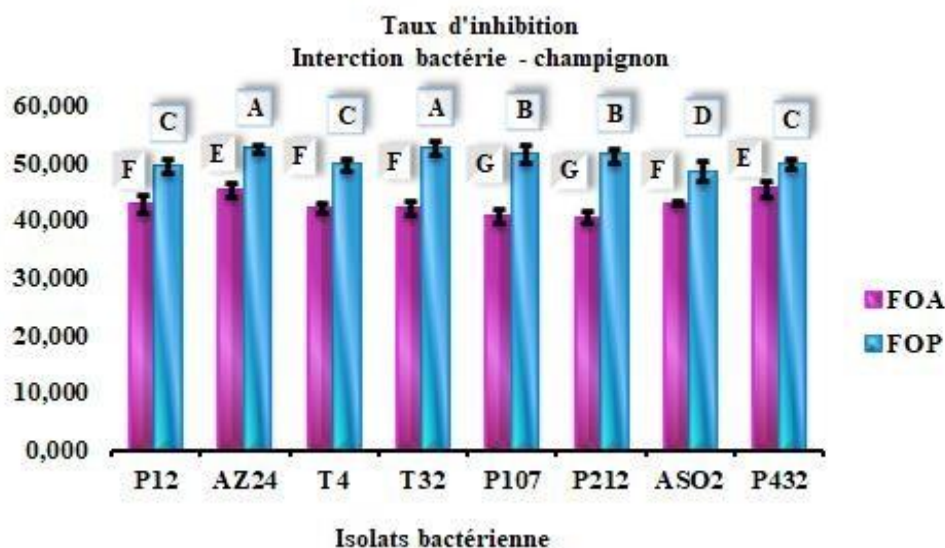


Figure 12. Effet de l'interaction entre facteur bactérie et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
 FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

✚ Interaction entre facteur milieu et facteur temps

L'analyse de variance (Annexe 1), a indiqué que le taux d'inhibition pour l'interaction entre le facteur milieu et le facteur temps une différence très hautement significatif ($P : 0,000$), la moyenne supérieure de 57,27 % a été estimée sur le milieu TSA après 72 h d'incubation classé dans le groupe homogène (A), suivi par le groupe homogène (B) qui a enregistré une moyenne de 50,91 % sur le milieu TSA après 24 h d'incubation, ensuit par le groupe homogène (C) avec une moyenne de 48,61 % obtenu sur le milieu KB après 72 h d'incubation par ailleurs le milieu KB après 24 h d'incubation a enregistré une moyenne de 47,24 % classé dans le groupe homogène (D), dans le groupe homogène (E) a enregistré sur le milieu MH après 72 h d'incubation une moyenne de 44,76 %, suivi par la moyenne de 44,23 % sur le milieu PDA après 24 h d'incubation, suivi par le groupe homogène (F) qui a estimé une moyenne de 43,33 % sur le milieu PDA après 72 h d'incubation, en final la plus faible moyenne de 36,85 % a été obtenu sur le milieu MH après 24 h d'incubation classé dans le groupe homogène (G) (**Figure 13**).

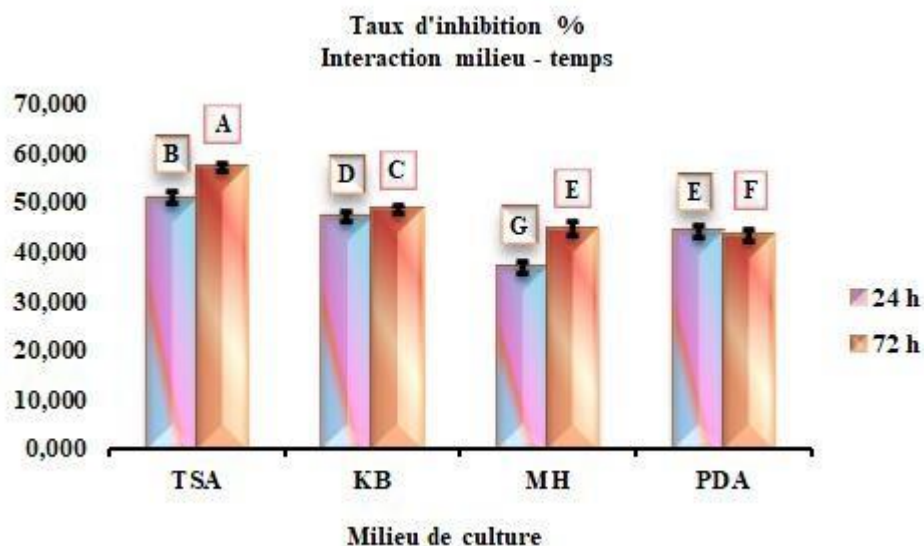


Figure 13. Effet de l'interaction entre facteur milieu et facteur temps sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

24h, 72h temps d'incubation des bactéries avant le dépôt du champignon

Interaction entre facteur milieu et facteur champignon

Selon l'analyse de variance (Annexe 1), a montré que le taux d'inhibition pour l'interaction entre le facteur milieu et le facteur champignon une différence très hautement significatif ($P : 0,000$), la meilleur moyenne de 67,47 % a été obtenu sur le milieu TSA contre le FOP classé dans le groupe homogène (A) , suivi par le groupe homogène (B) qui a enregistré une moyenne de 48,53 % sur le milieu KB contre FOA , en suite la moyenne de 47,33 % a été obtenus sur le milieu KB contre FOP classé dans le groupe homogène (C) , la moyenne de 44,54 % obtenu sur le milieu MH contre FOP et la moyenne de 44,51% obtenu sur le milieu PDA contre FOL ont été classé dans le groupe homogène (D) ,par ailleurs la moyenne de 43,05 % a été enregistré sur le milieu PDA contre FOP classé dans le groupe homogène (E) , suivi par le milieu TSA contre le FOA qui a obtenu une moyenne de 40,71 % classé dans le groupe homogène (F) , alors que la plus basse moyenne a été constaté sur le milieu MH contre FOA avec une moyenne de 37,07 % classe dans le groupe homogène (G) (**Figure 14**).

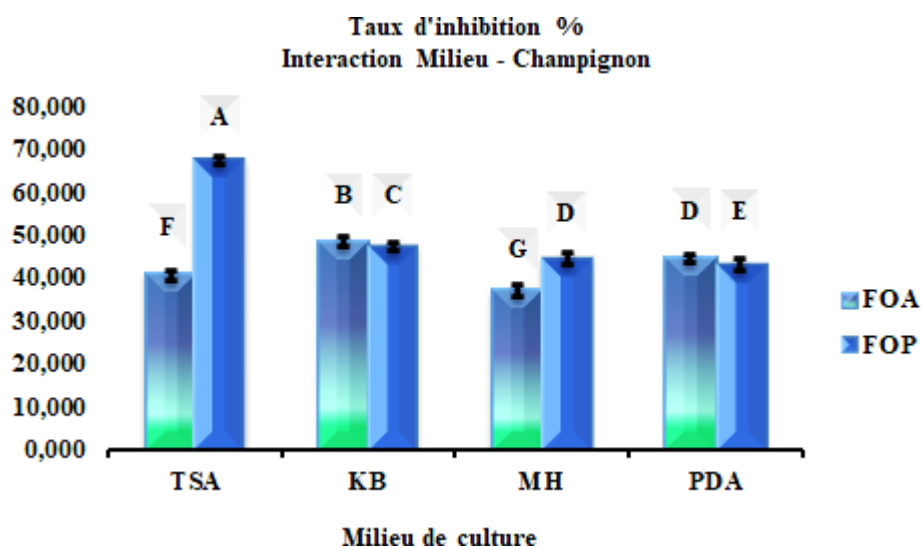


Figure 14. Effet de l'interaction entre facteur milieu et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
 FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

Interaction entre le facteur milieu et le facteur champignons

L'analyse de variance (Annexe 1), a révèle une différence très hautement significative ($P : 0,000$), pour l'interaction entre le facteur milieu et le facteur champignon la meilleure performance a été noté par FOP après 24h d'incubation avec une moyenne de 50,60 % et FOP après 72 h d'incubation avec une moyenne de 50,60 % classé dans le groupe homogène (A), suivi par le groupe homogène (B) qui a enregistré une moyenne de 44,39 % chez FOA après 72h d'incubation , tandis que la plus faible moyenne de 39,02 % a été estimé chez FOA après 24 h d'incubation classé dans le groupe homogène (C) (**Figure 15**) .

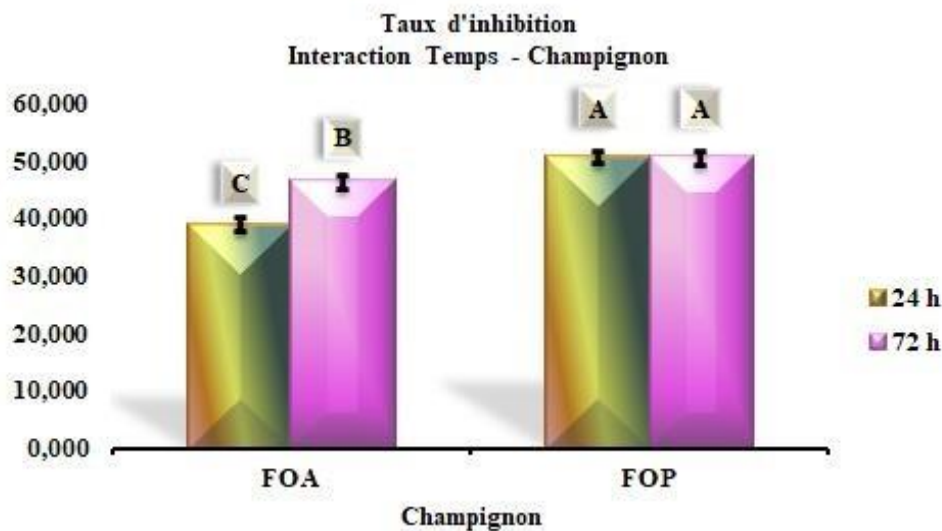


Figure 15. Effet de l'interaction entre facteur temps et facteur champignon sur le taux d'inhibition du FOP et FOA.

Les valeurs suivies de la même de la lettre appartient au même groupe homogène, selon le test de Newman-keuls ($\alpha = 5\%$).

24h, 72h temps d'incubation des bactéries avant le dépôt du champignon
 FOA. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*,
 FOP *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

III.1.3.1. La classification ascendante hiérarchique (CAH)

La classification ascendante hiérarchique (CAH), nous a permis de comprendre le comportement d'antagonisme par confrontation direct de huit isolats bactériens de *Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis deux champignons phytopathogènes (le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*) ; sur quatre milieux de culture (TSA, MH, KB et PDA).d'après cette analyse il ressort trois grandes classes C1, C2 et C3 (**figure 16**). Nous avons constaté que les huit isolats bactériens sur le milieu TSA ont été regroupé dans la classe C1, la Classe 2 (C2) regroupe les huit isolats bactériens sur les deux milieux de culture (KB et PDA) ; dans la dernière classe C3 sont regroupés les huit isolats bactériens sur le milieu MH. Ce qui nous montre que l'efficacité de l'ensemble des huit isolats bactériens et leur effet sur la croissance mycélienne sont plus obtenus sur le milieu TSA que sur les autres milieux de culture testés.

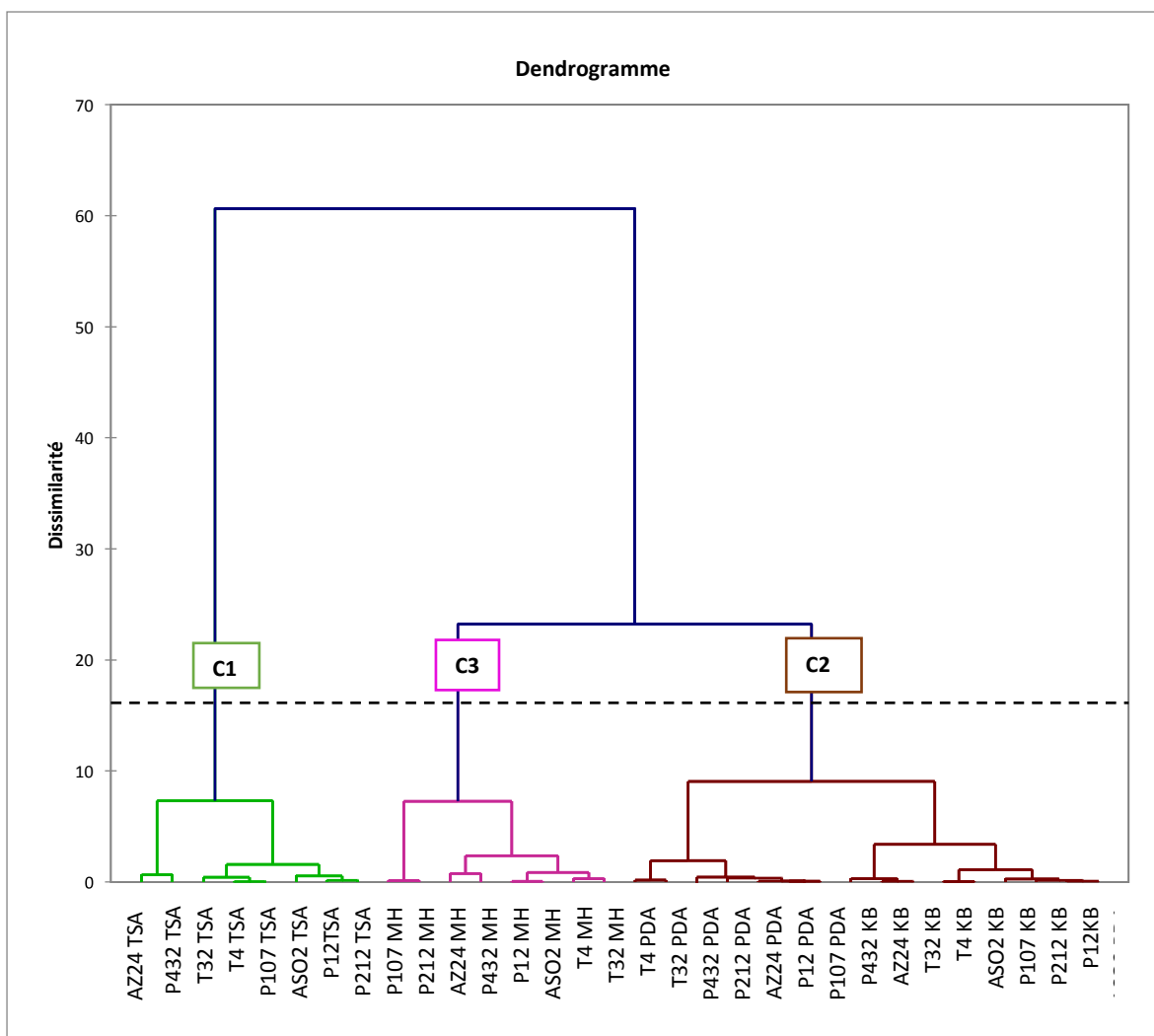


Figure 16. La classification ascendante hiérarchique (CAH) de l'effet de huit isolats bactériens de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la croissance mycélienne de deux champignons phytopathogènes (le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*) ; sur quatre milieux de culture (TSA, MH, KB et PDA).

III.2. Biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot

❖ Taux de contamination

Le tableau numéro (2), ci-dessous synthétise les taux de contamination, issus de l'essai de biocontrôle sur l'état sanitaire de la semence du haricot par deux isolats AS02 et T32 de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 2 qui indique que le témoin non bactérié a présenté des taux de contamination supérieurs à ceux enregistrés par les isolats bactériens AS02 et T32, sur les deux milieux PDA et malt, soit pour la semence désinfectée ou la semence sans désinfection, sauf sur malt, la semence désinfectée, et bactérié par AS02, a enregistré un taux égal à celui enregistré par témoin non bactérié, soit 10 %.

Nous avons constaté, que les taux de contamination enregistrés sur PDA sont supérieurs à ceux enregistrés sur malt. Tandis que sur PDA, les taux enregistrés sur la semence bactérié et désinfectée sont supérieurs à ceux sur la semence bactérié sans désinfection, de même pour la semence désinfectée et bactérié avec AS02 sur malt.

Notant aussi que sur malt, aucune contamination n'a été observée sur la semence désinfectée et bactériée par la T32, Ainsi que pour le témoin non bactérié, les taux de contamination enregistrés sur la semence désinfectée sont largement inférieurs à ceux enregistré sur la semence sans désinfection quel que soit le milieu de culture utilisé.

Tableau 2. Taux de contamination (%).

Milieu	Semance sans désinfection		Semance avec désinfection	
	PDA	Malt	PDA	Malt
Souche				
AS02	12	4	14	10
T32	2	2	8	0
Témoin non bactérié	40	38	24	10

En analysant statiquement ces résultats (Annexe 1), les résultats de l'ANOVA ont montré que l'ensemble des facteurs étudiés et leurs interactions (facteur bactériation, facteur désinfection et facteur milieu de culture) ne présentes aucune différence significative avec des probabilités entre 0,077 et 0,812, sauf pour le facteur bactériation où les résultats ont une différence significative ($P= 0,023$). Les plus faibles taux de contamination ont été enregistré par les deux isolats bactériens AS02 et T32 avec respectivement 10 et 3%, et sont

classés dans le groupe homogène (A), alors que le Témoin non bactérisé a enregistré un taux de 28 %, classé dans le groupe (B) (**Tableau 3**).

Tableaux 3. Effet du facteur bactérisation sur le taux de contamination (%).

Bactérisation	Taux de Contamination
AS02	10 A
T32	3 A
Témoin non bactérisé	28 B

III.3. Observation microscopique

Cependant, l'identification des champignons isolés, en utilisant les clés d'identification (cf.II.3.5), a révélé que certains ont été identifiés avec certitude, ils appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Alternaria* et *Penicillium*, d'autres leur identification n'est pas encore achevée.

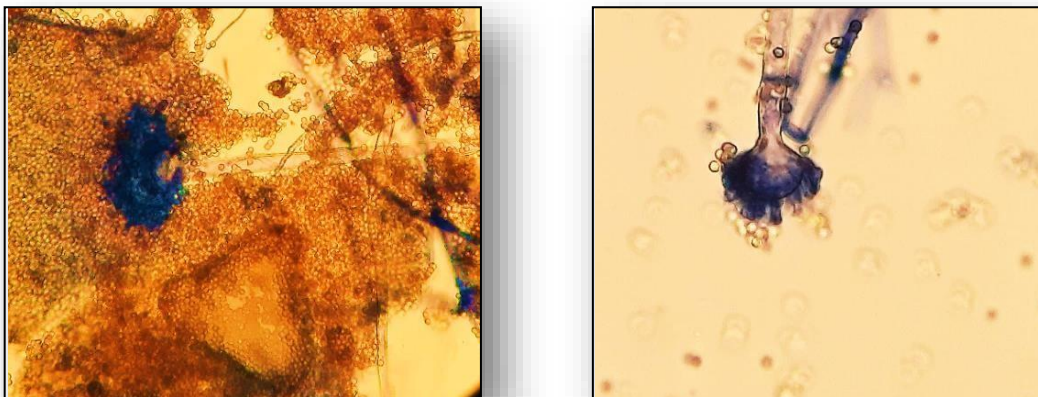


Figure 17. Aspect microscopique de *Aspergillus sp.* (Gx40).

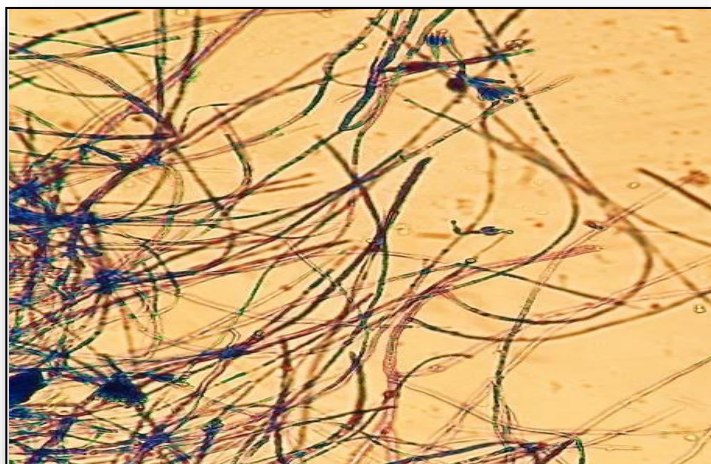


Figure 18. Aspect microscopies *Penicillium sp* (Gx40).



Figure 19. Aspects microscopies *Alternaria sp* (Gx40).

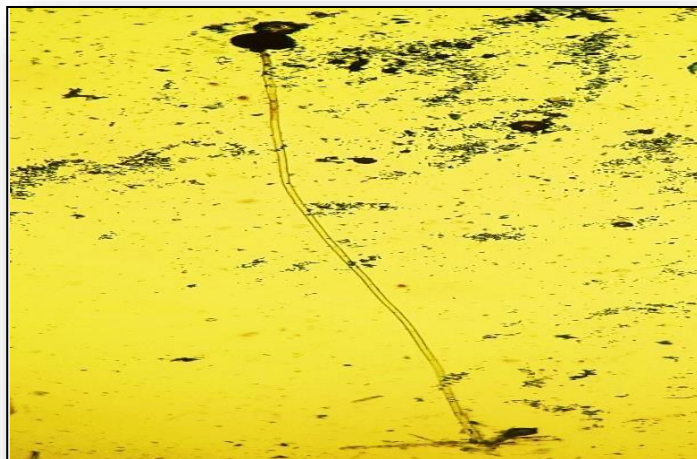


Figure 20. Aspect microscopiques *Rhizopus sp* (Gx40).

✚ Champignons non identifiés



Figure 21. Aspect microscopiques d'un champignon non identifiés.

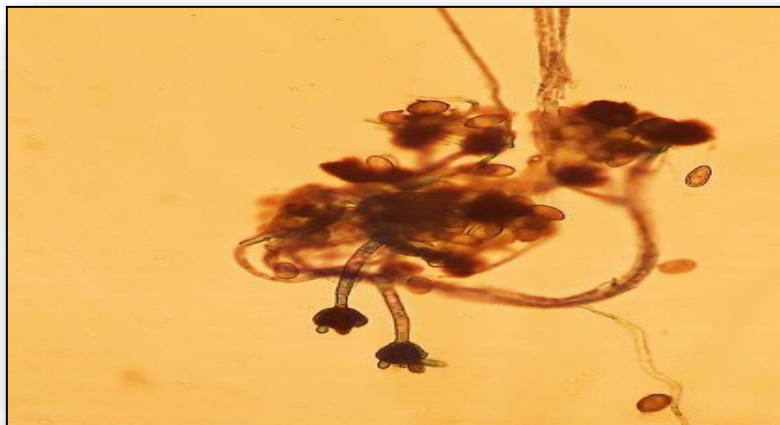


Figure 22. Aspect microscopiques d'un champignon non identifiés.

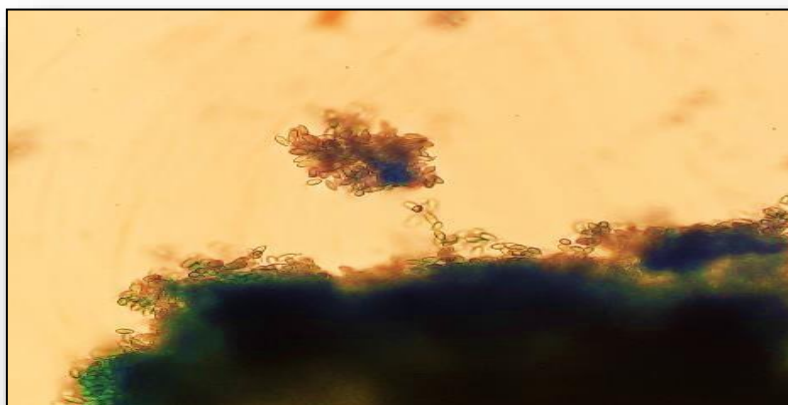


Figure 23. Aspect microscopiques d'un champignon non identifiés.



Figure 24. Aspect microscopiques d'un champignon non identifiés.



Figure 25. Aspect microscopiques d'un champignon non identifiés.

III. Discussion

Dans cette partie nous discuterons les résultats des effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. fluorescents, les résultats de l'effet antagoniste contre des deux champignons phytopathogènes, le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (FOA) et *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi* (FOP), *in vitro*. Cet essai a été réalisé par confrontation directe entre les champignons pathogènes et huit (08) isolats bactériens isolés de la rhizosphère des certaines plantes spontanées de certains régions arides et semi-arides. Et les résultats de l'effet de biocontrôle de la microflore fongique transmis par la semence du haricot.

Concernant l'activité antagoniste, taux d'inhibition varies entre 29,15 % et 70,66 %, la souche la plus antagoniste contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* selon les analyses des variances est la souche AZ24 sur le milieu de culture KB ayant un taux d'inhibition supérieur de 55,70 % . En outre, la souche AZ24 est également est considérée comme la plus inhibitrice avec un taux d'inhibition de 70,66 % sur le milieu de culture TSA contre le mycélium de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Ces deux milieux privilégiés les bactéries.

La réaction des deux champignons FOA et FOP vis-à-vis des bactéries antagonistes est avarie significativement différente, où FOP a enregistré un taux de 50.60% alors que FOA a enregistré un taux de 42,71 %. Il a apparu clairement que FOA est plus sensible à l'effet de nos isolats que FOP. Ainsi que l'effet du temps d'incubation sur l'efficacité de ces bactéries sur l'inhibition de la croissance mycélienne, nous avons constaté que FOA réagit différemment au temps d'incubation, il a enregistré un taux de 44,39 de 39,02 % après 72h et 24 h d'incubation respectivement. Alors que FOP n'a pas été affecté par le temps d'incubation des bactéries, il a enregistré un taux de 50.60% pour les deux périodes.

L'activité antagoniste exercée par les *Pseudomonas* spp. fluorescents dépend non seulement des espèces et les souches testées, mais aussi de la composition du milieu de culture (Digat, 1992). Le milieu de culture influence sur l'activité antagoniste des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, les souches bactériennes appauvrissent le milieu de

culture et inhibent ainsi la croissance du champignon (Jamalizadeh *et al.*, 2008). Elle peut être expliquée par la production d'une ou plusieurs substances antimicrobiennes. Cela dépend de l'espèce, de la nature du métabolite ainsi que la quantité libérée dans le milieu utilisé (Kamilova *et al.*, 2005 ; Validov, 2007).

Les *Pseudomonas* spp fluorescents ont été largement rapportées comme des agents de biocontrôle. Elles sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à inhiber la croissance des phytopathogènes *in vitro*. Ces bactéries antagonistes emploient différents mécanismes d'antagonismes à savoir les antibiotiques, la production des sidérophores, la sécrétions de divers enzymes, la synthèse d'hormones (Thomashow et Weller 1990 ; Piersonet Weller ; Amer et Utkhede 2000 ; Manjula *et al.*, 2000 ; Collins et Jacobson 2003 ; Jataraf *et al.*, 2005 ; Jorjani *et al.*, 2011).

Cette activité antifongique pourrait s'associer à l'implication de sidérophores. La diffusion de ses molécules a accentué le déficit en fer au voisinage de la colonie bactérienne, en conduisant à l'inhibition de la croissance mycélienne à sa proximité. Les mêmes résultats sont signalés par Albouvette *et al.* (1998). Plusieurs auteurs confirment la production des sidérophores par différentes souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (Sayyed *et al.*, 2004 ; Aditi, 2010 ; Bholay *et al.*, 2012). Cette production a été confirmés par le test Universel CAS (Bholay *et al.*, 2012). La formation d'halo orangé autour des colonies indique la chélation du Fe^{3+} par les sidérophores (Guan *et al.*, 2001 ; Sreedevi, 2014). Sur le milieu KB, le principal mécanisme mis en cause dans l'effet antagoniste des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescent pourrait être liée à la synthèse des sidérophores, suite à la production des pigments fluorescents (Hass *et al.*, 1991 ; Digat, 1992 ; Weller et Thomashow, 1993). Ces bactéries synthétisent de nombreux sidérophores chélateurs du fer ionique, qui exhibent des effets fongistatique et bactériostatique, tels que les pyoverdines (Benchabane *et al.*, 2012).

Parmi les mécanismes avec lesquels *Pseudomonas* empêche la croissance des phytopathogènes sont la synthèse des métabolites secondaires tels que les antibiotiques. Ces métabolites ont montré leur efficacité *in vitro* à l'égard des organismes pathogènes (Dahah. 2017). Beaucoup de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont capables de protéger les plantes d'une grande variété de pathogènes bactériens, fongiques et oomycètes. Cette protection,

a été principalement attribuée à la production d'antibiotiques (Thomashow et Weller,1988 ; Morrison *et al.*, 2017). Howell et Stipanovic. (1979) ont été les premiers qui ont montré que *Pseudomonas* produit un antibiotique pour le contrôle de l'agent pathogène *Rhizoctonia solani*.

Ils identifiaient la pyrrolnitrine, un métabolite secondaire responsable d'inhibition de cet agent pathogène. Un autre exemple est la production de l'acide phénazine-1-carboxylique antibiotique (Thomashow et Weller,1988 ; Morrison *et al.*, 2017). Le pourcentage d'inhibition des souches pathogènes dépend de la souche *Pseudomonas* productrice ainsi que la capacité de l'extrait phénazique de diffuser dans le milieu. Le pouvoir inhibiteur des composés phénaziques est due à la capacité oxydo-réductrice de ces métabolites qui induise l'accumulation de peroxyde d'hydrogène et les radicaux libres qui entraînent la mort de la cellule en attaquant les membranes et le matériel génétique (Mavrodi, Blankenfeldt *et al.*, 2006). Plusieurs travaux qui ont démontré la production de phénazines par les *Pseudomonas* (Thomashow et Weller,1988 ; Thomas *et al.*, 2002 ; Zhengyu Huang *et al.*, 2004 ; Perneel *et al.*, 2006 ; Park *et al.*, 2010 ; Beneduzi *et al.*, 2012 ; Parejko *et al.*, 2013 ; Morrison *et al.*, 2017). L'activité antibiotique provient d'une réaction d'oxydoréduction sur la phénazine (Gauthier, 2013), cette activité peut supprimer les agents pathogènes des plantes telles que *F. oxysporum* et *Gaeumannomyces graminis* (Beneduzi *et al.*, 2012)

En plus de l'action des antibiotiques, ou les siderophores, des substances volatiles, des enzymes sont connues comme agents principal dans la réduction de la croissance des agents pathogènes, (Alwathnani et Perveen, 2012 ; Liu, 2015). Les travaux de plusieurs auteurs ; (Fremane *et al.*, 1975 ; Askeland et Morrison,1983 Siddiqui *et al.*,2005 ; Frydenlund Michelsen et Stougaard, 2012 ; Reetha *et al.*,2014) ont démontré la capacité des différentes souches de *Pseudomonas* fluorescents à produire de l'HCN. L'HCN inhibe le cytochrome oxydase de nombreux organismes. Les souches productrices possèdent une cytochrome oxydase alternative résistante à l'HCN, et sont relativement insensibles à ce dernier (Voisard *et al.*, 1989 ; Blumer et Haas, 2000).

Nombreux travaux confirment la production d'enzyme de protéase par les souches de *Pseudomonas* (Koka et Weimer, 2000 ; Rajmohan *et al.*, 2002 ; Kalaiarasi et Sunitha,2009). Les protéases sont des enzymes extracellulaires sécrétées par les bactéries (Rajmohan *et al.*,

2002). Ils jouent un rôle dans la dégradation des parois cellulaires fongiques (Stanier *et al.*, 1966). Les chitinases, sont des enzymes hydrolytiques d'importance majeure, puisque la chitine est le constituant majeure de la majorité des parois cellulaires des champignons phytopathogènes (Kishore *et al.*, 2005). Plusieurs auteurs confirment la capacité des souches de *Pseudomonas* fluorescents de produire cet enzyme (Folders *et al.*, 2001 ; Ramyasmruthi *et al.*, 2012 et Suganthi *et al.*, 2015).

Pour l'essai du biocontrôle des champignons transmis par la semence du haricot, les résultats obtenus ont montré l'efficacité des deux isolats testés AS02 et T32 à réduire significativement le taux de contamination totale de la microflore fongique avec 10, 3% respectivement, comparais au témoin non bactérisé avec 28%, indépendamment de milieu de culture et de la désinfection ou pas de la semence.

Plusieurs souches de *Pseudomonas* sp. Ont été utilisées pour lutter contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) chez la tomate de serre. Des études menées par Postma *et al.* (2013) ont rapporté une augmentation significative des plantes saines en traitant les semences avec le *Pseudomonas chlororaphis* pour lutter contre le (FORL) chez la tomate de serre. Ces résultats confirment ceux obtenus par Puopolo *et al.* (2011), Ces derniers, avec la souche *Pseudomonas chlororaphis* M71. Validov *et al.* (2009), pour leur part, ont travaillé avec la souche *P. putida* PCL1760. Cette souche peut réduire la gravité de la maladie, mais aussi diminuer les effets négatifs de l'agent pathogène sur la germination des semences de la tomate. Un autre exemple, le traitement des graines de pois par *P. fluorescens* 63-28 a induit la production d'enzymes hydrolytiques telles que chitinases et β -1,3-glucanases. Ces enzymes hydrolytiques s'accumulent au site de pénétration de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* et par conséquent, elles peuvent être directement impliquées dans la dégradation des parois cellulaires fongiques (Benhamou *et al.*, 1996).

Sachant que la rhizosphère est appropriée pour trouver des bactéries ayant des capacités à stimuler la croissance végétale (Sáenz-Mata *et al.*, 2016). Et que les *Pseudomonas* fluorescents, assurent de multiples actions phytobénéfiques, tel que la phytostimulation de la croissance des plantes, la bioprotection contre plusieurs agent phytopathogènes (Leong *et*

al., 1986), l'induction de la résistance systémique chez les plantes (Bakker *et al.*, 2007) et la stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte (Howell *et al.*, 1987). Et s'appuyant sur ce que Latour et Lemanceau (1997) ont apporté, en montrant que les *Pseudomonas* spp sont généralement communs dans la rhizosphère et aussi leur plasticité à coloniser plusieurs écosystèmes et à s'adapter à des environnements variés, cette plasticité importante est due à la variabilité du métabolisme des *Pseudomonas* spp. fluorescents. Tout ça nous conforte dans le choix de cette piste de recherche.



Conclusion

Conclusion

Nous avons projeté de mettre en évidence effet bénéfiques de certaines PGPR, les *Pseudomonas* spp. fluorescents, sur l'antagonisme vis-à-vis de deux agents de la fusariose vasculaire, le *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis* et le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* et sur le biocontrôle de champignons transmis par la semence de haricots.

Dans ce travail, nous avons effectué l'études sur huit isolats bactériens (AZ24, AS02, P107, P12, p432, P212, T4, T32), isolés de la rhizosphère des certaines plantes spontanées de certaines régions arides et semi-arides, pour tester leurs habilité et leur capacité d'antagonismes *in vitro*.

Pour l'essai de confrontation directe *in vitro* contre deux champignon phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* les huit souches ont montré une capacité d'antagoniste, la souche AZ24 a révélé une inhibition de la croissance mycélium de l'agent pathogène testé et elle a marqué une bonne performance avec un taux le plus élevé soit de 70,66 % *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* par rapport aux d'autres souches testée .

Selon les résultats mentionnés du biocontrôle de la microflore fongique présente sur la semence du haricot indique que les isolats bactériens AS02 et T32 ont révélé un taux de contamination respective de 10 et 3 % inférieur à celui enregistré par le témoin non bactérisé soit 28%.

Ces résultats montrent que nos souches des *Pseudomonas* spp fluorescents sélectionnée sur la base de leur propriétés phénotypiques, métaboliques, et écologiques, peuvent

constituer un moyen de lutte biologiques pour limiter l'utilisation des d'intrants chimiques, pour stimuler et lutter contre des agents phytopathogènes.

Et pour faire suite à cette étude, plusieurs pistes de travail peuvent être envisager comme perspective :

- ✚ Nous souhaitons continuer les recherches sur les effets antagonistes des *Pseudomonas* spp fluorescents, surtout dans des conditions contrôlées, afin de mieux

- ✚ Comprendre certains mécanismes d'action qui peuvent être spécifiques selon les souches ;

- ✚ Tester les souches AS02 et T32 *in vivo* et *in situ* et même plein champs pour améliorer la croissance et la santé des plantes agronomiques comme biofertilisants, bio fongicides ou biopesticides dans la culture agricole ;

- ✚ Enfin d'un point de vue application agricole, il serait nécessaire d'avancer les études pour la compréhension de la complexité de l'environnement rhizosphérique, les mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents et procéder à l'application de ces organismes dans l'agriculture durable soit sous forme d'inoculant ou des formulations.



**Références
bibliographiques**



Références bibliographiques

- Adam A., (2008). Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries nonpathogènes. Thèse de Doctorat, Université de Liège. Belgique. 165p.
- Aditi B., (2010). Siderophore mediated metal uptake by *Pseudomonas fluorescens* and its comparison to iron (iii) chelation. Maulana Azad College, Aurangabad (M.S), India. 9 p.
- Agueniou Fatiha, Z. H. (2017). Effet de la physicochimie des sols sur la diversité phénotypique et fonctionnelle des bactéries telluriques et l'interaction Bactérie-Blé dur. Master Université AMIRA Bejaia.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*.
- Allaire, (2005). Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. Mémoire ést sciences. Université Laval, Québec, Canada.
- Almario J, Bruto M, Vacheron J, Prigent-Combaret C, Moëne-Loccoz Y and Muller D, (2017). Distribution of 2,4-Diacetylphloroglucinol Biosynthetic Genes among the *Pseudomonas* spp. Reveals Unexpected Polyphyletism. *Frontiers in microbiology*, Vol 8: 1218.
- Alori, E.T., Glick, B.R., and Babalola, O.O. (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Front. Microbiol.* 8.
- Alters *Phytophthora infestans* Growth and Late Blight Development. *American phytopathological society*. Vol 107, No 3. pp 273-279.
- Alwathnani, H. A. and Perveen, K. 2012. Biological control of fusarium wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. *Af. J. Biotechnology*, 1(5) : 1100-1105.
- Amer G.A., Utkhede R.S. 2000. Development of formulation of biological agents for the management of root rot lettuce and cucumber. *Can. J. Microbiol.* 46 (9) : 809–816.
- Ameer H., (2014). Effet d'comprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse doctorat : Microbiologie. Université Ferhat Abbas Stéif. 120p.

- Amir, H. G., Shamsuddin, Z., Halimi, M., Marziah, M., Ramlan, M. F. (2005). Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. *Commun SoilSci Plant Anal*,36(15-16), 2059–2066.
- Anand, K., Kumari, B., Mallick, M.A. (2016). Phosphate solubilizing microbes : an effective and alternative approach as biofertilizers. *Int. J. Pharm. Sci.* 8 : 37–40.
- Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Matsubara, R., Toyama, T., Aonuma, H., Sakakibara, H., Suematsu, M., Tanabe, K., Nozaki, T., and Nagamune, K. (2018). Plant hormone cytokinins control cell cycle progression and plastid replication in apicomplexan parasites. *Parasitol. Int.* 67, 47–58
- Arkhipova, T., Veselov, S., Melentiev, A., Martynenko, E., et Kudoyarova, G. (2005). Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272(1-2), 201-209.
- Arora, N. K., Tewari, S., et Singh, R. (2013). Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances* (pp. 411-449): Springer.
- Askeland A. T and Morrison M. (1983). Cyanide Production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and environmental microbiology*, Vol. 45, No. 6.
- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., et Van Loon L.C., (2007). Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 2 : 239-243.
- Barakat R, (2012). Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. *Sciences agricoles. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle, France.*
- Benchabane M, Toua D, et Ameur D. (2012). Exploitation et valorisation des rhizobactéries en biotechnologie végétale : phytostimulation et amélioration de la nutrition des plantes. Université de Blida. *Revue Agrobiologia* 2; 17-20.
- Beneduzi A, Ambrosini A and M.P. Passaglia L. (2012). Plant growth promotin grhizobacteria (PGPR) : Their potential as antagonists and biocontrol agents. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 4 (ppl), 1044 -1051.

- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) : Their potential as antagonists and biocontrol agents. Retrieved from
- Benhamou, N., and Rey, P. (2012). Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable.: I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection* 92, 1.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486.
- Bholay A. D., Jadhav Priyanka. U., Borkhataria B. V. and Mayuri V. Dhalkari., (2012) Fluorescent Pseudomonads as Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Their Siderophoregenesis. K.T.H.M. College, Nashik, M.S, India.6 p. biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Scientific Reports*, Vol : 6 : 1-11.
- Brodhagen M, Henkels MD, and Loper JE, (2004). Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Applied and environmental microbiology*, Vol : 70(3).
- Chanclud, E. (2015). Etude du rôle des cytokinines végétales et fongiques dans l'interaction riz/Magnaporthe oryzae. *BGPI - Biol. Génétique Interact. Plantes-Parasites Pour Prot. Intégrée* 1.
- Chin, A. T. F. Woeng., G. V., Bloemberg and Lugtenberg, B. J. (2003). Phenazines and their role in bio control by *Pseudomonas* bacteria. *New. Phyto.* 157 : 503-523.
- Collins D.P., Jacobsen B. 2003. Optimizing a *Bacillus subtilis* iso-late for biological control of sugar beet *Cercospora* leaf spot. *Biol. Cont. J.* 26 (2) : 153–161.
- Dahah H, (2017). Etude de l'effet antimicrobien et antioxydant des métabolitessecondaires secrétés par des *Pseudomonas* originaires des conditions extrêmes. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn-Badis Mostaganem, Algérie.
- Damam, M., Kaloori, K., Gaddam, B., Kausar, R. (2016). Plant growth promoting substances (phytohormones) Producer by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants. *Int. J. Pharm. Sci. Rev.* 37 : 130–136.
- Digat, B and L. Gardan, (1992). Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP* 17 : 559-568 Dimkpa, C., I. Tanjaweinad, et F. Asch., 2009. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.*

- Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., Abd_Allah, E.F., and Hashem, A. (2017). Phytohormones and Beneficial Microbes : Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Front. Microbiol.* 8.
- Etesami, H., Alikhani, H.A., and Hosseini, H.M. (2017). Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents. *MethodsX* 2, 72–78.
- Folders. J ; Algra. J, Roelofs M. S., Van Loon L C., Tommassen J, and Bitter W. (2001). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Chitinase, a Gradually Secreted Protein. *Journal of Bacteriology*, Vol. 183, No. 24, p. 7044–7052.
- Freeman, L. R. Angelini, P. Silverman, G. J. and C. Merritt, JR. (1975). Production of Hydrogen Cyanide by *Pseudomonas fluorescens*. *American Society for Microbiology*. Vol. 29, No. 4.
- Frey, P., Chavatte, M., Clause, M. L., Courier, S., Le Roux, C., Gloria, G., Botelho, R and Ieda Cristina, H. (2006). Fluorescent *Pseudomonads* associated with the rhizosphere of crops – an overview. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37 :401-416.
- Frydenlund Michelsen C et Stougaard P. (2012). Hydrogen cyanide synthesis and antifungal activity of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* In5 from Greenland is highly dependent on growth medium. *Canadian Journal of Microbiology*
- Ganeshan G and Kumar AM, (2005). *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant disease, *Journal of Plant Interactions*, Vol :1(3) : 12/3-134.
- Gauthier V. D. (2013). Inhibition du pathogène des salmonidés *Saprolegnia parasitica* par des bactéries aquatiques. Université de Montréal. Mémoire du grade de Maître ès sciences (M.Sc.).
- Giri, B., Kapoor, R., Lata, A., Mukerji, K.G. (2003). Preinoculation with arbuscular mycorrhizae helps *Acacia auriculiformis* in a degraded Indian wasteland soil. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 35 :193–204.
- Gopalakrishnan, S., Upadhyaya, H., Vadlamudi, S., Humayun, P., Vidya, M.S., Alekhya, G., Singh, A., Vijayabharathi, R., Bhimineni, R.K., Seema, M., et al. (2012). Plant growthpromoting traits of biocontrol potentiel bactérie isolated from rice rhizosphere. *SpringerPlus* 1, 71.

- Goswami, D., Thakker, J.N., and Dhandhukia, P.C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : A review. *Cogent Food Agric.* 2.
- Goudaa, S., Kerryb, R.G., Dasc, G., Paramithiotisd, S., Shine H.S., Patras K. J. (2018). Revitalization of plant growth Promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res.* 206 : 131–140.
- Grobkinsky DK, Tafner R, Moreno MV, Stenglein SA, García de Salamone IE, Nelson LM, Novák O, Strand M, Van der Graaff E and Roitsch T, (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20- 18 détermine.
- Guan, L.L., Kanoh, K. and Kamino, K., (2001). Effect of Exogenous Siderophores on Iron Uptake Activity of Marine Bacteria under Iron-Limited Conditions. *Applied and Environmental Microbiol* 67 (4) : 1710-1717.
- Guanpeng G., Danhan Y., Shengju C., Fei X., Jie Y., Qing L. et Wei W., 2012. Effecte of biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2P24 on soil fungal community in cucumber rhizosphere using T-RFLP and DGGE, 10 : 16 p.
- Gupta, S., Kaushal, R., Spehia, R.S., Pathania, S.S., and Sharma, V. (2017). Productivity of capsicum influenced by conjoint application of isolated indigenous PGPR and chemical fertilizers. *J. Plant Nutr.* 40, 921–927.
- Haas, D., and C. Keel. (2003). Régulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. And relevance for biological control of plant disease. *Annu Rev Phytopathol* 41 :117-153.
- Habibi, M.H., and Karimi, B. (2014). Preparation, Characterization, and Application of Zinc Oxide Nanoparticles by Sol-Gel Pyrolysis Method : Influence of Annealing Temperature on Crystalline Phases. *Synth. React. Inorg. Met. -Org. Nano-Met. Chem.* 44, 1291–1298.
- Hadla M and Halabi M, (2018). Effect of Quorum Sensing. *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol (81) : 95-116.
- Hasan, M., Bano, A., Hassan, S. G., Iqbal, J., Awan, U., Rong-ji, D., et Khan, K. A. (2015) Enhancement of rice growth and production of growth-promoting phytohormones by inoculation with *Rhizobium* and other rhizobacteria. *WASJ*, 31, 1734-1743.
- Howell C.R., Okon Y., (1987). Recent results of greenhouse and field trials on bacterialinduced plant growth promotion with no obvious symptoms of plant. disease. In : *Proc Int Workshop PGPR*. Ontario, Canada : 29-33.

- Howell C.R., Okon Y., (1987). Recent results of greenhouse and field trials on bacterial-induced plant growth promotion with no obvious symptoms of plant disease. In: Proc Int Workshop PGPR. Ontario, Canada : 29-33.
- Howell, C. And R. Stipanovic (1979). "Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium." *Phytopathology* 69(5) : 480-482.
- Huang, X.-F., Chaparro, J.M., Reardon, K.F., Zhang, R., Shen, Q., and Vivanco, J.M. (2014). Rhizosphere interactions : root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany* 92, 267–275.
- Idris H.A., Bopape F. L., Sanger, L. K. (2016). Microbial inoculants as agents of Growth promotion and abiotic stress tolerance in plants. In : Singh D.P. *Et al.* Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. Springer India 23.
- Jamalizadeh M, Etebarien HR, Alizadeh A et Aminian H. (2008). Biological control of gray mould on apple fruits by *Bacillus licheniformis* (EN 74-1). *Phytoparasitica*. 36, 23-29.
- Jataraf J., Radhakrishnan N.V., Hannk P., Sakoof R. (2005). Biocontrol of tomato damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Biocontrol* 15 : 55–65.
- Joo, G.J., SM. Kang, M. Hamayun, Na. CI. Kim, DH. Shin et IJ. Lee (2009). *Burkholderia* sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. *J Microbiol.* 47 :167–171.
- Jorjani M., Heydari A., Zamanizadeh H.R., Rezaee S., Naraghi L. (2011). Controlling sugar beet mortality disease by application of new bioformulations. *J. Plant Prot. Res.* 52 (3) : 303–307.
- Jourdan, E., M. Ongena, et P. Thonart., (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12 : 437-449.
- Kamilova, F., S. Validov, et al. (2005). "Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria." *Environmental Microbiology* 7(11): 1809-1817.
- Kang, Y., M. Shen, et al. (2013). "A possible mechanism of action of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure." *The Journal of general and applied microbiology* 59(4) : 267-277.

- Kasim, W.A., Gaafar, R.M., Abou-Ali, R.M., Omar, M.N., and Hewait, H.M. (2016). Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Ann. Agric. Sci.* 61, 217–227.
- Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U., Unau, U. V. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) : A Novel Agent for Sustainable Food Production. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 14(1), 35–54.
- Koka R. And Weimer B.C. (2000). Isolation and characterization of a protease from *Pseudomonas fluorescens* RO98. Utah State University, *Journal of Applied Microbiology*, 89, 280-288.
- Kumar P, Dubey RC, (2012). Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol Phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolus vulgaris*. *J CurrPersApplMicrobiol*.
- Kumar, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K. (2012). *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiol. Res.* 167, 493–499.
- Lemanceau P., (1992). Beneficial effects of rhizobacteria on plants : exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12 : 413-437.
- Li J, Xu H, Liu W, Zhang X, Lu Y, (2018). Ethylene Inhibits Root Elongation during Alkaline Stress through AUXIN1 and Associated Changes in Auxin Accumulation. *Plant physiology*, Vol : 168 (4) : 1777-1791.
- Liu, K. (2015.) Selecting Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Both Biological Control of Multiple Plant Diseases and Plant Growth Promotion in the Presence of 165 Pathogens. A dissertation submitted for the Degree of Doctor of Philosophy, the Graduate Faculty of Auburn University, Alabama, 179p.
- Lugtenberg. B. et F. Kamilova. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63 : 541-56.
- Marchand PA, Weller DM, and Bonsall RF, (2000). Convenient Synthesis of 2,4-Diacetylphloroglucinol, a Natural Antibiotic Involved in the Control of Take-All Disease of Wheat. *J. Agric. Food Chem.*, Vol : 48 (5) : 1882–1887.

- Mavrodi, D. V., W. Blankenfeldt, et al. (2006). "Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation." *Annu. Rev. Phytopathol.* 44 : 417-445.
- Meliani A, (2012). Contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Algérie.
- Messaoudi, H. (2015). Effets de l'inoculation avec des bactéries rhizosphériques sur la croissance du blé et le développement de quelques bio-agresseurs qui lui sont associés.
- Mezaache S, (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Thèse de Doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif, Algérie.
- Migula, W. (1894). *System der Bakterien. Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe*, 1235-238.
- Mitter, N., AC. Srivastava, AS. Renu, AK. Sarbhoy et DK. Agarwal (2002). Characterization of gibberellin producing strains of *Fusarium moniliforme* based on DNA polymorphism. *Mycopathologia* 153 :187–193.
- Moore, E. R. B., Tindall, B. J., Martins Dos Santos, V. A. P., Pieper, D. H. Ramos, J. L. Palleroni, N. J. (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*, In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA. P. 646703p
- Morrison, C. K. Arseneault, T. Novinscak, A and Fillion, M. (2017). Phenazine-1 Carboxylic Acid Production by *Pseudomonas fluorescens* LBUM636.
- Mousa WK and Raizada MN, (2015). Biodiversité of genes encoding antimicrobial traits within plant associated microbes. *Frontiers in plant science*, Vol : 6 (231).
- Mousa WK and Raizada MN, (2015). Biodiversity of genes encoding antimicrobial traits within plant associated microbes. *Frontiers in plant science*, Vol : 6 (231).
- Nie, M., Zhang, X., Wang, J., Jiang, L., Yang, J., Quan, Z., Cui, X., Fang, C. Et Li, B. (2009) Rhizosphere effects on soil bacterial abundance and diversity in the Yellow River Deltaic ecosystem as influenced by petroleum contamination and soil salinization. *Soil Biol. Biochem.* 41 : 2535–2542.
- Osman, J.R., Fernandes, G., and DuBow, M.S. (2017). Bacterial diversity of the rhizosphere and nearby surface soil of rice (*Oryza sativa*) growing in the Camargue (France). *Rhizosphere* 3, 112–122

- Ossowicki A, Jafra S, Garbeva P, (2017). The antimicrobial volatile power of the rhizospheric isolate *Pseudomonas donghuensis*P482. PLOS ONE. Vol : 12(3). Otto M, (2004).
Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. Front Biosci. Vol : 1(9) : 841-863.
- O'Sullivan D.J. Et O'gara F., (1992). Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiol. Rev. 56, 662-676.
- Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J., and Dowling, D.N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. Front. Microbiol. 6.
- Ouserir S, Chennaoui N and Benchabane M, (2018). Effets de la bactérisation par *pseudomonas fluorescens* et *rhizobium fabae* sur la stimulation de la nodulation et de la croissance de la fève (*vicia faba* l. var. *hista*l). Vol : 8(1) : 775-785
- Palleroni, N.J., (1984). Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In : Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.
- Palleroni, N.J., (2009). The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In : Cornelis, P. (Ed.), *Pseudomonas : Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.
Parejko, J A. Mavrodi, D V. Mavrodi, O V. Weller, David M. and Thomashow L S. (2013). Taxonomy and Distribution of Phenazine-Producing *Pseudomonas* spp. In the Dryland Agroecosystem of the Inland Pacific Northwest, United States. Ncbi.
- Park J.Y. Oh. S.A., Anderson A.J, Neiswender J, Kim J.-C. And Kim Y.C. (2010). Production of the antifungal compounds phenazine and pyrrolnitrin from *Pseudomonas chlororaphis* O6 is differentially regulated by glucose. Chonnam National University, Gwangju, Korea. Applied Microbiology ISSN 0266-8254.
- Parmar P, Sindhu SS ,(2013). Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. J Microbiol Res 3.
- Parmar, N., & Dufresne, J. (2011). Beneficial Interactions of Plant Growth Promoting Rhizosphere Microorganisms.

- Patten, C.L. And Glick, B.R., (2002). Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48 : 635-642.
- Paulin M, Novinscak A, Lanteigne C, Gadkar VJ, Filion M, (2017). Interaction between 2,4-diacetylphloroglucinol and hydrogen cyanide-producing *Pseudomonas brassicacearum* LBUM300 and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in the tomato rhizosphere. *Appl Environ Microbiol.* Vol : 83.
- Pereg, L., and McMillan, M. (2015). Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 80, 349–35
- Perneel, M. Heyrman, J. Adiobo, A. De Maeyer, Raaijmakers, K. J.M. De Vos2 and P. Hofte M. (2006). Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. Laboratory of Phytopathology ;Ghent University. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364 -5072.
- Perneel, M. Heyrman, J. Adiobo, A. De Maeyer, Raaijmakers, K. J.M. De Vos2 and P. Hofte M. (2006). Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. Laboratory of Phytopathology ;Ghent University. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364 -507.
- Pierson E.A., Weller D.M. (1994). Use of mixture of fluorescent pseudomonads to suppress takeall and improve the growth of wheat.
- Rajmohan, S. Dodd C.E.R. And Waites W.M. (2002). Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. University of Nottingham, *Journal of Applied Microbiology*, 93, 205–213.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero., (2008). Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology.* 98 : 451-457.
- Ramyasmruthi S, Pallavi O, Pallavi S, Tilak K et Srividya S. (2012). Métabolite chitinolytique et secondaire produisant *Pseudomonas fluorescens* isolés de la rhizosphère de Solanaceae efficace contre phytopathogènes fongiques à large spectre. *Journal asiatique des sciences végétales et de la recherche*, 2 (1): 16-24.
- Reetha A. K, Pavani S.L and S.Mohan. (2014). Hydrogen Cyanide Production Ability by bacterial antagonist and their Antibiotics Inhibition Potential on Macrophomin

- phaseolina (Tassi.) Goid. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. ISSN : 2319 -7706 Vol 3, No5, pp. 172-178.
- Sáenz-Mata, J., Palacio-Rodríguez, R., Sánchez-Galván, H., Balagurusamy, N. (2016). Plant Growth Promoting Rhizobacteria Associated to Halophytes. In : Khan, M.A. Et al. (ed.), Potential Applications in Agriculture Sabkha Ecosystems Volume V: The Americas, Tasks for Vegetation Science.
 - Sáenz-Mata, J., Palacio-Rodríguez, R., Sánchez-Galván, H., Balagurusamy, N. (2016). Plant Growth Promoting Rhizobacteria Associated to Halophytes. In : Khan, M.A. et al. (ed.), Potential Applications in Agriculture Sabkha Ecosystems Volume V: The Americas, Tasks for Vegetation Science.
 - Safari D, Jamali F, Nooryazdan H and Bayat F, (2018). Evaluation of ACC deaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains for their effects on seed germination and early growth of wheat under salt stress. *AJCS* 12(03):413-421 (2018).
 - Saha M, Sarkar S, Sarkar B, Sharma BK, Bhattacharjee S and Tribedi P, (2016). Microbial siderophores and their potential applications : a review.
 - Saharan, B.S., Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res LSMR*. 21 :1–29.
 - Salma Taktek, (2015). Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat. Université LAVAL québec canada
 - Sayyed R.Z, Badgujar M.D, Sonawane H.M, Mhaske M.M. And Chincholkar S.B., (2004). Production of microbial iron chelators (siderophores) by fluorescent *Pseudomonads*. *Mooljee jaitha college. Jalguan.425. 002.India.7 p.*
 - Scales BS, Dickson RP, LiPuma JJ and Huffnagle GB, (2014). Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clinical microbiology reviews*, Vol : 27 (4) : 927-48.
 - Schroder P, Hartmann A. (2003). Global Solis : New Developments in Rhizosphere Research. *J. Soils & Sediments* 3 (4). 227p.
 - Scow, K. M. (2004). Soil microbiology. In : Schaechter, M. (ed). *The Desk Encyclopedia Of Microbiology*. Elsevier Ltd, China, pp 914-926.

- Shukla, P. S., Agarwal, P. K. et Jha, B. (2012). Improved Salinity Tolerance of *Arachis hypogaea* (L.) By the Interaction of Halotolerant Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *J. Plant Growth Regul.* 31 : 195-206.
- Siddiqui I A., Shaukat, S., Hussain Sheikh I and Khan A.(2005). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. Soil Biology and Ecology Laboratory, Department of Botany, University of Karachi, 75270, Karachi, Pakistan.
- Singh, S. R., D. Joshi, et al. (2017). Plant Growth-Promoting Bacteria: An Emerging Tool for Sustainable Crop Production Under Salt Stress. *Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective*, Springer: 101-131.
- Souza, R. De, Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.* 38, 401–419.
- Sreedevi B, Preethi S. and Pramoda Kumari J., (2014). Isolation, Production And Optimization Of Siderophore Producing *Pseudomonas* From Paddy Soil. Sri Venkateswara University, Tirupati, A.P-517502, India. 18 p.
- Stanier, R.Y, Palleroni, N.J. and Doudoroff, M., (1966). The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* 43: 159-271.
- Suganthi, M. Arvinth S, Raj Kumar R. and Chandrashekara K.N.(2015). Detection of chitinase activity and its characterization from *Pseudomonas fluorescens* of tea rhizosphere. *Journal of Plantation Crops*, Vol 43(3): 236-239.
- Suslow, T.V (1982). Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-222 in M.S. Mount et G.H. Lacy. (réds.), *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 1. Académie Press, New York.
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., and Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102–117.
- Thomas F. C. Chin-A-Woeng, Guido V. Bloemberg and Ben J. J. Lugtenberg. (2002). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. Institute of Molecular Plant Sciences, Leiden University, The Netherlands. *New Phytologist* 157: 503–523.

- Thomashow L.S and Weller M.D. (1988). Role of a Phenazine Antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in Biological Control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Washington State University. Journal of bacteriology , vol. 170, no. 8, p. 3499-3508.
- Thomashow L.S., Weller D.M. 1990. Role of antibiotics and siderophores in biocontrol of takeall disease of Nader Hassan- zadeh, wheat. Plant Soil 129 : 93–99.
- Tien, T.M, M.S. Gaskins et D.H. Hubbel (1979). Plant growth substance produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet. Appl. Environ. Micro., 37(5) : 1016-1024.
- Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., et Tillberg, E. (1999). Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. Soil Biology and Biochemistry, 31(13), 1847-1852.
- Tsakelova, EA., SY. Klimova, TA. Cherdyntseva, et AI. Netrusov (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use : a review. Appl. Biochem. Microbiol. 42 :117–126.
- Vacheron J, Moënne-Loccoz Y, Dubost A, Gonçalves-Martins M, Muller D and PrigentCombaret C, (2016). Fluorescent *Pseudomonas* Strains with only Few Plant-Beneficial Properties Are Favored in the Maize Rhizosphere. Front Plant Sci., Vol :7:
- Vacheron J., Dubost A., Chapulliot D., Prigent-Combaret C., Muller D., (2017). Draft Genome Sequence of *Chryseobacterium* sp. JV274 isolated from Maize Rhizosphere. Genome Announcements. 5 : e00122-17. doi: 10.1128/ genomeA.00122-17.
- VAN Der heijden m.g.a, bardgett r.d., van stralen n.m .,(2009).The usen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecol. Lett. 11 : 296-310.
- Van Loon, L.C., et P.A.H.M. Bakker., (2005.) Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria, p. 39-66. In Z.A. Siddiqui (ed.), PGPR : biocontrol and biofertilization. Springer Science Dordrecht, The Netherlands.
- Vaulont S and Schalk I, (2015). Rôles des sidérophores bactériens et de mammifères dans les interactions hôtes-pathogènes, médecine/sciences. Vol : 31(8-9) : 756–763.

- Velusamy P, Immanuel JE, Gnanamanickam SS and Thomashow L, (2006). Biological control of rice bacterial blight by plant-associated bacteria producing 2,4-diacetylphloroglucinol. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol: 52 (1): 56-65.
- Vinay JU, Naik MK, Rangeshwaran R, Chennappa G, Shaikh SS, Sayyed RZ, (2016). Detection of antimicrobial traits in fluorescent *Pseudomonas* and molecular characterization of an antibiotic pyoluteorin. *3 Biotech*. Vol : 6(2): 227.
- Walsh U.F., Morrissey J.P., and O'Gara F. (2001). *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens :from functional genomics to commercial exploitation. *Curr Opin Biotechnol* 12 : 289-295
- Wang et al., 2002. Wang A, et al. (2002) Requirement of Hos2 histone deacetylase for gene activity in yeast. *Science* 298(5597) :1412-4.
- Wdowiak-Wróbel, S., Marek-Kozaczuk, M., Kalita, M., Karaś, M., Wójcik, M., and Małek, W. (2017). Diversity and plant growth promoting properties of rhizobia isolated from root nodules of *Ononis arvensis*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 110, 1087–1103.
- Weller D.M., rajmakers j., mcsponden gardener b.b et tomashw L.S.(2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness plant pathogens. *Annu.Rev .Phytopathol.*, 40: pp.309-348.
- Weller, D. M. And L. S. Thomashow (1994). "Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere." *Molecular ecology of rhizosphere microorganisms: Biotechnology and the release of GMOs*: 1-18.
- Weller, D. M (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.
- Weller, D.M., Thomashow, L.S.(1993). Microbial metabolites with biological activity against plant pathogens. In : *Pest management : Biologically based technologies* (Lundsdén, R.D., Vanghan, J.L, eds), Am Chem Soc, Washington, DC, 67-89.
- Whipps J.M., LUMSDEN R.D., (2001). Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), *Fungi as Biocontrol agents. Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 9-22.

- Williams, PM., M. Sicardi de Mallorca (1982). Abscisic acid and gibberellin-like substances in root nodule of *Glycine max.* *Plant Soil* 65: 19-26.
- Zhengyu Huang Robert F. Bonsall Dmitri V. Mavrodi David M. Weller Linda S. Thomashow. (2004). Transformation of *Pseudomonas fluorescens* with genes for biosynthesis of phenazine-1-carboxylic acid improves biocontrol of rhizoctonia root rot and in situ antibiotic production. *FEMS Microbiology Ecology*, Vol 49, 2, 1, pp 243–25.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Principaux Milieux de culture

✚ Milieu de King B

- ❖ King B 37 g
- ❖ Glycérol 10 ml
- ❖ Eau distillé 1000 ml

✚ Milieu de PDA (potato dextrose agar)

- ❖ Extrait de pomme de terre 200 g
- ❖ Glucose 20 g
- ❖ Agar – agar 18 g
- ❖ Eau distillée 1000 ml

✚ Milieu de TSA (trytic – soy – agar)

- ❖ TSA 40 g
- ❖ Glycine 10 ml
- ❖ Eau distillé 1000 ml

✚ Milieu MH

- ❖ MH 38 g
- ❖ Eau distillé 1000 ml

✚ Milieu de MALT

	S.C. E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	37474,809	383	97,845		
Var.FACTEUR 1	433,087	7	61,870	29,250	0,000
Var.FACTEUR 2	9539,538	3	3179,846	1503,308	0,000
Var.FACTEUR 3	1302,390	1	1302,390	615,719	0,000
Var.FACTEUR 4	5977,845	1	5977,845	2826,093	0,000
Var.INTER F1*2	1186,413	21	56,496	26,709	0,000
Var.INTER F1*3	130,577	7	18,654	8,819	0,000
Var.INTER F1*4	545,459	7	77,923	36,839	0,000
Var.INTER F2*3	1235,783	3	411,928	194,743	0,000
Var.INTER F2*4	12624,522	3	4208,174	1989,461	0,000
Var.INTER F3*4	1302,390	1	1302,390	615,719	0,000
Var.INTER F1*2*3	345,734	21	16,464	7,783	0,000
Var.INTER F1*2*4	597,477	21	28,451	13,451	0,000
Var.INTER F1*3*4	130,577	7	18,654	8,819	0,000
Var.INTER F2*3*4	1235,783	3	411,928	194,743	0,000
Var.INT.F1*2*3*4	345,734	21	16,464	7,783	0,000
VAR.RESIDUELLE 1	541,500	256	2,115		