



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Allaba Haithem Asaadeddine

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

LE TITRE DU MEMOIRE

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Houyou Zohra	MCA	Président
Touati-Hatab Sihem	MCB	Examineur1
Ameur Djamila	MAA	Examineur2 (s'il y a lieu)

Promotion : 2021

Remerciements

je ne pourrais pas commencer ce travail sans remercier tous ceux qui ont collaboré à son aboutissement.

Je remercie en premier **ALLAH** qui nous guide tout au long de notre vie et qui m'a permis de faire ce travail.

Je souhaite remercier particulièrement mon encadreur, **Mlle. Ameur Djamila**, pour le temps qu'elle a consacré et les informations indispensables à la conduite de cette recherche.

Je souhaite remercier les membres de jury **Mme. Touati-hatab siham** et **Mme.Houyou zohra** pour avoir pris le temps de lire et examiner mon travail

Je souhaite aussi remercier le personnel du laboratoire d'agronomie pour leurs disponibilité et accueils, en particulier **Mlle. Renan Z** et **Mme Azouaou Karima**.

Sans oublier tout le personnel du département d'agronomie pour tous leurs efforts durant ces temps de pandémie.

Dédicace



Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer ma gratitude assez.

A l'homme, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, pour me rendre heureux: ma mère

A ma chère sœur qui n'a pas cessée de m'encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.

Merci pour leurs soutiens et leurs encouragements.



HAITHAM ASAAD EDDINE ALLABA

Dédicace



A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,
leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères frères et sœurs pour leurs encouragements
permanents, et leur soutien moral,

A toute ma famille pour leurs soutiens tout au long de mon
parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant
allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi



Nom : Allaba

Prénom : Haithem

Encadreur : Ameer Djamila

Résumé :

Nous visons par ce travail la mise en évidence de l'effet bénéfique de *Pseudomonas* spp. fluorescents, isolée de la Rhizosphère de certaines plantes spontanées de région aride et semi-aride sur la biostimulation et le biocontrôle d'agent pathogène de blé.

Ce travail comporte deux essais, le premier est de tester la capacité d'antagonisme In vitro des sept isolats de *pseudomonas* vis-à-vis a sources de le *Fusarium culmorun* (FC), par confrontation directe et/ou indirecte sur quatre milieux de culture TSA, PDA. Et le deuxième est étude l'effet des deux souches sur la biostimulation de la germination et le biocontrôle des champignons transmis par la semence de blé.

Les résultats obtenus ont montré une activité qui antagoniste varies entre 36,40 % et 90,04 concernant la confrontation direct, la meilleure performance a été obtenu que isolat R2 conter FC 337, et une activité antagoniste qui varies entre 7,46 % et 90,00 % pour la confrontation indirecte, la meilleure performance a été obtenu avec isolat P107 conter FC T7.

Pour la biostimulation de la germination la souche P12 a donné les milieux résultats sont pour le taux de germination avec 81 %, l'analyse de tige 13, 298 cm et longueur de racicules 3,388 cm avec un indice de vigueur de 1341,50.

Pour l'essai de biocontrôle des champignons transmis par la semence du blé, les résultats obtenu ont montré l'efficacité de l'isolat AZ24 à limité significativement le taux de contamination totale de la microflore fongique avec 0% comparais au l'isolat P12 et le témoin no bactérisé avec 16%, 29% respectivement, indépendamment de milieux de culture et les deux concentrations appliqué sur la semence.

Mots clé : Biocontrôle, Biostimulation, *Pseudomonas* spp. fluorescents, la Rhizosphère, *Fusarium culmorun*.

Family Name : Allaba

First Name : Haithem

Framer : Ameer Djamila

Abstract:

We aim by this work to demonstrate the beneficial effect of *Pseudomonas* spp. fluorescent, isolated from the rhizosphere of some spontaneous plants of arid and semi-arid regions on the biostimulation and biocontrôle of wheat pathogens.

This work comprises two tests, the first is to test the capacity of antagonism In vitro of the seven isolates of pseudomonas vis-à-vis two phytopathogenic agents *Fusarium culmorun* (FC), by direct and indirect confrontation on four TSA culture media. , PDA, KB, DCPA. And the second is to study the effect of the two strains on germination biostimulation.

The results obtained showed an antagonist activity varied between 36.40% and 90.04 concerning the direct t activity varied between 7.46% and 90.00 % in the results of the indirect confrontation, the best performance was obtained by isolate P107 against FC T7.

For germination biostimulation strain P12 gave the media results are for germination rate with 81%, stem analysis13, 298 cm and radical length 3.388 cm with a vigor index of 1341.50.

For the Biocontrol test for fungi transmitted by wheat seed, the results obtained showed the effectiveness of the AZ24 isolate in significantly limiting the total contamination rate of the fungal microflora with 0% compared to the P12 isolate and the no bacteria control with 16%, 29% respectively, independently of culture media and of the two concentrations applied to the semen.

Keywords: Biocontrol: Biostimulation, *Pseudomonas* spp. fluorescent, the Rhizosphere, *Fusarium culmorun*.

الملخص:

نهدف من خلال هذا العمل إلى إظهار التأثير المفيد لـ *Pseudomonas spp*. الفلورية ، معزولة عن جذور بعض النباتات العفوية في المناطق القاحلة وشبه القاحلة على التحفيز الحيوي والمكافحة الحيوية لمسببات أمراض القمح. يشتمل هذا العمل على اختبارين، الأول هو اختبار قدرة العداء في المختبر للعازلات السبع من الزائفة مقابل اثنين من العوامل الممرضة للنبات (*Fusarium culmorum* FC)، عن طريق المواجهة المباشرة وغير المباشرة على أربعة وسائط استزراع. TSA ، PDA ، KB ، DCPA. والثاني هو دراسة تأثير السلالتين على التحفيز الحيوي للإنبات. بينت النتائج التي تم الحصول عليها أن النشاط المضاد تراوح بين 36.40% و 90.04% فيما يتعلق بالمواجهة المباشرة، وأفضل أداء تم الحصول عليه من خلال عزل R2 مقابل FC 337، وتراوح النشاط المضاد بين 7.46% و 90.00% في نتائج المواجهة غير المباشرة. تم الحصول على أفضل أداء من خلال عزل P107 مقابل FC T7. بالنسبة لسلالة التحفيز الحيوي للإنبات ، أعطت النتائج الوسطية لمعدل إنبات 81% ، تحليل الساق 13 ، 298 سم وطول الجذر 3.388 سم مع معامل قوة 1341.50. بالنسبة لاختبار المكافحة الحيوية للفطريات المنقولة عن طريق بذور القمح ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها فاعلية عزلة AZ24 في الحد بشكل كبير من معدل التلوث الكلي للنباتات الفطرية بنسبة 0% مقارنة بالعزلة P12 وضبط عدم البكتيريا بنسبة 16% ، 29% على التوالي ، بغض النظر عن وسط الثقافة يتم تطبيق تركيزين على البذور.

الكلمات المفتاحية: *Biocontrôle* ، *Biostimulation* ، *Pseudomonas spp*. الفلورسنت ، الجذور ، *Fusarium culmorum*.

Sommaire

Résumé	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	

Chapitre I : Revues bibliographiques

I.1	Introduction :.....	1
I.2	Historique :.....	1
I.3	Généralité :.....	1
I.4	Habitat :.....	2
I.4.1	Classification de <i>Pseudomonas</i> :.....	2
I.5	Caractéristiques morphologiques et culturaux :.....	4
I.6	PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA(PGPR)	5
I.6.1	Généralités sur les pseudomonas	5
I.6.2	Modes d'action.....	7
I.6.3	Interaction <i>Pseudomonas</i> pathogènes.....	7
I.6.4	Compétition trophique et spatiale.....	8
I.7	Principaux rôles des PGPR.....	9
I.7.1	Effets des Les rhizobactéries	9
I.7.1.1	Effet direct.....	10
I.7.1.2	Effet indirecte.....	14
I.8	Induction d'un système de résistance (ISR)	17
I.8.1	Modification de l'équilibre microbien.....	17
I.8.2	La formation de biofilm.....	18

Chapitre II : Matériel et méthodes

II. 1.	Matériel biologique	19
II .1 .1.	Les souches bactériennes.....	19
II .1 .2.	Les souches fongiques.....	20
II .1 .3.	Matériel végétal	20
II. 2.	Essai d'antagonisme in vitro.....	20
II .2 .1.	Par confrontation direct.....	20

II .2 .2.	Par confrontation indirect :	21
II .2 .3.	Dispositif expérimental	24
II. 3.	Essais biostimulation de la germination du blé et biocontrôle in vitro des champignons transmis par semences.....	24
II .3 .1.	Préparation des suspensions bactériennes.....	24
II .3 .2.	Bactérisation de la semence.....	25
II .3 .3.	Dispositif expérimental	26
II .3 .4.	Paramètres étudiés	27
II. 4.	Analyse statistique	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III. 1.	Resultats.....	29
III .1 .1	Essai d'antagonisme <i>in vitro</i> contre <i>Fusarium culmorum</i>	29
III. 1. 1. 1	Confrontation direct.....	30
III. 1. 1. 2	Confrontation indirect.....	31
III. 1. 1. 3	Taux de germination.....	33
III. 1. 1. 4	Indice de vigueur	34
III. 1. 1. 5	la longueur des tiges.....	35
III. 1. 1. 6	Longueur des racines.....	36
III. 1. 1. 7	Taux de contamination.....	37
III. 2.	Discussion.....	38
III. 3.	Conclusion	43

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AIA : Acide indole acétique.

Ace : I -Amino-cyclopropane-l-carboxylate,

Cm : centimètre.

DAPG : diacetylphlorolueinol.

FC : Fusarium culmorum

h : heure.

HCN : acide cyanhydrique.

mm : millimètre.

P : probabilité

p.aeruginosa : *pseudomonas aeruginosa*.

p.chlororaphis : *pseudomonas chlororaphis*.

p.fluorescens : *pseudomonas fluorescens*.

p.syringae : *pseudomonas syringae*.

PDA : Potato Dextrose Agar.

KB : King B

TSA : tryptic-soy-agar .

DCPA : Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar Adapté.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria ou rhizobactéries stimulant la croissance des plantes.

Spp : plusieurs espèces.

% : pourcentage.

Introduction

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.

L'effet bénéfique des PGPR est assuré principalement soit par des mécanismes directs à travers la stimulation de la germination des graines, la stimulation de la croissance végétale et l'induction de la résistance systémique « ISR », ou par des mécanismes indirects via leur pouvoir compétitif à l'égard des autres communautés microbiennes, par l'antibiose, la Production des sidérophores, et les composés volatiles tel que le cyanure d'hydrogène (HCN) (Ficher et al., 2007). De ce fait les rhizobactéries sont très intéressantes pour l'application en agriculture comme biofertilisants, biopesticides et en biomédiation (Berg, 2009).

Notre objectif est d'apporter un plus dans la recherche d'une solution aux problèmes de la croissance et l'état sanitaire des plantes en exploitant des bactéries autochtones comme une alternative écologique et économique par rapport à l'utilisation pesticides, les régulateurs de croissance et les fertilisants chimiques. La stratégie d'étude de ce travail consiste à mettre en évidence *in vitro* l'effet de certaines souches de *Pseudomonas* ssp. fluorescentes isolées de la rhizosphère de plantes spontanées des zones arides et semi arides.

Nous avons réalisé un essai pour mettre en évidence l'activité antagoniste chez sept souches isolées et identifiées à l'université Amar Thelidji-Laghouat, contre l'agent de la fusariose du blé *Fusarium culmorum* (FC) préliminaire pour étudier l'effet bénéfique de deux souches (P12 et AZ24) et pour établir la concentration la plus efficace nous avons testé deux concentrations bactériennes (10^4 et 10^8 UFC/ml) sur la biostimulation de la germination des graines du blé dur (*Triticum durum*) et le biocontrôle de la microflore fongique transmise par semence, touchant ainsi le premier maillon dans le système de production agricole.

Revue bibliographique

Pseudomonas :

Pseudomonas fluorescens est une bactérie à Gram négatif (KOH positif), oxydase positive, en forme de bâtonnet appartenant au genre des *Pseudomonas*. Elle est mobile grâce à ses multiples flagelles. De plus, elle tient la deuxième partie de son nom (*fluorescens*) du fait qu'elle est fluorescente. Cette fluorescence est due à la production d'un pigment appelé fluorescéine. Sa température de croissance optimale se situe entre 25 et 30 degrés Celsius. Sa croissance à 42 °C est négative : ce point est important pour la différencier de *Pseudomonas aeruginosa*. C'est un organisme aérobie

Historique :

En raison de leur présence généralisée dans l'eau et des graines de plantes telles que les dicotylédones, les *Pseudomonas* ont été observés au début de l'histoire de microbiologie. Le nom générique *Pseudomonas* créé pour ces organismes a été défini en terme assez vague, en 1894 par Migula, comme un genre de bactéries à Gram-négatives, en forme de tige et possédants des flagelles polaires. Peu de temps après, les *Pseudomonas* ont été isolées de nombreuses niches naturelles et un grand nombre de noms d'espèces a été initialement attribuée au genre (Williams et al., 1986).

Généralité :

Le genre *Pseudomonas* est le groupe le plus hétérogène écologiquement significatif de bactéries connues, et comprend des bâtonnets aérobies Gram-négatives qui sont largement répandues dans la nature et caractérisées par une polyvalence élevée du métabolisme, grâce à la présence d'un système enzymatique complexe. Les exigences nutritionnelles de *Pseudomonas* sont très simples, et le genre se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, le de mer, etc. Mais il a également été isolé des sujets cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (Franzetti L and Scarpellini M 2007).

Certains membres du genre *Pseudomonas* appartiennent aux Gamma- Protéobactéries. Ce groupe en globela majorité des espèces de bactéries phyto-pathogènes importants et des agents porteurs d'infections humaines, alors que d'autres souches et espèces sont responsables des activités de bioremédiation et de contrôle biologique (Tripathy Set al., (2006).

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des *Pseudomonaceae*, il comprend une soixantaine d'espèces. Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de

Pseudomonas fluorescents, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différentes biovars. Le groupe de *Pseudomonas* se compose de bactéries sous forme de bâtonnets, Gram négatifs, mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*), non sporulant, elles sont aérobies obligatoires. Les *Pseudomonas* ont un métabolisme mésophile et chimio organotrophe, peu exigeantes, et incapable de fermenter le glucose, se caractérisent par la pluralité des substances hydrocarbonées utilisées comme source de carbone et d'énergie, produisant des pigments, la plupart étant saprophytes et pouvant coloniser les cellules corticales mortes des racines (Cook, R et al., 1996).

Les membres du genre *Pseudomonas* Chapitre Généralités sur les *Pseudomonas* 3 présentent une polyvalence métabolique et physiologique remarquable. Les *Pseudomonas* ont un grand intérêt en raison de leur rôle dans les maladies végétales et humaines et de leur potentiel croissant dans les applications biotechnologiques (Mena, K.D., et al 2009).

Habitat :

Le genre de *Pseudomonas* se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, les eaux marines etc., mais il a également été isolé des instruments cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (Franzetti L and Scarpellini M 2007).

Classification de *Pseudomonas* :

Les *Pseudomonas* sont classé selon la hiérarchie suivante (Palleroni, N.J. 1984) :

Tableau I. 1 Classification de *Pseudomonas*

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>

Dans l'édition de 1974 du Bergey's Manual, ces bactéries sont incluses dans la famille des Pseudomonadaceae. Leur classification repose sur des caractéristiques phénotypiques, seules la composition en G+C fussent rajoutées comme caractéristique génétique. Dans la première

décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S (Anzai, al 2000).

En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient aux groupe des *Pseudomonas* sensu stricto; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 groupes:

- Le groupe des *P. syringae*.
- Le groupe des *P. chlororaphis*.
- Le groupe des *P. fluorescens*.
- Le groupe des *P. putida*.
- Le groupe des *P. stutzeri*.
- Le groupe des *P. aeruginosa*.
- Le groupe des *P. pertucinogena*.

Depuis l'an 2000, la reclassification continue toujours d'être améliorée .Plusieurs espèces étant mal classées comme *P. aureofaciens* et *P. aurantiaca* qui sont désormais des sous espèces du groupe *P. chlororaphis* (Johnson, J. L. et N. J. Palleroni. 1989), qui compte actuellement trois sous espèces: *P. chlororaphis* subsp. *chlororaphis* subsp. nov; *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* subsp. nov. comb. nov. et *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* subsp. nov. comb. nov. (Peix, et al., 2007) .

Caractéristiques morphologiques et culturaux :

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur, non sporulés. Ces bactéries sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (Garrity, G.M. 2005).

La culture de ces bactérie est facile avec ou sans production de pigments, sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base de cétimide que l'on peut additionner d'acide nalidixique.

Les colonies de *P.aeruginosa* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (oeufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes (Avril, J. M., Dabernat, H., et Monteil, D. H. 2000).

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes produisant des pigments

spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture. Les espèces pigmentées sont par exemple : *P. aeruginosa* produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine et *P. aureofaciens* : produit un pigment jaune orange ou pourpre. Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes*, *P. (stutzeri)* Martin, C. 2007).

Les interactions microorganismes-plantes dans la rhizosphère

Les interactions microorganismes-plantes dans la rhizosphère ont une grande influence sur l'état sanitaire des plantes et sur la qualité des sols. Ces micro-organismes peuvent s'associer aux racines et aider la plante à tolérer les stress abiotiques et biotiques, notamment le déficit hydrique, les déséquilibres nutritionnels et les attaques des phytopathogènes (Jaizme-Vega M.D et al., 2004). La lutte biologique contre les maladies cryptogamiques ou bactériennes des plantes fait souvent appel aux communautés bactériennes vivant dans le sol, particulièrement celles adaptées aux rhizosphères (rhizobactéries) (Suty L., 2010). qui peuvent intervenir dans l'amélioration de la croissance et la protection des plantes (Leinhos V., 1994);(Zahir Z.A 2004); (Zhang H et al., 2007) L'ensemble de ces rhizobactéries est regroupé sous le terme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) (Kloepper J.W. and Schroth M.N., 1978); (Kloepper J.W et al., 1980).

Les PGPR sont caractérisés par une capacité d'adaptation physiologique et métabolique polyvalente (Sturz A.V., Christie B.R., 2003), formant un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques de la rhizosphère (Soltani A.A., 2010). Ces rhizobactéries varient selon leur degré de proximité à la racine et l'intimité de l'association. En général, elles peuvent être séparées en PGPR extracellulaires, existant dans la rhizosphère ou dans l'espace intercellulaire du cortex racinaire (bactéries non symbiotiques) et des PGPR intracellulaires, qui pénètrent dans les cellules racinaires, généralement sont spécialisés dans la nodulation (bactéries symbiotiques) (Gray E.J., and Smith D.L., 2004). Les genres connus comme PGPR : *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* (Nakkeeran S et al., 2005), (*Serratia* Liu L., Kloepper J.W., and Tuzun S., 1995) *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Caballero-Mellado J et al., 2004).

L'installation des PGPR dans la rhizosphère est influencée par les substances libérées par les racines des plantes (Figure 1) (Prescott L.M et al., 2003); (Sturz A.V., Christie B.R., 2003). Ces rhizobactéries non seulement augmentent en nombre lorsque ces éléments nutritifs deviennent disponibles mais leur assemblage et leur fonction changent aussi (Prescott L.M et al., 2003).

Dans les dernières décennies, l'utilisation des PGPR est devenue une alternative pour améliorer la production agricole (Vargas L.K. et al., 2009). Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson L. M., 2004). Grâce à leur pouvoir adapté aux conditions rhizosphériques, ajouté à leurs mécanismes d'action bénéfiques, ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (Siddiqui Z.A., 2003) ,le renforcement des capacités défensives des plantes contre les maladies (Siddiqui Van Loon L.C et al., 1998), elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick B.R. et al., 1999) .

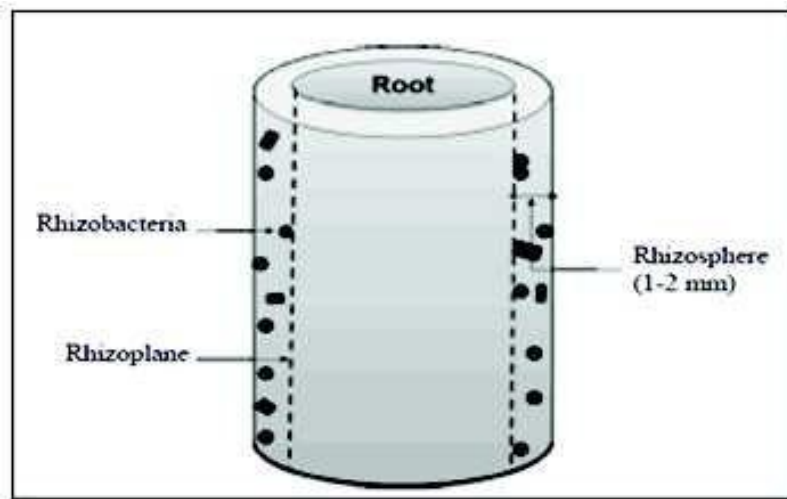


Figure I. 1 Schéma représentant la rhizosphère (Vega N.W.O., 2007).

Selon (Vega N.W.O., 2007), les PGPR peuvent se regrouper comme biofertilisants, phytostimulateurs, sont utilisés dans la formulation de biopesticides et forment d'importants rhizoremediateurs, en dégradant les composés xénobiotiques dans les sols contaminés (Jacobsen C.S., 1997). Traditionnellement, les mécanismes d'action des PGPR sont regroupés en mécanismes directs et indirects (Iqbal A. et al., 2008); (Khakipour N. et al., 2008); (Lugtenberg B. and Kamilova F., 2009) . Bien que la différence entre les deux n'est pas toujours évidente.

En général, les mécanismes indirects se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs interagissent avec la plante et affectent directement son métabolisme (Iqbal A. et al., 2008). Les mécanismes directs sont : la production de molécules stimulatrices (substances volatiles et phytohormones), l'amélioration de l'assimilation des éléments nutritifs (libération du phosphate et d'oligo-éléments à partir de source insoluble, la fixation non-

symbiotique de l'azote et la stimulation de la formation des symbioses) et l'induction des mécanismes de résistance aux maladies. Les effets indirects consistent à lutter contre les agents pathogènes en interagissant directement avec ces derniers, ce qui réduit l'intensité de la maladie (Jacobsen C.S., 1997).

Modes d'action

Durant la colonisation du système racinaire des plantes, les *Pseudomonas* fluorescents peuvent agir sur les phytopathogènes par leurs actions antagonistes en produisant des substances antimicrobiennes (Haas D., Défago G., 2005) et des enzymes lytiques des parois des champignons (Diby P. et al 2005);(Nakkeeran S. et al.,2005). Comme ils peuvent exécuter leurs actions bénéfiques directement sur les plantes, en induisant leurs défenses naturelles (Haas D., Défago G., 2005);[42] et/ou par la stimulation de leur croissance (Figure 3) (Derylo M. and Skorupska A., 1993); (Park K.H et al., 2009).

Interaction *Pseudomonas*-pathogènes

L'utilisation des antagonistes microbiens contre les parasites des plantes dans les productions agricoles a été proposée comme solution de rechange ou complémentaire aux pesticides chimiques (Nakkeeran S et al., 2005). L'antagonisme a été mis en évidence par (Kloepper J.W.,et al 1980), qui ont montré que *P. fluorescens* et *P. putida* exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des champignons et des bactéries telluriques. Ces rhizobactéries ont présenté une forte colonisation des racines de plusieurs plantes et une augmentation significative de leur rendement (Kloepper J.W.,et al 1980).

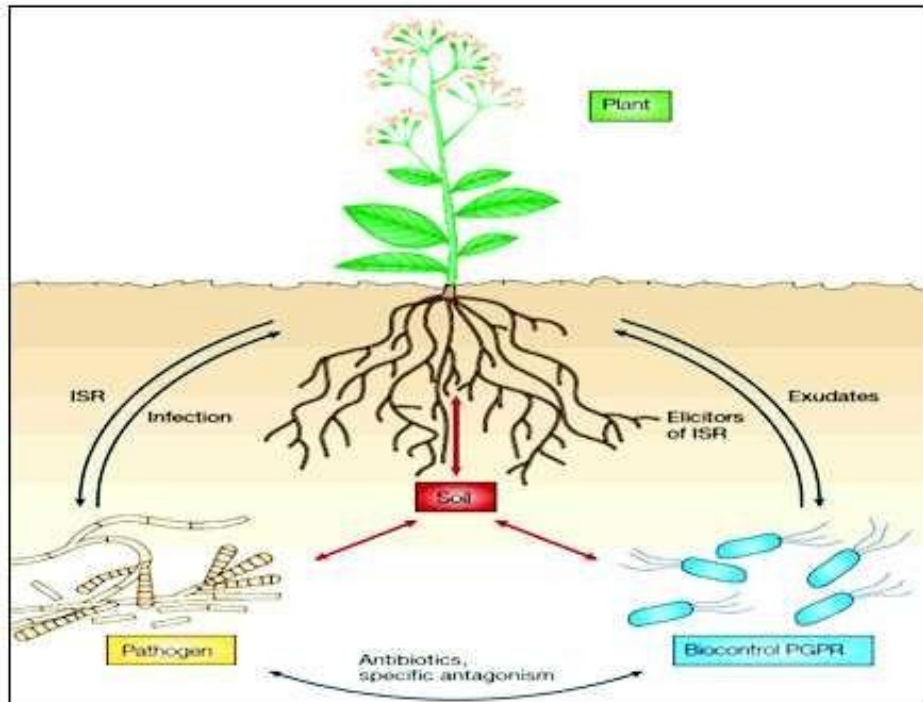


Figure I. 2 Interactions entre les PGPR, la plante, le pathogène et le sol (Haas D., Défago G., 2005).

Ces partenaires interagissent entre eux par des signaux biotiques et abiotiques, dont beaucoup sont encore inconnus.

Plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été signalées par leur effet antagoniste (Lepoivre P. , 2003);(Kwak Y.S. et al., 2011). L'antagonisme peut résulter d'un ou de plusieurs mécanismes en fonction de l'antagoniste impliqué (Whipps J.M. 2001), en faisant intervenir divers métabolites, qui peuvent affecter les pathogènes par des actions d'antibiose et/ou de parasitisme et/ou de complétion trophique.

Compétition trophique et spatiale

La colonisation des systèmes racinaires par *Pseudomonas* spp. fluorescents implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption sur les racines et enfin une compétition pour les substances nutritifs (Jacques P. et al., 1993). Les *pseudomonas* se caractérisent par une capacité élevée à extraire le fer du sol pour leurs besoins nutritionnels (Latour X. et Lemanceau P., 1997);(Whipps J.M. 2001). Dans des conditions de carence en fer, ces bactéries synthétisent les sidérophores (pyoverdine et pyochiline), qui chélatent le fer ; ces molécules sont aussi nécessaires à la croissance. Cette chélation réduit la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Lugtenberg B.J.J. et al., 2001);(Persello-Cartieaux F. et al., 2003););(Suty L., 2010). La réduction de la maladie peut être le résultat d'une colonisation importante des racines ou des sites de

l'infection par ces rhizoactéries bénéfiques, ce qui réduit l'espace nécessaire à la croissance du pathogène (Jacques P. et al., 1993);(Suty L., 2010). Ces caractéristiques expliquent leur aptitude à s'installer en nombre et durablement sur et à proximité des racines (Latour X. et Lemanceau P., 1997).

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 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 :

1. Capables de coloniser les racines ou autre partie de la plante.
2. Lorsqu'elles sont utilisées comme des probiotiques (bio-inoculant), elles doivent survivent, multiplient, et expriment leurs activités promotrices de la croissance des plantes.
3. Doivent promouvoir la croissance des plantes.

Effets 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).

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).

Fixation d'azote

L'azote 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-Wrobel 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).

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 ; Sâenz-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).

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).

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 infimes (Habibi et Karimi, 2014). Plusieurs genres bactériens sont considérés comme des solubilisants de Zn qui comprennent *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Enterobacter*, et *Xanthomonas* (Vaid et al., 2014 ; Naz et al., 2016).

Production des sidérophores

Les sidérophores du grec *pherein* et *sideros*, signifiant « porter le fer » (Vaulont et Schalksont, 2015). Ce sont de petites molécules organiques produites par des microorganismes dans des conditions limitantes 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 microorganismes (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).

Production 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).

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* (Ozidal 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).

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. fluorescens* 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).

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).

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).

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 :

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

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 (Mercado- Blanco 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).

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 du 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).

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).

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).

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).

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).

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 -1,3glucanase 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 PI-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-I (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'endochitinase.

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).

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 (Ramos- Solano et al., 2008).

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).

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 microcolonies, 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).

Matériels et méthodes

Le but de notre travail est de déterminer l'effet bénéfique de certaines souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanées des zones arides et semi arides.

Ce travail comporte deux principales parties, dans la première partie nous avons mis la mise en évidence de l'activité antagoniste *in vitro* contre la souche de champignon pathogène ; il s'agit de *Fusarium culmorum* agent causale de la fusariose du blé. La deuxième est la mise en évidence de l'effet bactérien sur la germination des graines et le biocontrôle des agents fongiques transmis par semences

Matériel biologique

Les souches bactériennes

Dans la présente étude, nous avons utilisé des 7 souches de rhizobactériennes saprophytes, non symbiotique de *Pseudomonas spp.* Ces souches ont été isolées de la rhizosphère de certaines plantes spontanées des zones arides et semi arides. (tableau 1), et identifiées partiellement au niveau de laboratoire de département des sciences agronomiques à l'université d'Amar Thelidji-Laghouat. Nous avons récupéré les souches présidents qui ont été conservé à une température de 4°C, et nous avons procédé à une réactivation sur le milieu gélose King B (annexe 1). a une température 28 ± 2 °C.

Les souches fongiques

Nous avons utilisé un champignon phytopathogène : *Fusarium culmorum* (FC) agent causale de la fusariose du blé, récupéré de laboratoire de l'université Amar Thelidji-Laghouat. Ce champignon a été réactive sur milieu PDA et à une température d'incubation de $28 \pm$ °C.

Matériel végétal

Pour l'essai de la biostimulation de la germination et le biocontrôle des champignons transmis par semences *In vitro*, nous avons utilisé la variété (WAHA), récupéré au niveau de l'office algérien interprofessionnel les céréales (OAIC) de Laghouat.

Essai d'antagonisme *in vitro*

Par confrontation direct

L'essai antagonisme *in vitro* par confrontation directe a été réalisée en utilisant sept souches bactériennes jeunes âgées de 24h, qui ont étéensemencé sur un seul milieu de culture solide TSA (Annexe 1). Où la crème bactérienne a été déposée en spot bactérien à la périphérie de la boîte de Pétri, à de 2cm du centre de la boîte.

Les champignons phytopathogènes testés (FC T7 et FC 337), âgés de 7 jour, ont été déposés en disque mycélien de 5 mm de diamètre, au centre de boîte de Pétri, le même jour que l'inoculum bactérien.

Pour estimer l'activité antagoniste, nous avons déposés des disques pour chaque champignon testé seul comme des témoins sur d'autres boîtes dans les mêmes conditions d'incubation 28 ± 0.5 °C, l'essai a été réalisé avec deux 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'antagoniste bactérien. Le taux d'inhibition selon Trivedi et al. (2008) est comme suit :

- 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 antagoniste.

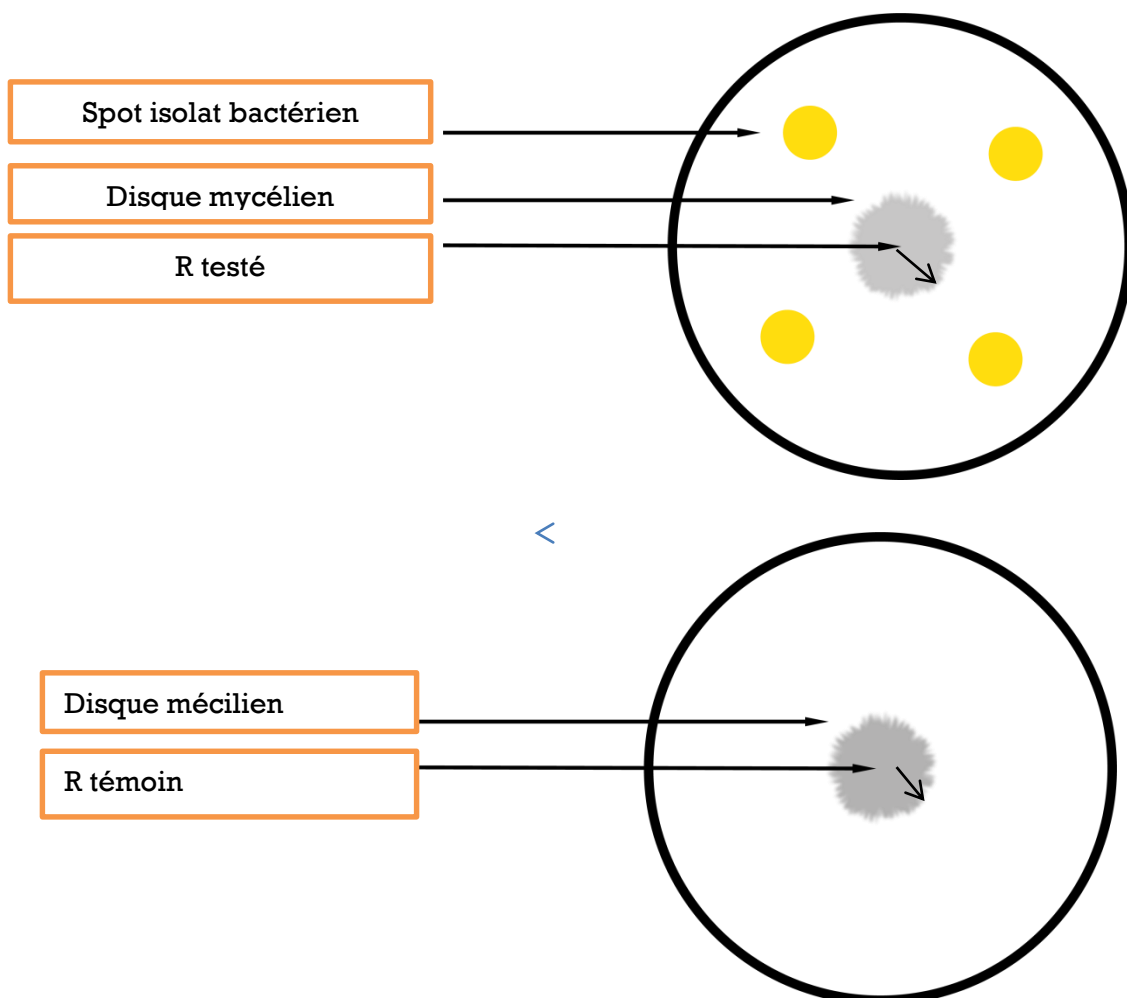


Figure II. 1 Technique de l'essai d'antagonisme in vitro par confrontation directe

Par confrontation indirect :

L'essai antagonisme in vitro par confrontation directe a été réalisée en utilisant sept souches bactériennes jeunes âgées de 24h , qui ont été ensemencé sur un seul milieu de culture solide TSA (Annexe 1). Où la crème bactérienne a été inoculer doucement avec un écouvillon, tirer une verticale jusqu'au milieu de la boîte , remonter légèrement pour décharger entièrement le prélèvement.

Les champignons phytopathogènes testés (FC T7 et FC 337), âgés de 7 jour, ont été déposé en disque mycélien de 5 mm de diamètre, au centre de boîte de Pétri, le même jour que l'inoculum bactrien.

Pour estimer l'activité antagoniste, Cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par superposition des deux boîtes, le *Fusarium culmorum* en bas et l'isolat bactérien en haut (Figure).

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de Parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles (Daami-Remadi, El Mahjoub, 2001).

Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture.

La lecture des résultats a été faite par le mesure de la distance parcourue par le mycélium de l'isolât fongique. Le taux d'inhibition selon Trivedi et al. (2008) est comme suit :

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

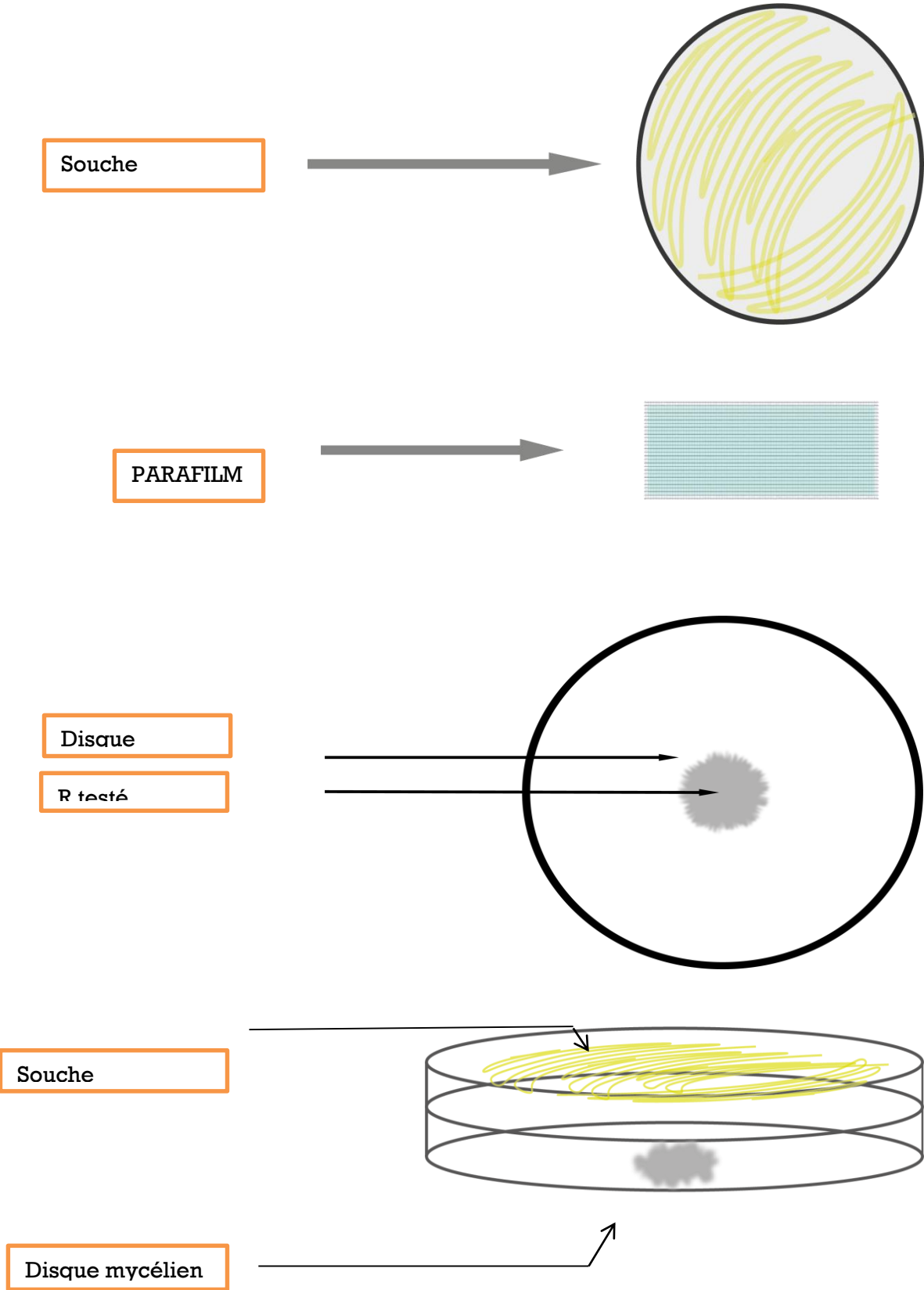


Figure II. 2 Technique de l'essai d'antagonisme in vitro par confrontation indirecte .

Dispositif expérimental

Pour l'essai de l'antagonisme in vitro, nous avons opté pour la randomisation totale à deux facteurs :

Facteur 1 : correspond à la bactérisation, avec 3 niveaux (P12, AZ24, TNB) ;

Facteur 2 : correspond à la concentration de l'inoculum bactérien avec 2 niveaux (10^4 , 10^8).

Essais biostimulation de la germination du blé et biocontrôle in vitro des champignons transmis par semences

Pour étudier l'effet des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la stimulation de la germination et le biocontrôle de l'état sanitaire des semences de blé, nous avons réalisé un essai sur la germination in vitro en utilisant deux souches bactériennes AZ24 et 12 pour estimer la biostimulation de la germination et isoler identifier le champignon contaminant cette semence de blé.

Ces deux souches ont été sélectionnées parmi les autres en se basant sur les travaux réalisés par Djilali (2018) et Belkhadar (2018). D'après les résultats obtenus elles ont la capacité de synthétiser des métabolites tels que les siderophores, des antibiotiques, l'HCN, ainsi que la production de l'acide indole acétique (AIA).

Préparation des suspensions bactériennes

La préparation de la suspension bactérienne des deux souches AZ24 et P12 de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes, a été réalisée à partir d'une culture bactérienne jeune cultivée sur milieu King B et incubée à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h.

Les colonies bactériennes ont été raclées, la crème bactérienne récupérée et mise dans un flacon contenant de l'eau distillée stérile. Nous avons ajusté l'inoculum bactérien à des concentrations de 10^{-4} UFC/ml et 10^{-8} UFC/ml, à l'aide d'un spectrophotomètre à une densité optique DO à 600nm (Fig.3).

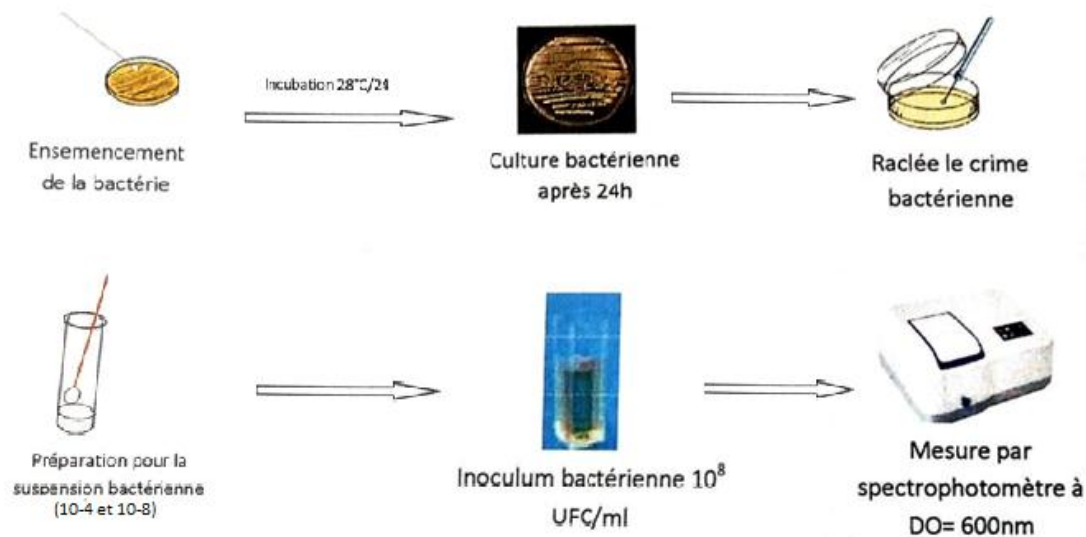


Figure II. 3 Méthode de l'obtention de l'inoculum bactérien

Bactérisation de la semence

La bactérisation des semences a été réalisée par la suspension bactérienne déjà préparée (cf. Matériel et méthode III.2), où nous avons placé la semence dans une suspension bactérienne respective (P12, AZ24) le témoin non bactérisé a été mis dans l'eau distillé stérile, et laissé tout une nuit à une température de 24°C.

Le lendemain et après le séchage de la semence sur du papier absorbant stérile les graines ont été placées sur le milieu de culture DCPA (Annexe 1), nous avons mis 10 graines dans chaque boîte de pétri (fig.4).

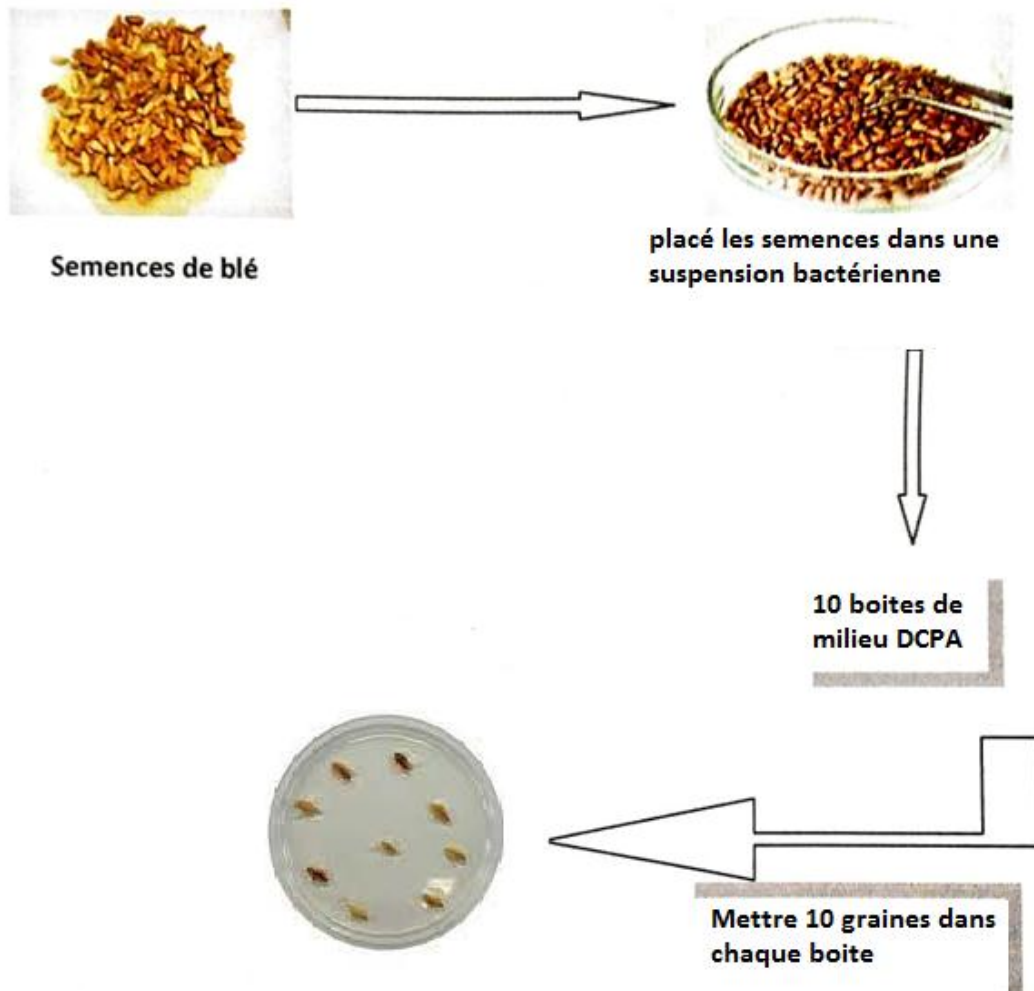


Figure II. 4 Dispositif expérimental

Dispositif expérimental

La germination des graines a été effectuée dans des boîtes de pétri contenant du milieu de culture à raison de dix graines par boîte et 10 boîtes pour chaque traitement. En suit ces boîtes ont été laissées à $(28 \pm 2^\circ\text{C})$ pour la germination pendant 10 jours avec une notation quotidienne.

Le dispositif expérimental adopté est une randomisation totale, représentée par l'interaction des trois facteurs.

- Facteur 01 : correspond à la bactérisation, avec trois niveaux, les souches bactériennes (AZ24,P12) et le témoin non bactérisé.
- Facteur 02 : correspond aux concentrations, avec deux niveaux, 10^4 UFC/ml et 10^8 UFC/ml.

Les traitements en question sont :

-T1,T2, T3 : représentent les graines de la concentrations 10^8 UFC/ml déposés sur milieu DCPA bactérisé par P12,AZ24, et le témoin non bactérisé respectivement ;

-T4,T5, T6 : représentent les graines de la dose 10^4 UFC/ml sur milieu DCPA et bactérisé par P12,AZ24, et le témoin non bactérisé respectivement;

Paramètres étudiés

les graines germées et l'apparition des contaminations fongiques sur les graines. L'évaluation de la stimulation de la germination des graines a été effectuée sur les paramètres suivant:

faculté de germination

La faculté de germination a été révélée par le nombre des graines germées sur le nombre total des graines fois cent selon l'équation suivante :

$$\text{FG\%} = (\text{nombre de graines germées/ nombre total de graines}). 100$$

Longueur des racicules et des feuilles

A l'aide d'un papier millimétré, nous avons mesuré la longueur des racicules et la longueur des feuilles en (cm) après 10 jours.

Indice de vigueur

L'indice de vigueur est calculé sur le bas de la languer des racicules et des feuilles et la faculté de germination selon l'équation suivante:

$$\text{indice de vigueur} = (\text{longueur de racicule} + \text{longueur de feuilles}) \times \text{Faculté de germination}$$

Taux de contamination

Le taux de contamination a été calculée selon le nombre de graines infectés sur le nombre total des graines fois cent.

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

Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été basée sur l'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisé en considérant l'essai aléatoire à l'aide du logiciel statbox végétal 6,9 version d'essai.

La comparaison des moyennes est établie par le test de Nexman-Keuls au seuil de risque d'erreurde5%.

Résultats et discussion

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 le champignon : *Fusarium culmorum* , et deuxièmement par le biocontrôle des champignons transmis par la semence du blé .

D'après les résultats de l'analyse de variance réalisée sur les résultats obtenus de l'essai d'antagonisme *in vitro*, contre le *Fusarium culmorum*, ont indiqué une différence très hautement significative ($P = 0,000$) pour l'ensemble des interactions et les facteurs étudiés , le facteur bactéries et le facteur concentration ont montré une différence très hautement significatifs ($P = 0,000$).

L'analyse de la variance réalisée en même temps sur les résultats obtenus contre le champignon *Fusarium culmorum*, a montré des différences très hautement significatives ($P=0,000$) pour l'ensemble des facteurs étudiés ou interactions.

Pour l'essai de bio-contrôle des champignons transmis par la semence du blé, nous avons présente les taux de contamination ainsi qu'une identification préliminaire des champignons isolés.

Essai d'antagonisme *in vitro* contre *Fusarium culmorum*

L'étude du phénomène d'antagonisme *in vitro* a été effectuée selon la méthode de confrontation directe sur le milieu de culture TSA. L'évaluation de l'inhibition exercée par sept souches bactériennes identifiées comme *Pseudomonas spp.* fluorescents

Confrontation direct

Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative (P : 0,000) pour l'ensemble des interactions et les deux facteurs étudiés, facteurs bactéries, facteur champignon.

Interaction entre les deux facteurs étudiés

D'après l'analyse de variance (Annexe 2), les résultats du taux d'inhibition de l'interaction entre le facteur bactérie et facteur champignon, ont une différence hautement significative (P=0,001), l'isolat (R2 FC 337) indique une bonne réponse d'inhibition classé dans le groupe homogène (A) avec une moyenne supérieure de 94,045 % et suivi par isolats (R2, P212, AZ24, P12, P107, P429) contre le (FC T7) et (P429, P12, P212) contre (FC 337) classé dans le groupe intermédiaire (AB) avec une moyenne de 90,400 %, 86,700 %, 84,925 %, 84,300 %, 82,875 %, 79,400 %, 76,300 %, 72,875 %, 70,900 %, respectivement, suivi par l'isolats (P107 FC 337) avec une moyenne de 69,250 % classé dans le groupe homogène (B), les plus bases performances ont été observé chez les isolats (P706) contre (FC T7) et (AZ24, P706) contre (FC 337) avec une moyenne de 49,950 %, 48,175%, 36,400% classé dans le groupe homogène (C) (Figure 9).

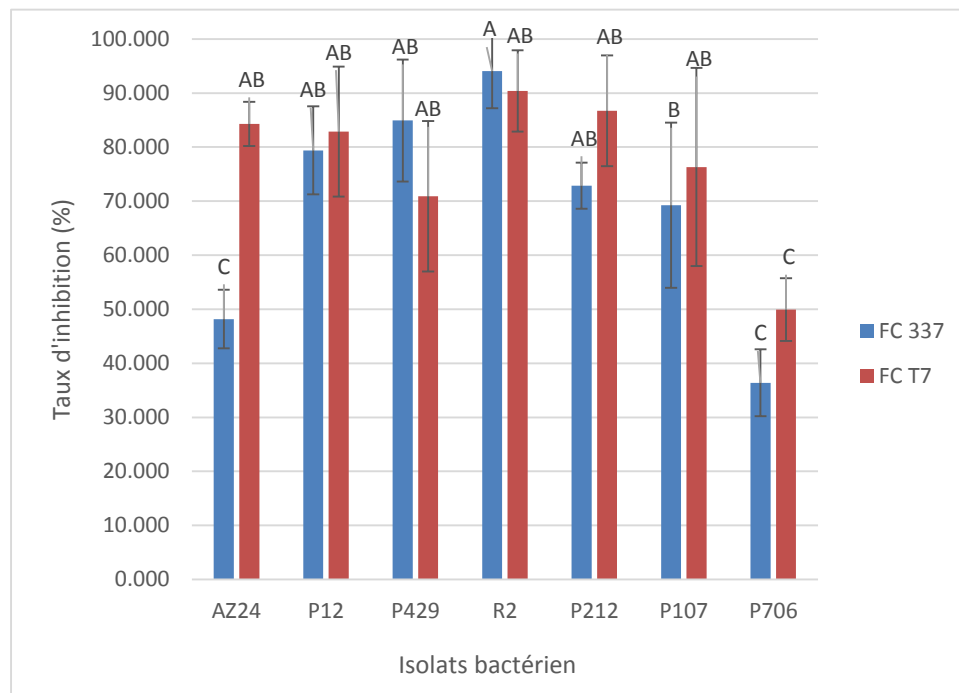


Figure III. 1 Effet de l'interaction entre bactérie et facteur champignon sur le taux d'inhibition de *Fusarium culmorum*

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

FC 337, FC T7 : souches de champignon

R2, P212, P429, AZ24, P12, P107, P706

FC. *Fusarium culmorum*,

Confrontation indirect

Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative ($P : 0,000$) pour l'ensemble des interactions et les deux facteurs étudiés, facteurs bactéries, facteur concentration.

Interaction entre facteur bactérie et facteur champignon

D'après l'analyse de variance (Annexe 3), les résultats du taux d'inhibition de l'interaction entre le facteur bactérie et facteur champignon, ont une différence très hautement significatif ($P=0,000$), les isolats (P212 et P107) contre (FC337) ayant les plus forte moyennes avec un taux de 88,333 % et 90,000 % respectivement classé dans le groupe homogène (A), suivi par

les isolats (R2) contre (FC T7) classé dans le groupe intermédiaire (AB) avec une moyenne de 75,060 %, suivi par l'isolats (AZ24 et R2) contre (FC337) avec une moyenne de 60,000 % , 62,250 % respectivement classé dans le groupe intermédiaire (BC), par suit les isolats (P12 et P212) contre (FC T7) ayant une moyenne de 49,120 % , 47,290 % respectivement classé dans le groupe intermédiaire (CD), suivi par les isolats (P107) contre (FC T7) et (P706) contre (FC337) classé dans le groupe homogène (DE) avec une moyenne de 33,157 % , 34,583 % respectivement, ensuit par le groupe intermédiaire (DEF) les isolats (P429) contre (FC337) et (P429) contre (FC T7) et (P12) contre (FC337) avec une moyenne de 25,833 % , 27,990 % , 28,333 % respectivement , suivi par l'isolat (P706) contre (FC T7) avec une moyenne de 19,543 % classé dans le groupe intermédiaire (EF) , alors qu'une faible moyenne de a été obtenu par l'isolat (AZ24) contre (FC T7) avec une moyenne de 7,467 % classé dans le groupe homogène (F) .

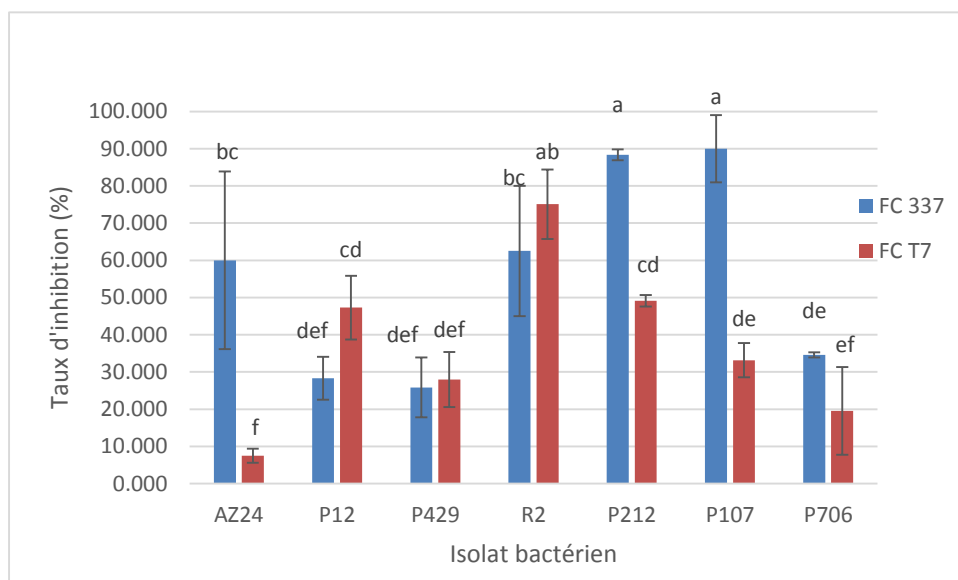


Figure III. 2 . Effet de l'interaction entre bactérie et facteur champignon sur le taux d'inhibition de FC

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

FC 337, FC T7 : souches de champignon

R2, P212, P429, AZ24, P12, P107, P706

FC. Fusarium culmorum,

Taux de germination

Facteur bactérisation sur t de g (10^8 UFC/ml)

Les analyses statistiques (Annexe 3), obtenu ont montré une différence significatif (P : 0,027), pour le facteur bactérie, la moyenne supérieure a été enregistré par la souche (P12) avec 79,000 % classé dans le groupe homogène (A), suivi par le groupe intermédiaire (AB) avec une moyenne de 63,000 % enregistré par la souche (AZ24) , suivi par la souche (TNB) avec une moyenne de 57,000 % classé dans le groupe homogène (B (figure11).

Facteur bactérisation (10^4 UFC/ml)

L'analyse de variance (Annexe 3), a permis d'indiquer que les résultats obtenus ont une différence hautement significative (P : 0,001), pour le facteur bactérie les souches (AZ24) et (P12) ont donné les meilleurs taux de germination et ont été classé dans le groupe homogène (A) avec des moyennes de 89,000 % et 81,000 % respectivement, la souche (TNB) a été classée dans le groupe homogène (B) avec un taux de 57,000 %. (Figure 12).

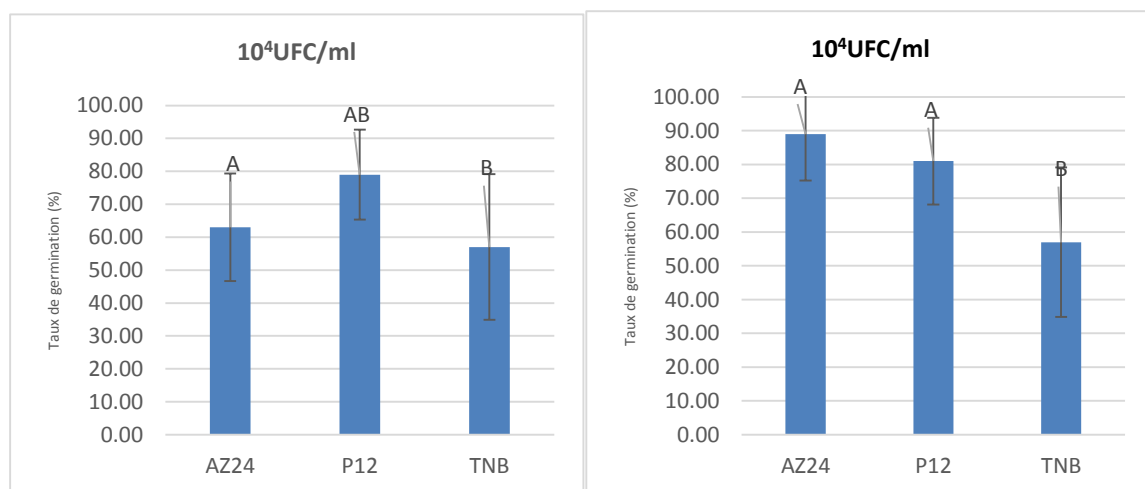


Figure III. 3 Taux de germination

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

P12, AZ24 : souches de *Pseudomonase* spp.fluorescents

TNB : témoin non bactérisé

Indice de vigueur

Facteur bactériation (indice de vigueur 10⁸UFC/ml)

Selon l'analyse de variance (Annexe 4) effectuée sur l'indice de vigueur a montré que le facteur bactérie est très hautement significative ($p = 0,000$). Le meilleur résultat a été enregistré par la souche (P12) avec une moyenne de 1341,500 qui a été classé dans le groupe homogène (A), suivi par les souches (AZ24) et (TNB) avec des moyennes de 706,000 et 594,775 respectivement et classé dans le groupe (B).

III. 1. 1. 1 Facteur bactériation (indice de vigueur 10⁴UFC/ml)

Les résultats obtenus de l'analyse statistique (Annexe 4), effectuée sur l'indice de vigueur a montré que le facteur bactérie est significative ($p = 0,088$). Les souches (P12) et (AZ24) ont les meilleurs résultats avec des moyennes de 699,915 et 662,083 respectivement, qui ont classé dans le groupe homogène (A), suivi par la souche (TNB) avec moyenne de 594,775 classé dans le groupe homogène (B).

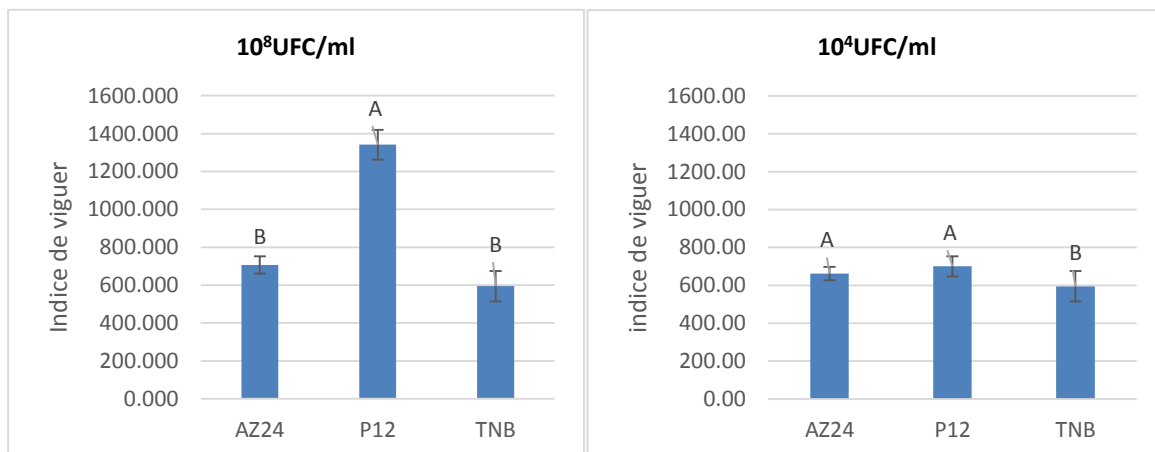


Figure III. 4 Effet de facteur Bactériation sur l'indice de vigueur

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

P12, AZ24 : souches de *Pseudomonase spp.fluorescents*

TNB : témoin non bactérié,

La longueur des tiges

Effet de la concentration bactérienne sur la longueur des tiges (10⁸UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe5) réalisé sur la longueur des tiges a révélé une différence très hautement significative ($p=0,000$) la souche (P12) à classé dans le groupe homogène (A),

avec une longueur moyenne de 13,298cm, et le témoin non bactérié et la souche (AZ24) ont donné une longueur moyenne de 9,223cm et 9,178cm respectivement, classé dans le groupe homogène (B).

III. 1. 1. 5. 2 Effet de la concentration bactérienne sur la longueur des tiges (10⁴UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe5) réalisé sur la longueur des tiges a révélé une différence significative ($p=0,038$) le témoin non bactérié (TNB) a classé dans le groupe homogène (A), avec une longueur moyenne de 9,181cm, et les souches bactériennes (AZ24) et (P12) ont donné une longueur moyenne de 6,318cm et 5,745cm respectivement, classé dans le groupe homogène (B).

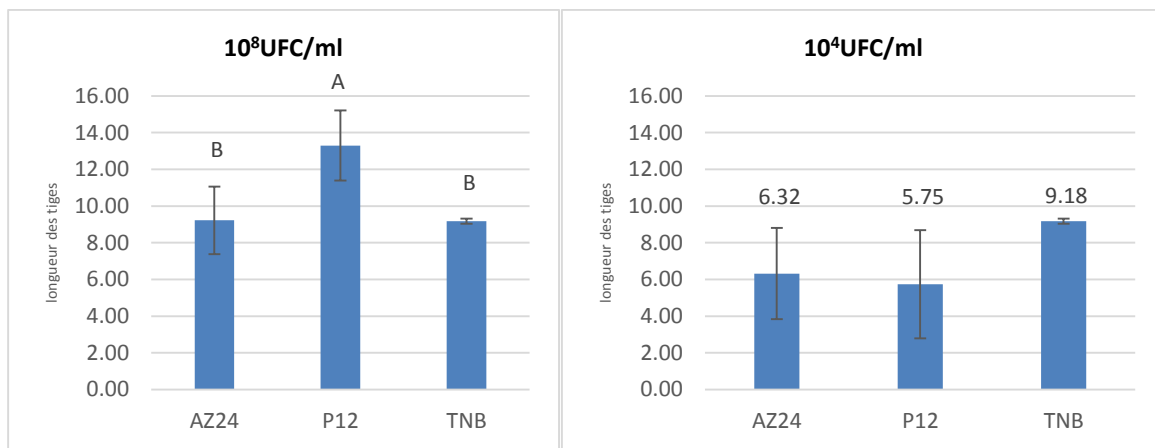


Figure III. 5 Effet de facteur Bactérisation sur la longueur des tiges

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

P12, AZ24 : souches de *Pseudomonas spp.fluorescents*

TNB : témoin non bactérié,

Longueur des racines

Effet de la concentration bactérienne sur la longueur des racines (10⁸UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe5) réalisé sur la longueur des tiges a révélé une différence hautement significative ($p=0,019$) la souche (P12) a classé dans le groupe homogène (A), avec une longueur moyenne de 3,388 cm ,et la souche bactériennes (AZ24) et le témoin non

bactérisé (TNB) ont donné une longueur moyenne de 2,383cm et 2,277cm respectivement, classé dans le groupe homogène (B) .

Effet de la concentration bactérienne sur la longueur des racines (10⁴UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe5) réalisé sur la longueur des racines a révélé une différence hautement significative (p=0,006), le témoin no bactérisé (TNB) a classé dans le groupe homogène (A), avec une longueur moyenne de 2,277 cm, et les souches bactériennes (P12) et (AZ24) ont donné une longueur moyenne de 1,777cm et 1,583cm respectivement, classé dans le groupe homogène (B).

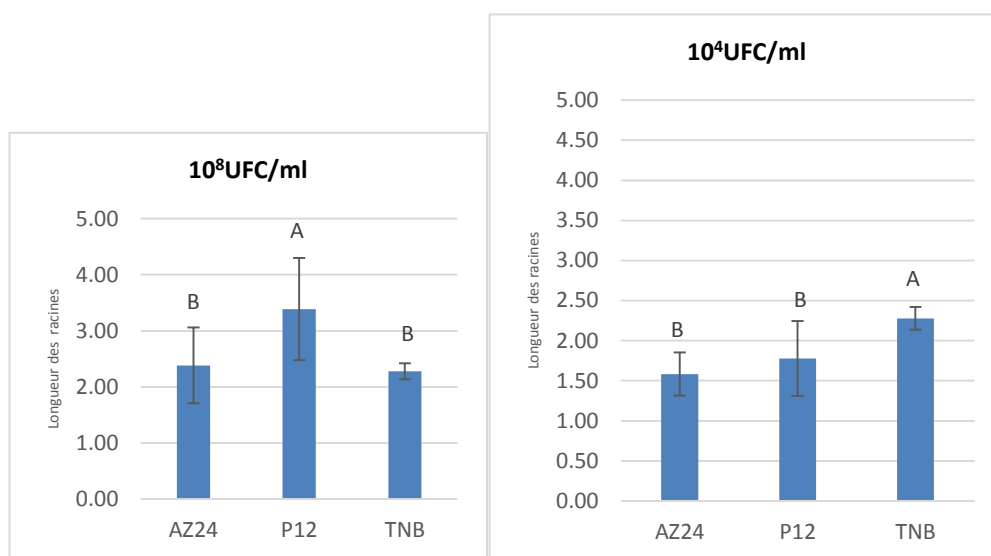


Figure III. 6 Effet de facteur Bactérisation sur la longueur des racines

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

P12, AZ24 : souches de *Pseudomonase spp.fluorescents*

TNB : témoin non bactérisé,

Taux de contamination

Effet de la concentration bactérienne sur le taux de contamination (10⁸UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe6) réalisé sur le taux de contamination a révélé une différence très hautement significative (p=0,000) , le témoin no bactérisé (TNB) est classé dans le groupe homogène (A) avec un taux de 29,00 % ,par suite la souche bactérienne (P12) a donné un taux de 16,00 % et classé dans le groupe homogène (B) , et à la fin la souche (AZ24) classé dans le groupe homogène avec un taux de 00,00 % .

Effet de la concentration bactérienne sur le taux de contamination (10^4 UFC/ml)

L'analyse de variance (annexe6) réalisé sur le taux de contamination a révélé une différence très hautement significative ($p=0,000$), la souche bactérienne (P12) et le témoin no bactérisé (TNB) sont classé dans le groupe homogène (A), avec un taux moyenne de 39,00 % et 29,00 % respectivement, et la souche bactérienne (AZ24) a donné un taux de 00,00 % , classé dans le groupe homogène (B) .

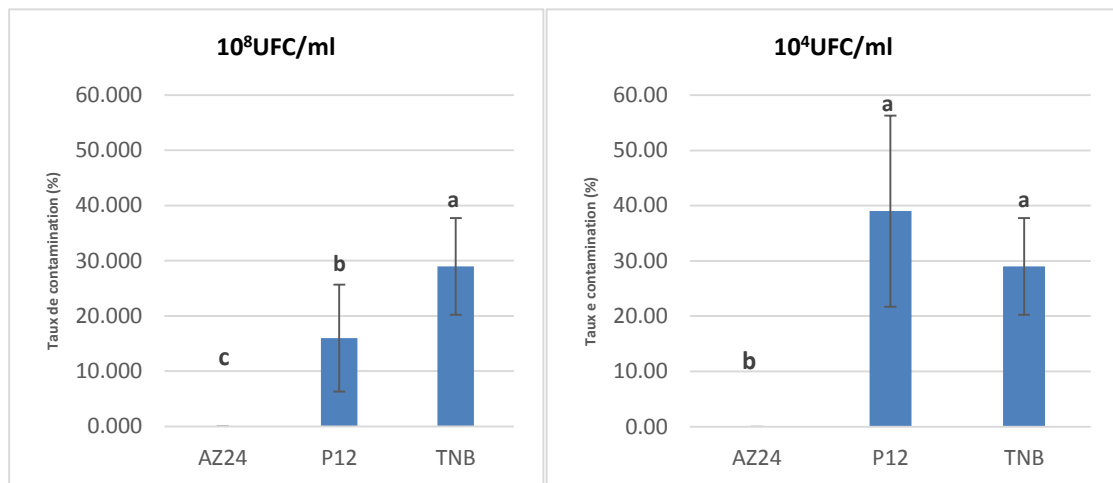


Figure III. 7 Effet de facteur Bactérisation sur le taux de contamination

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

P12, AZ24 : souches de *Pseudomonase* spp. fluorescents

TNB : témoin non bactérisé,

Discussion

Dans cette partie nous discuterons les résultats des effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. *Fluorescents*, les résultats de l'effet antagoniste contre le champignon phytopathogènes, le *Fusarium culmorum* (FC), *In vitro*. Cet essai a été réalisé par confrontation direct et indirecte entre les deux champignons pathogènes et sept (07) isolats bactériens isolés de la rhizosphère des certaines plantes spontanées de certains régions arides et semi arides. Et les résultats de l'effet phytobénéfiques et phytostimulation transmis par la semence du blé.

Concernant l'activité antagoniste sur l'essai par confrontation direct, avec un taux qui varies entre 94,05 % et 7,467 %, la souche la plus antagoniste contre le *Fusarium culmorum* par

confrontation directe selon les analyses des variances est la souche (R2) contre (FC 337) à un taux d'inhibition de 94,045 %. Par contre, les isolats (P212 et P107) contre (FC 337) est considérée comme la plus inhibitrice avec du taux d'inhibition de 88,333 % et 90,000 % respectivement, contre le *Fusarium culmorum* par confrontation indirecte.

Selon plusieurs auteurs les activités antagonistes peuvent être attribuées à la synthèses d'antibiotique et à d'autre type de métabolites secondaires à effet d'antibiose (Lemanceau et al., 1988 ; Keel et Défago, 1991 ; Défago, 1993 • Digat, 1992 ; Keel et al., 1992 ; Kell et al., 2001) et à la compétition pour les nutriments et pour l'espace (Bloemerg et Lugtenberg, 2001 ; Jetyanon et Kloepper, 2002 ; Persello-Cartieaux et al., 2003).

En plus de l'action des antibiotique, ou les sidérophores, des substances volatiles, des enzymes sont connues comme agents principal dans la réduction de la croissance des agents pathogène, (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 résistance à L'HCN, et sont relativement insensibles à ce dernier (Voisard et al., 1989 ; Blumer et Haas, 2000).

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).

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 cellulaire fongique (Stanier et al., 1966). Les chitinases, sont des enzymes hydrolytiques d'importance majeure, puis que la chitine est le constituant majeure de la majorité es 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).

La souche (P12) à 10^8 UFC/ml à enregistrée le meilleur taux de germination avec 81,00 % et comparais avec le témoin non bactérié à l a même concentration soit de la dose 1 avec 57,00 % et du témoin no bactérié à 10^8 UFC/ml avec de taux de 57,00 % , la même souche a la même concentration a enregistrée l'indice de vigueur le plus élevée 1341,50 comparais avec le témoin non bactérié, et a 10^8 UFC/ml la souche (P12) avec un taux de 699 , on marque le changement sur l'indice de vigueur de la souche seulement .

Alors que pour la Souche (AZ24) a enregistré un taux un peux plus 63,00 % que l'un obtenu par le témoin non bactérié 57,00 % à la mémé dose 1, et même sur la 2éme dose la souche a obtenu le taux le plus élevé avec 89,00 % comparais celui obtenue par le témoin no bactérié avec un taux de 57,00 % , alors que pour l'indice de vigueur ou la souche (AZ24) à la même dose qui a le taux de germination a enregistrée un indice de vigueur 706,00 comparais avec le témoin non bactérié la même concentration soit dose 1 avec 594,77, et de témoin no bactérié à dose 2 avec un indice de vigueur de 594,775 .

la compétition pour les nutriments et pour l'espace (Bloemerg et Lugtenberg, 2001 ; Jetyanon et Klopper, 2002 ; Persello-Cartieaux et *al.*,2003).

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 utilisée (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 ; 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 (Abouvette 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).

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 sont capables de protéger les plantes d'une grande variété de pathogène bactériens, fongique et oomycètes. Cette protection, a été principalement attribuée à la production d'antibiotique (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 identifèrent 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 Waller, 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 phénazique 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 générique (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 ; Marrison 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).

Pour l'essai du biocontrôle des champignons transmis par la semence du blé, les résultats obtenus ont montré l'efficacité de l'isolat testé P12 avec des taux de 39,00 % ,au contraire de AZ24 qui a un taux de 00 % dans le deux dose , avec le témoin non bactérisé TNB a un taux de 29,00 % .

Les métabolites sécrétés par la bactérie peuvent agir sur le champignon phytopathogène comme fongistatique, inhibiteur de la germination des spores, fongicide ou en lisant le mycélium (Gloud, 1990 ; Tarnawski, 2004). Selon Villing (1990).

Les composés volatils tels que l'ammoniac et le cyanure d'hydrogène (HCN) sont produits par un grand nombre de rhizobactéries et jouent un grand rôle dans le biocontrôle en culture « in-vitro », la production de l'HCN peut inhiber la croissance de plusieurs agents phytopathogènes (Bulmer et al., 2000).

Voisard et al. (1989) ont montré que la capacité de suppression de la pourriture noire de tabac causée par *Thielaviopsis basicola* semble être due principalement à la production d'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).

La souche CHAO de *P. fluorescens*, agent de biocontrôle, colonisant les racines et protégeant de nombreuses plantes des maladies causées par les champignons telluriques (Voisard et al., 1994). La production d'HCN par la souche CHAO est suppressive vis-à-vis de la pourriture noire du tabac causée par *Thielaviopsis basicola* (Sacherer et al., 1994). GacA-mutant de la souche CHAO, déficient en la production d'HCN, d'antibiotiques et d'exoenzymes, perd son habilité à protéger le tabac de la pourriture noire. D'autres parts, des CHAO déficients en HCN, sont moins effectifs dans le contrôle du take-all du blé. Alors que la complémentation de ce mutant par des gènes *hcn+* clonés à partir de la souche restaure l'habilité de biocontrôle (Voisard et al., 1989).

Les autres métabolites qui peuvent intervenir dans l'antagonisme in vitro peuvent être la compétition pour les nutriments, et pour l'espace (Lemanceau, 1992).

D'après les résultats obtenus de l'essai de biostimulation de la germination et le contrôle de champignon transmis par cette semence effectuée sur la variété vitron du blé dur (*Triticum durum*).

Pour le test de phytostimulation de germination in vitro. D'après l'analyse de la variance de test de germination in vitro, nous avons enregistré des résultats hautement significatifs pour tous les facteurs étudiés. Kumar et al. (2012), ont montré que la plupart des espèces de

Pseudomonas spp. Isolées et testées ont un effet dans la promotion de la croissance des semis de sorgho.

D'une manière générale les meilleurs résultats sont obtenus par la souche AZ24 avec la dose 2 à un taux de germination de 90%, et d'après les travaux de Djilali (2018) nos bactéries sont capables de la synthèse d'AIA. Cela signifie aussi que peut-être la souche AZ24 est capable sécréter phytohormone qui stimule légèrement la germination des graines.

Car Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont des producteurs d'AAC-désaminase (Glick et 1994). L'AAC-désaminase est une phytohormone capable de lever la dormance des graines.

L'acide indole acétique 'AIA', présente un intérêt potentiel pour l'amélioration des rendements agricoles par stimulation de la croissance de la plante par stimulation la germination des semences, augmentant le développement des racines et le contrôle des Processus de croissance végétative (Loper et Schroth, 1986 ; Spaepen et al.,2007) et dans la Prolifération des poils absorbants (Spaepen et al.,2007). Abbass et Okon (1993), ont constaté que ainsi que Vautre phytohormone seraient responsables de l'augmentation de la croissance de canola du blé et de la tomate. De même van wess et al., (2000), rapportent que la induite par PGPR est la conséquence de synthèse de métabolites secondaire analogues au phytohormones, telles que les gibbérellines, les cytokinines, les et l'acide abscissique (Zahir et al., 2004). Les cytokinines et les gibbérellines produites par les *Pseudomonas* sont impliquées dans la modification de la morphologie des et dans la stimulation de développement de la partie aérienne (van Loon, 2007, Karnwal, 2009).

C'est vrai que nous n'avons pas observé l'apparition de champignons sur la semence par l'AZ24, mais n'empêche qu'elle inhibe la germination, l'élongation des racines et la formation de tiges qu'a une influence sur l'indice de vigueur, surtout pour la semence a **10⁴UFC/ml** nous pouvons déduire que la présence de l'autres micro-organismes à déclencher une compétition pour les nutriments et pour l'espace. Ces résultats orientent vers une autre piste de recherche.

Les résultats obtenus dans le test d'antagonisme et de phytostimulation, concordent avec ceux déjà obtenus dans plusieurs recherches réalisées par Benchabane, (2005) ; Toua et al., (2013) ; Ouserir, (2009) ; Yala, (2016).

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 l'agent de la fusariose vasculaire, le *Fusarium culmorum* et sur la phytostimulation de champignons transmis par la semence de blé.

Dans ce travail, nous avons effectué l'études sur sept isolats bactériens (AZ24,R2,P429,P105,P706,P107,P12) , isolés de la rhizosphère des plantes spontanées des régions arides et semi-arides , pour tester leur habilité et leur capacité d'antagonismes *In vitro*.

Pour l'essai de confrontation directe *In vitro* contre le champignon pathogène *Fusarium culmorum* les sept souches ont montré une capacité d'antagoniste élevé , la souche R2 avec le taux le plus élevé de 94,045 % , a révélé une inhibition de la croissance mycélium de l'agent pathogène testé et elle a marqué une très bonne performance .

Selon les résultats marqués du phytostimulation présente sur la semence de blé indique que l'isolat AZ24 a révélé un taux de contamination nul 0,00% , au contraire de le témoin non bactérisé avec 29,00% , qui est inferieur à celui enregistré par l'isolat P12 soit 39,00 % .

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 de agents phytopathogènes.

Et pour faire suite à cette études, 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 êtres spécifiques selon les souches ;
- Tester les souches AZ24 et P12 *in vivo* et *in situ* et même en plein champs pour améliorer la croissance et la santé des plantes agronomiques comme biofertilisants, biofongicides ou biopesticides dans la culture agricole ;
- Enfin du côté d'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.
- Étudie l'effet de l'autre souche sur la germination des graines, dans un essai de bio stimulation de la croissance de plantes cultivées et dans l'antagonisme.

conclusion

- Etudier profondément les métabolites secrétés par ces souches.

conclusion

- Alori, E.T., Glick, B.R., and Babalola, O.O. (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Front. Microbiol.* 8p.
- 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, 47-58p.
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1563–1589p.
- Arkhipova T.N., Veselov S.U., Melantiev A.I., Marty N.E.V., Kudoyerova G.R., 2005. Ability of bacterium *Bacillus* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272, 201-209p.
- 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* (411-449p): Springer.
- Aslantas R., Cakmakci R., Sahin F. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apples trees growth and fruit yield under orchard conditions. *SCI HORT.*, 111 (4), 371-377p.
- Avril, J. M., Dabernat, H., ET Monteil, D. H. (2000). *Bactériologie clinique*. 3^{ème} Ed. EdEllepses. Paris. 602 p.
- Babalola O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett*, 32, (11), 1559-1570p.
- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., and Van Loon L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 (2), 239-243.
- Benchabane M, Toua D, et Ameer 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. growth promoting rhizobacteria (PGPR): Their Potential as antagonists and biocontrol agents. Universidade do Rio Grande do Sul, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 4 (ppl), 1044-1051p.

conclusion

- Caballero-Mellado J., Martínez-Aguilar L., Paredes-Valdez G., and Estrada-de L.S.P., 2004. *Burkholderiaunamae* sp nov.a N2-fixing rhizospheric and endophytic species, Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 54, pp 1165-1172.
- Choudhary D.K. and Johri B.N., 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). Microbiological Research, 164, (5), pp 493-513.
- Cook, R., Bruckart, W., Coulson, J., Goettel, M., Lumsden, R., Maddox, J., McManus, M., Moore, L., Meyer, S., Quimby, P., Stack, J et Vaughn, J. (1996). Sécurité des micro-organismes destinés à la lutte antiparasitaire et de lutte contre les maladies des plantes: un cadre pour l'évaluation scientifique. Biol. Contrôle. 14-24p.
- Damam, M., Kaloori, K., Gaddam, B., Kausar, R. (2016). Plant growth promoting substances (phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants. Int. J. Pharm. Sci. Rev. 37: 130—136.
- De Coste N.J., Gadkar V.J. and Filion M., 2010. *Verticilliumdahliae* alters *Pseudomonas* spp. populations and HCN gene expression in the rhizosphere of strawberry. Canadian Journal of Microbiology, 56 (11), 906-915p.
- Derylo M. and Skorupska A., 1993. Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. Plant and Soil, 154, 211-217p.
- Diby P., Saju K.A., Jisha J.P., Sarma Y.R., Kumar A., Anandaraj M., 2005a. Mycolytic Enzymes Produced by *Trichoderma* and *Pseudomonas fluorescens* spp. Against *Phytophthora capsici*, footrot pathogen of the black pepper (*Piper nigrum* L.). Annals of Microbiology, 55, (2), 129-133p.
- Diby P., Sarma Y.R., Srinivasan V. and Anandaraj M., 2005b. *Pseudomonas fluorescens* mediated vigour in Black pepper (*Piper nigrum* L.) under green house cultivation. Annals of Microbiology, 55, (3), 171-174p.
- Digat, B and L. Gardan, (1992). Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Bull OEPP 17: 559-568p.
- Dimkpa, C., I. Tanjawi, et F. Asch., 2009. Plant—rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant Cell Environ. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x.
- Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., Abdallah, E.F., and Hashem, A. (2017). Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. Front. Microbiol. 8p.

conclusion

- 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.
- Franzetti L and Scarpellini M 2007 Franzetti L and Scarpellini M (2007). Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology*. 57(1): 39-47. *Immunol*, 322: 249- 289. *Interface*•, *Microbes and Microbial Technology*, Springer, New York, pp. 59-85.
- Garrity, G.M. (2005). The Proteobacteria - Part B: The Gamma proteobacteria. In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'. (Springer: New York).
- Georgakopoulos D., Hendson M., Panopoulos N.J., and Schroth M. N., 1994, Cloning of a phenazine biosynthetic locus of *Pseudomonas aureofaciens* PGS12 and analysis of its expression in vitro with the ice nucleation reporter gene. *Appl. Environ. Microbiol*, 60, pp 2931-2938.
- 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.
- Glick B.R., Patten C.L., Holguin G. and Penrose D. M. (Eds.), 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK, 270 p.
- Goudaa, S., Kerryb, R.G., Dasc, G., Paramithiotisd, S., Shine H.S., Patra K. J. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res*. 206: 131—140.
- Gray E.J., and Smith D.L., 2004. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. 37 (3), pp 395-412.
- Grobkinsky DK, Tafner R, Moreno MV, Stenglein SA, Garcia de Salamone IE, Nelson LM, Novák O, Strnad M, Van der Graaff E and Roitsch T, (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20- 18 determines.
- Gopalakrishnan, S., Upadhyaya, H., Vadlamudi, S., Humayun, P., Vidya, M.S., Alekhya, G., (2012). Plant Singh, A., Vijayabharathi, R., Bhimineni, R.K., Seema, M., et al. Growth promoting traits of biocontrol potential bacterium isolated from rice rhizosphere. *Springer Plus* 1, 71.
- Haas D., Défago G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Review of Microbiology*, 3, pp 307-319.

conclusion

- Habibi, M.H., and Karimi, B. (2014). Préparation, 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.
- 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.
- 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. (ed.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer India 23.
- Iqbal A., John P. and Shamsul H., 2008. *Plant-Bacteria Interactions*. Copyright, Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 310 p.
- Jacobsen C.S., 1997. Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* DBO1 (pRO101) in 2, 4-D contaminated soil. *Plant Soil*, 189, 139-144p.
- Jacques P., Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Thonart P., 1993. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier Agriculture*, 2, pp 301-307.
- Jaizme-Vega M.D., Carmen R.R., Ana S., and Guerra M., Sol P., 2004. Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated bananas. *CIRAD, EDP Sciences*, 59, pp 83-90.
- Johnson, J. L. et N. J. Palleroni. (1989). Deoxyribonucleic acid similarities among *Pseudomonas* species, *International Journal of Systematic Bacteriology* 39:230-235.
- Karadeniz A., Topcuoglu S.F., Inan S., 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World. J. Microbiol. Biotech.* 22 (10), pp 1061-1064.
- Khakipour N., Khavazi K., Mojallali H., Pazira and E., Asadirahmani H., 2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4,

conclusion

- Kloepper J.W. and Schroth M.N., 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Ed. Station de Pathologie Végétale ET Phytobactériologie, 2, pp 879-882.
- Kloepper J.W., Leong J., Teintze M. and Schroth M.N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, pp 885- 886.
- Kumar P, Dubey RC ,2012. Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol Phytopathogens and Yield Enhancement of *Phaseolus vulgaris*. *J Curr Pers App Microbiol*.
- 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.
- Kwak Y.S., Han S., Thomashow L.S., Rice J.T., Paulitz T.C. , Kim D ., Weller D M., 2011. *Saccharomyces cerevisiae* Genome-Wide Mutant Screen for Sensitivity to 2, 4-Diacetylphloroglucinol, an Antibiotic Produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology*, 77, (5), pp 1770-1776.
- Latour X. et Lemanceau P., 1997. Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie*, 17, pp 427-423.
- Leinhos V., 1994. Effects of pH and glucose on auxin production of phosphate-solubilizing rhizobacteria *in vitro*. *Microbiological Research*, 149, pp 135-138.
- Lemanceau P., 1992. Beneficial effects of rhizobacteria on plants : exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12: 413-437.
- Lepoivre P., 2003. *Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*. De Boeck Université, Bruxelles, 432 p.
- Li J, Xu H, Liu W, Zhang X, Lu Y, (2018). Ethylene Inhibits Root Elongation during Alkaline Stress through AUXINI and Associated Changes in Auxin Accumulation. *Plant physiology*, Vol: 168 1777-1791.
- Liu L., Kloepper J.W., and Tuzun S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt By plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 85 (6), 695-695p.

conclusion

- Loper, J.E. (1988). Rôle of Fluorescent sidérophores production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology* 78, 166—172p.
- Van Loon, L.c. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 1 19: 243-254p.
- Lugtenberg B. and Kamilova F., 2009. Plant-Growth-Promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541-556p.
- Lugtenberg B.J.J., Dekkers L., and Bloemberg G.V., 2001. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 461-490p.
- Martin, C. (2007). Bacilles à Gram négatif non fermentaires. In : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Ed Elsevier Masson. Paris. P : 330-343
- Mena, K.D., and Gerba, C.P., (2009). Risk Assessment o *Pseudomonas aeruginosa* in Water, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201, 71-115.
- N. (Eds.), *Fungi as Biocontrol agents. Progress, Problèmes and Potentiel*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 9-22.
- Nakkeeran S., Fernando W.G.D. And Siddiqui Z.A., 2005. Plant growth promotinrhizobacteria formulations and its scope in commercialization for themanagement of pests and diseases. In Siddiqui Z.A. (Ed) *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, the Netherlands 313 p.
- Nelson L. M., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. *Crop Management*, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria/>
- 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 Otgara F., 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogènes. *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.

conclusion

- Palleroni, N.J.(1984) .Genus I. *Pseudomonas* Migula 237 AL (n. m. cons. opin.
- Parmar, N., & Dufresne, J. (2011). Beneficial Interactions of Plant Growth Promoting Rhizosphere Microorganisms.
- Park K.H., Lee C.Y., Son H.J., 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett Appl Microbiol*, 49 (2), pp222-228.
- Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR 12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48:635-642.
- Patten C.L. and Glick B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 3795-3801.
- Peix, A., Valverde, A., Rivas, R., Igual, J.M., Ramirez Bahena, M.H., Mateos, P.F., Santa Regina, I., Rodriguez Barrueco, C., Martinez Molina, E. and Velazquez, E. (2007). Reclassification of *Pseudomonas aurantiaca* into *Pseudomonas chlororaphis* and proposal of three subspecies, *P. chlororaphis* subsp. *chlororaphis* subsp. nov., *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* subsp. Nov. And *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *Aurantiaca* subsp. Nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 1286–1290p.
- Penrose D.M. , Moffatt Barbara A. , Glick Bernard R, 2001. Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-containing bacteria on roots of canola seedlings http://www.refdoc.fr/?Traduire=en&FormRechercher=submit&FormRechercher_Txt_Recherche_name_attr=listeTitre Serie %20%28Canadian%20journal%20of%20microbiology%29. *Canadian Journal of Microbiology*, 47 (1), 77-80p.
- Persello-Cartieaux F., Nussaume L., and Robaglia C., 2003. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ.*, 26, 189-199p.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., 2003. *Microbiologie. De Boeck Supérieur* (2^{ème} édition), Bruxelles, 1164 p.
- Ravel J. and Cornelis P., 2003, Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in pseudomonads. *Trends Microbiol*, 11, 195-200p.
- Rifat H., Safdar A., Ummay A., Rabia K., Iftikhar A., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion. *Ann Microbiol.* 20 p. DOI 10.1007/ s13213-010-01171.

conclusion

- Rodriguez H, Fraga R (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*. 17: 319-339p.
- Rosas S.B., Andrés J.A., Rovera M., Correa N.S., 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, (12), 3502-3505p.
- Sâenz-Mata, J., Palacio-Rodriguez, R., Sâchez-Galvân, 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 Végétation Science*.
- Shanahan P., Borro A., O'Gara F., and Glennon J.D., 1992a, Isolation, trace enrichment and liquid chromatographic analysis of diacetylphloroglucinol in culture and soil samples using UV and amperometric detection. *J. Chromatogr.* 606, 171-177p.
- Siddiqui Z.A., 2003. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In Siddiqui Z.A., *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 2006, Springer, Netherlands, 313 p.
- Siddiqui Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., and Pieterse C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. rev. phytopathol*, 36, pp 453-483.
- Soltani A.A., 2010. Plant Growth Promoting Characteristics in Some *Flavobacterium* spp. Isolated from Soils of Iran. *Journal of Agricultural Science*, 2 (4), 106-115p.
- Somers E., Vanderleyden J., and Srinivasan M., 2004, Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet, *Crit. Rev. Microbiol.*, 30, 205-240p.
- Sturz A.V., Christie B.R., 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Research*, 72, p107–123p.
- SutyL., 2010. *La lutte biologique : Vers de nouveaux équilibre séologiques Sciences en partage*. Editions Quae, Paris, 328p.
- Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., et Tillberg, E. (1999). Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(13), 1847-1852p.
- Tripathy Set al., (2006) Tripathy S, Kumar N, Mohanty S, Samanta M, Mandal RN and MaitiNK.(2006). Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated. From freshwater culture systems. *Microbiol. Res.* 162:391-396p.

conclusion

- Vargas L.K., Lisboa B B., Schlindwein G., Granada C.E., Giongo A., Beneduzi A. and Pereira P., Luciane M., 2009. Occurrence of plant growth-promoting traits in clover nodulating rhizobia strains isolated from different soils in Rio Grande do Sul state. R. Bras. Ci. Solo, 33, 1227-1235p.
- Varma A., Chincholkar S.B., 2007. Microbial siderophores. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 248 p.
- Vega N.W.O., 2007. A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellin, 60, 3621-3643p.
- Williams et al., 1986 Williams and Wilkins, Baltimore. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G. (eds, 1986). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1st ed, vol. 2.
- Weller D.M., 2007. The Nature and Application of Biocontrol Microbes III: *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. Phytopathology, 97, (2), 250-256p.
- Whipps J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany 52, 487-511p.
- Williams, P.M., M. Sicardi de Mallorca (1982). Abscisic acid and gibberellin-like substances in root nodule of *Glycine max*. Plant Soil 65: 19-26p.
- Wdowiak-Wr6bel, S., Marek-Kozaczuk, M., Kalita, M., Karas, M., W6jcik, M., and Malek, W. (2017). Diversity and plant growth promoting properties of rhizobia isolated from root nodules of *Ononis arvensis*. Antonie Van Leeuwenhoek 10, 1087—1103p.
- Zahir Z.A., Arshad M. and Frankenberger W.T., Jr. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: perspectives and application in agriculture. Advances in Agronomy, 81, 96-168p.

conclusion

Zhang H., Kim M.S., Krishnamachari V., Payton P., Sun Y., Grimson M., Farag M.A, Ryu C.M., Allen Randy, MeloItamar S, Paré Paul W, 2007. Rhizobacterialvolatile