

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU MAMMARI DE TIZI-OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES

Département d'Agronomie



# Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme De Master  
Spécialité : Productions végétales

## Thème

Mise en évidence de l'activité antagoniste des deux souches de  
*Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis de certaines  
trachéomycoses

## Réalisé par :

M<sup>lle</sup> Achouche Saida

M<sup>lle</sup> Haroun Djamila

## Dirigé par :

Présidente : M<sup>lle</sup> Boutabtoub W.      MCB UMMTO

Promotrice : M<sup>me</sup> Dahoumane -Larbaoui A.      MAAUMMTO

Examinatrice : M<sup>me</sup> kouraba -Cherifi F.      MAAUMMTO

Promotion : 2018/2019

## *Remerciements*

*Je remercie Dieu très clément et sa sainte miséricorde de m'avoir aidé a réalisé ce modeste travail.*

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent en premiers lieu à ma promotrice M<sup>me</sup>.*

*DAHOUMANE-LARBAOUI A. Maître Assistante A à l'UMMTO pour ses orientations, et pour la confiance qu'elle m'a accordée tout au long de cette étude . Ses grands qualités scientifiques et ses compétences ont contribué largement dans l'élaboration de ce manuscrit.*

*Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à M<sup>lle</sup> : BOUTABTOUB pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier vivement M<sup>me</sup> KOURABA CHERIFI F. pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce modeste travail et d'être parmi le jury.*

*À toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin.*



*Dédicace*

*A mes chers parents de témoignage de mon affection*

*A mon cher frère M<sup>ed</sup>Ouali.*

*A mes chères sœurs :Ouarida, Ferroudja, Lydia et Zahra.*

*A mes amis :Hassina, Amel, Nadouch,  
Thafsuth,Nassima,*

*Sassi, Nacira, Djafar, Soufiane,Houssam, Razik.....*

*Et ma chère Saïda et sa famille*

*A mes très chers petits poussins :Merzouk, Massi,  
\* Siphax, Axel, Melina, Lylia, Ania et le mignon  
Salim.*

*À toutes les personnes qui ont contribué à la  
réalisation de ce travail de près ou de loin.*

*Djamila*



*DÉDICACE*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Ma très chère mère « Djouhra » qui a consacré tout*

*Son temps pour notre bien.*

*Mon très cher père « Belekasem » à qui je  
dois tous et je ne rendrais assez jamais.*

*Mes Chers Frères et Sœurs*

*Mes Chères Amies et surtout ounissa*

*A Tous Ceux Que J'aime*

*Djamila et sa famille*

*Mes Petits Poussins: Samra et Fares-Ayoubé.*

*Et tous ce qu'ils m'encouragent de près ou de loin.*

*Saïda*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Introduction

## Partie1 : Synthèse bibliographique

### Chapitre1 : étude bibliographique sur les *Pseudomonas*

1-Implication des Plant Growth –promotingrhizobacteriaen lutte biologique .....	3
2-Généralites sur les <i>Pseudomonas</i> spp .fluorescents .....	6
2-1- Taxonomie.....	7
2-2- Caractères morphologiques et culturaux.....	7
2-3- Métabolites des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents .....	9
2-3-1-Siderophoses .....	9
2-3-2- Antibiotiques.....	10
3- <i>Pseudomonas</i> dans la rhizosphère .....	11
3-1- <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents agent de biocontole .....	13
3-1- 1- Compétition .....	15
3-1-2- Antibiose .....	16
3-1-3- - Induction de la résistance systémique (ISR) .....	18
3-2- <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents qu'agent de phytostimulation .....	20
3-2-1-Production des hormones de croissance .....	20
3-2-2- Amélioration de la nutrition minérale.....	21
3-2-2-1-Fixation d'azote .....	21
3-2-2-2-Solubilisation des phosphates.....	21
3-2-2-3-Production de sidérophores .....	22

## Chapitre II : Généralité sur les Trachéomycoses

4-Les trachéomycoses .....	23
4-1-Généralité sur la fusariose vasculaire .....	23
4-1-1- Fusariose vasculaire du palmier dattier .....	23
• Caractéristique de l'agent causal .....	24
• Symptôme de la maladie .....	24
• Dissémination .....	25
4-1-2-Fusariose vasculaire de la tomate .....	25
• Caractéristiques de l'agent causal.....	26
• Symptômes de la maladie .....	26
• Dissémination .....	27
4-2 Verticilliose .....	27
• <i>Symptômes de la Verticilliose</i> .....	28
• Cycle infectieux de l'agent pathogène .....	29
5- Méthode de lutte contre trachéomycoses .....	30

## Partie2 : Matériel et méthode

1-Matériel biologique .....	31
1-1 Souches bactériennes .....	31
1-2 Isolats fongiques .....	31
2- Vérification de la pureté du matériel biologique .....	31
3-Identification phénotypique des isolats bactériens .....	32
3-1--Caractérisation morphologique (caractères cultureux) .....	32
3-1-1 Caractérisation macroscopique .....	32
3-1-2-Caractérisation microscopique .....	32
3-1-2-1-Coloration de Gram .....	32
3-2-Caractères biochimiques .....	33
3-2-1-Recherche de catalase .....	33

3-2-2-Test Oxydase .....	34
3-2-3-Tolérance au NaCl.....	34
3-2-4-Test Mannitol et Mobilité .....	34
3-2-5- Recherche de Nitrate réductase .....	35
3-2-6-Utilisation de l'ion citrique .....	35
5-2-7-Test Fermentation / oxydation.....	35
3-2-8- Utilisation des glucides .....	36
4-Essai d'activité antagoniste « in vitro » .....	36
4-1- Méthode directe .....	37
4-1-2- Méthodes des spots .....	37
4-1-2- Méthodes des traits .....	38
4-1-4-Méthodes de confrontation indirecte .....	38

### **Partie 3 : Résultats et discussion**

1-Caractérisation des souches bactériennes .....	39
1-1-Caractères morphologiques et culturaux.....	39
1-2-Caractérisation biochimique .....	40
2- Activité antifongique des souches bactériennes.....	44
2-1-Résultats de la confrontation directe.....	44
• Sur milieu King.....	44
• Sur le milieu PDA.....	47
• Sur le milieu GN.....	49
2-2-Résultats de la confrontation indirecte .....	51
3 -Discussion .....	54

### **Conclusion**

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Liste des abréviations

- **AIA** : acide indole acétique
- **°C** : Degré Celsius
- **DAPG** : 2,4-diacetylphloroglucinol
- **FO** : *Fusariumoxysporum*.
- **FOA** : *Fusariumoxysporum* f. sp. albedinis.
- **FOL** : *Fusariumoxysporum* f. sp. Lycopersici
- **V.d** : *Verticilliumdahliae*
- **CHAO** : *P. fluorescens* CHAO.
- **H** : Heure
- **HCN** : Acide cyanidrique
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : eau oxygénée.
- **ISR** : induced systemic resistance.
- **KB** : milieu B de King.
- **GN** : milieu gélose nutritif
- **mg** : milligramme
- **ml** : Millilitre
- **NaCl** : Le chlorure de sodium
- **P** : phosphore
- **PDA** : potato dextrose agar.
- **PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
- **RM** : le rouge de méthyle
- **VP** : le VogesProskauer
- **%** : pourcentage
- **Mevag** : mise en évidence de la voie d'attaque du glucose
- **TGM** : temps moyen de germination
- **UV** : ultra-violet
- **Spp** : du latin species pluralis, désigne toutes les espèces du genre



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Protection des plantes contre différentes maladies d'origine tellurique, assurée par les souches <i>Pseudomonas</i> spp Fluorescents .....	14
<b>Tableau 2 :</b> Molécules antibiotiques et métabolites à activité antifongique et antibactérienne produits par les <i>Pseudomonas</i> fluorescents.....	16
<b>Tableau 3 :</b> Exemples de <i>Pseudomonas</i> fluorescents induisant l'ISR dans divers pathosystème (Adam, 2008).....	19
<b>Tableau 4 :</b> Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2 .....	43
<b>Tableau 5 :</b> Taux d'inhibition (%) sur le milieu King B. ....	45
<b>Tableau6 :</b> Taux d'inhibition (%) sur le milieu PDA.....	47
<b>Tableau7 :</b> Taux d'inhibition obtenue par la souche B1 et B2 (%) sur le milieu GN .....	50
<b>Tableau8 :</b> Taux d'inhibition sur le milieu PDA par la méthode indirecte.....	52

## Liste des figures

- **Figure1** : Mécanismesphytobénifiques des PGPR dans la rhizosphère ..... 4
- **Figure 2** : photo de genre *Pseudomonas*..... 6
- **Figure3** : Colonisation des racines de riz et de blé respectivement par les souches de F113 *Pseudomonas fluorescens*(a) et CHAO *Pseudomonas. fluorescens.* (b,c). ..... 8
- **Figure4** :Principaux antibiotiques sécrétés par les *Pseudomonas* Fluorescent (Dwivedi and Johri 2003). ..... 10
- **Figure 5** : Effets directs et indirects des PGPR sur la croissance des plantes (Gupta, Parihar et al. 2015). ..... 12
- **Figure 6** : Premiers symptômes de Bayoud ..... 25
- **Figure 7** : stade final de Bayoud (Lepoivre, 2007)..... 25
- **Figure 8** : Brunissement longitudinal de la tige ..... 27
- **Figure 9** : Jaunissement et flétrissement du *Fusariumoxysporumlycopersici* sur les feuilles de la tomate. .... 27
- **Figure 10** : Symptômes de verticilliose sur l'olivier ..... 29
- **Figure11** : Symptôme de verticilliose sur la tomate ..... 29
- **Figure12** : Isolats fongiques sur milieu PDA de *Fusariumoxysporumlyocpersici* et *Fusariumoxysporumalbedeniset Verticilliumdahliae* (Originale, 2019).....31
- **Figure13** : Aspect des souches bactériennes B1 et B2 observées à l'œil nu sur le milieu King B (Originale, 2019). ..... 39
- **Figure 14** : Production de pigment fluorescent par les souches b1 et B2 sur le milieu King B (Originale, 2019). ..... 40
- **Figure 15** : Galerie biochimique classique ..... 41
- **Figure 16** : Résultats du test oxydase des deux souches B1 et B2 ..... 42
- **Figure 17** : Résultats du test catalase des deux souches bactériennes B1et B2 ..... 42

➤ <b>Figure 18</b> : Taux d'inhibition des souches B1 et B2 sur le milieu King B par la méthode des traits et des spots .....	45
➤ <b>Figure19</b> : Activité antagoniste des souches sur le milieu King B vis-à-vis de <i>Fusariumoxysporumlyocpersici</i> <i>Fusariumoxysporumalbedeniset</i> <i>Verticilliumdahliae</i> (originale,2019).....	46
➤ <b>Figure 20</b> : Taux d'inhibition de B1et B2 sur le milieu PDA par la méthode des traits et spots.....	48
➤ <b>Figure21</b> : Activité antagoniste des souches sur le milieu PDA <i>vis-à-vis</i> de <i>Fusariumoxysporumlyocpersici</i> <i>etFusariumoxysporumalbedeniset</i> <i>Verticilliumdahliae</i> (originale,2019).....	49
➤ <b>Figure 22</b> : Taux d'inhibition de B1 et B2 sur le milieu GN par la méthode des traits et la méthode des spots.....	50
➤ <b>Figure 23</b> : Activité antagoniste des souches sur le milieu GN <i>vis –à-vis</i> de <i>Fusariumoxysporumlyocpersici</i> <i>etFusariumoxysporumalbedeniset</i> <i>Verticilliumdahliae</i> (originale ,2019).....	51
➤ <b>Figure 24</b> : Activité antagoniste de la souche par la méthode indirecte ...	52
➤ <b>Figure 25</b> : Taux d'inhibition sur le milieu PDA par la méthode indirecte	53
<b>Schéma 1</b> : Méthode en spots.....	37
<b>Schéma 2</b> : Méthode en traits .....	38
<b>Schéma 3</b> : Méthode indirecte.....	39

**Introduction :**

Les plantes subissent les attaques de nombreux bio-agresseurs. Parmi eux, les champignons pathogènes causent des maladies sur tous les organes des plantes, ils appartiennent à des genres et espèces de différents phylums de champignons vrais (Ascomycètes, Basidiomycètes et Zygomycètes) et plus largement au phylum des Oomycètes (Lepoivre et al., 2003a).

Pour diminuer les pertes de rendement occasionnées sur les plantes d'intérêt agricole, des méthodes de lutte classique, comme l'utilisation de la résistance des plantes et l'application de fongicide sont déployées. Leurs limites d'efficacité sont maintenant connues. Elles sont dues en grande partie aux difficultés d'application des fongicides par ailleurs potentiellement néfastes pour l'environnement et la santé (Thakore, 2006) et à l'évolution des populations des agents pathogènes sous différentes pressions de sélection. Il convient aujourd'hui de se pencher sur l'établissement de méthodes de lutte plus efficaces et qui préservent les équilibres écologiques, à savoir l'utilisation de microorganismes possédant des potentialités d'antagonisme microbien (Alabouvette et al., 2006 ; Adam, 2008).

Les maladies fongiques d'origine tellurique ont concentré l'intérêt des chercheurs pour la connaissance de la communauté microbienne associée. Plus que tout autre environnement, le sol est le siège de compétition microbienne due à la richesse biologique rencontrée. L'ampleur de cette compétition s'intensifie au voisinage des racines ou zones rhizosphérique de par l'apport de substrats carbonés par la plante. Le pathogène n'est donc jamais seul à interagir avec la plante mais c'est d'abord l'observation de la capacité de certains sols à réprimer l'expression de maladies qui a conduit à impliquer fréquemment les bactéries non pathogènes (Cook et Rovira, 1976). Ces souches bactériennes présentant pour la plupart des propriétés antagonistes vis-à-vis des champignons pathogènes ont très vite acquis un statut de vedette comme agent de lutte biologique. Les souches les plus relèvent des genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Streptomyces* spp. (Haas et Defago, 2005).

Le contrôle des phytopathogènes de manière biologique est plus avantageux pour l'environnement en comparaison avec le contrôle chimique (Nautiyal, 2001). La lutte biologique par introduction des microorganismes antagonistes s'avère une voie très prometteuse dans le contrôle de plusieurs maladies de plantes d'origine tellurique (Mercado-Blanco et al., 2004 ; Taqarort et al., 2008 ; Liu et al., 2009 ; Amkrazet et al., 2010).

Par ailleurs, de nombreuses bactéries sont capables d'améliorer la santé des plantes en limitant la croissance saprophyte des microorganismes phytopathogènes. Certaines sont utilisées en agriculture comme agents de lutte biologique (BloembergetLugtenberg, 2001 ; Whipps, 2001).

Parmi les biopesticides utilisés, les rhizobactéries du groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents qualifiées de PGPR (Plant Growth –Promoting Rhizobacteria) sont connues pour leur intervention dans l'amélioration de la croissance des plantes par la solubilisation des minéraux, comme le phosphore ou par la production de sidérophores. Bactérie + plante peuvent modifier la morphologie et la physiologie racinaire par la production de régulateurs de croissance comme les auxines. Ainsi offre un bon rendement, des conditions sévères (Ali et al. 2009). Elles peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses, grâce à leur activité antagoniste vis-à-vis de pathogènes par leur compétition et par le phénomène d'antibioses. (Ongena et al. 2000 ; Van der Heijden et al., 2009).

L'objectif de notre travail, consiste à mettre en évidence le potentiel antifongique de deux souches B1 et B2 de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées à partir d'un sol cultivé vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium* f.sp. *albedinis*, deux agents de la fusariose vasculaire et vis-à-vis d'un agent de la verticilliose, *Verticillium dahliae*. Afin de mettre en évidence les mécanismes responsables de l'activité antagoniste, in vitro nous avons réalisé une confrontation directe et indirecte des pathogènes avec les souches bactériennes sur trois milieux de culture différents.

**L'implication des PGPR en lutte biologique :**

Le contrôle des agents phytopathogènes de manière biologique est plus avantageux pour l'environnement en comparaison avec le contrôle chimique (Nautiyal, 2001). La lutte biologique repose principalement sur l'élimination d'un ravageur ou d'un agent pathogène par son ennemi naturel (Lepoivre, 2003b). Selon l'organisation internationale de la lutte biologique (OILB), la lutte biologique est définie ainsi : «Utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des bio-agresseurs ».

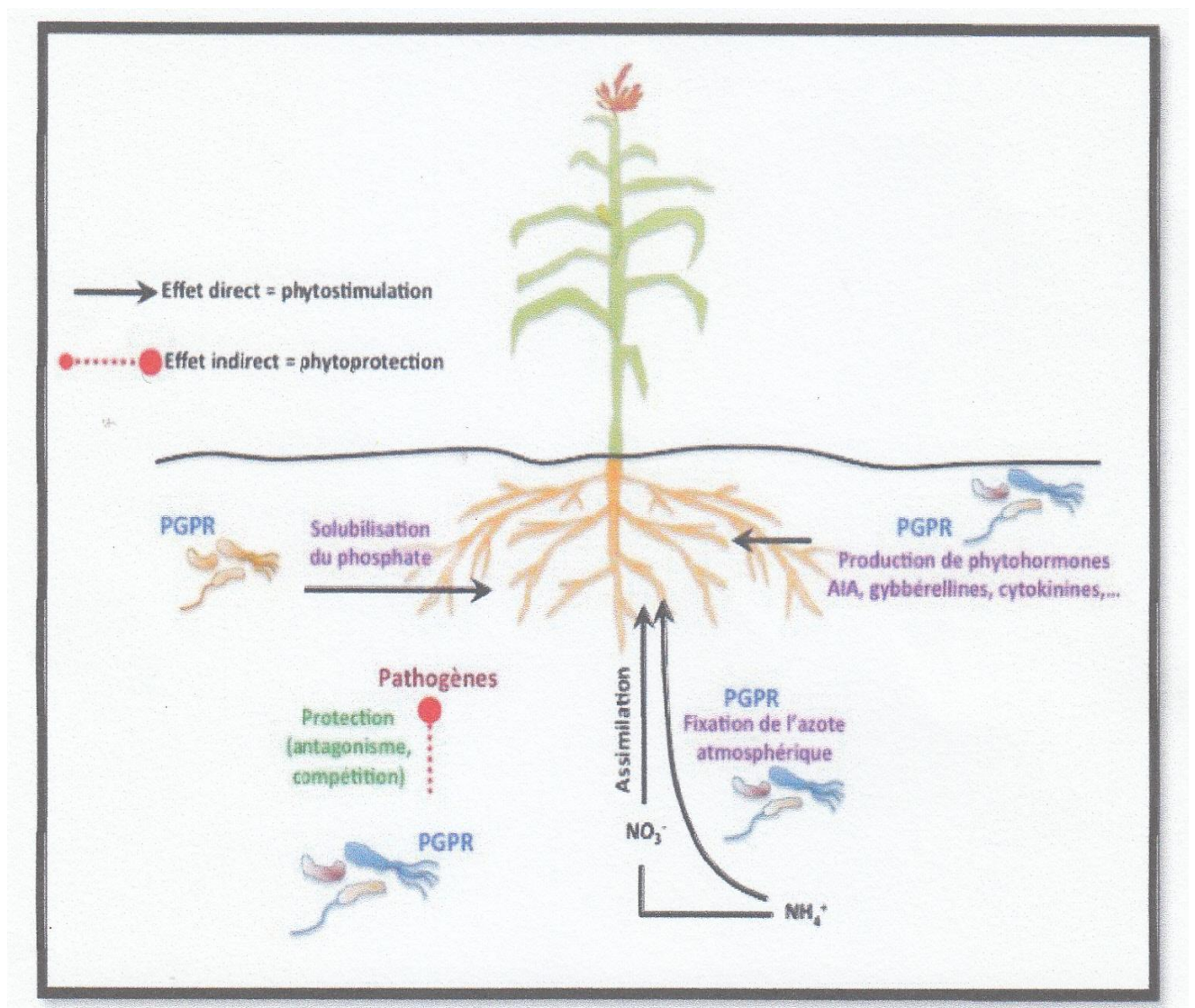
Les organismes vivants sont de plusieurs natures : plantes, insectes, nématodes, champignons, bactéries, virus, etc. (Bale., 2008). Un biopesticide est composé d'un organisme vivant (Plante, nématode, bactérie, champignon ou virus) ou d'un produit dérivé de cet organisme, qui est utilisé pour supprimer ou réprimer un ravageur/pathogène (Thakore, 2006). Plusieurs biopesticides ont pour principes actifs des microorganismes antagonistes.

L'utilisation de micro-organismes bénéfiques comme biopesticides, pour réduire les maladies sur diverses plantes d'intérêt agronomique, sont considérées comme l'une des méthodes les plus prometteuses dans les pratiques de gestion des cultures. Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique, la plante stimulant sa croissance et /ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. (Gray et Smith, 2005).

En effet les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) constituent les bactéries rhizosphériques les plus utilisées en lutte biologique. Des études ont été menées sur les rhizobactéries (PGPR), connues par leur forte colonisation des rhizosphères des plantes (Suty L. 2010), exhibant des potentialités avérées en termes de phytostimulation et de bioprotection des plantes, par le biais d'un large éventail de mécanismes d'action (Thomashow L.S. And Weller D.M. 1988). Le terme PGPR provenant de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » synonyme rhizobactéries promotrices de la croissance végétales, désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens (Abnatura, 2013).

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) ont été définies pour la première fois par Kloepper et Schroth (1978) comme étant les bactéries qui colonisent le sol (Dorjey, Dolkaret *al.* 2017). Le terme 'rhizobactéries' est largement utilisé pour désigner un groupe de bactéries bénéfiques présentes dans la rhizosphère et capables de coloniser le système racinaire (Gosal, Kaur et *al.* 2017).

Les PGPR composent un groupe hétérogène de bactéries qui peuvent se développer dans, sur, ou autour des tissus des racines végétales, stimulant la croissance des plants directement et / ou indirectement (Kang, Shen et al., 2013). Plusieurs travaux ont montré l'utilité des bactéries bénéfiques pour la promotion de la croissance végétale (Tran Van et al., 1996 ; Shamsuddin et al., 2010). Les PGPR stimulent la croissance des plantes par l'apport des nutriments grâce aux différents processus tels que la fixation biologique d'azote, la solubilisation du phosphate et du potassium, l'induction de la production des phytohormones et la résistance de la plante aux pathogènes du sol (Lamizadeh, Enayatizamir et al., 2016).



**Figure n° 1** : Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère (ecologiemicrobiennilyon .fr).

Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents microbiens est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels, sur l'activité antagoniste *vis-à-vis* de la croissance des pathogènes via la production d'antibiotiques ou d'enzymes et/ou sur leur capacité à stimuler des systèmes de défense chez l'hôte végétal. (Sivasakthi S., Usharani G. AndSaranraj P, 2014). Parmi ces PGPR, les *Pseudomonas* spp fluorescents font l'objet d'une attention particulière. Ce sont des rhizobactéries non symbiotiques qui occupent la rhizosphère, capable de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique à la plante en stimulant sa croissance et /ou en protégeant contre des infections par les agents phytopathogènes, (Weller, 1988).

Leur utilisation dans l'agriculture en tant que biofertilisants offre un bon rendement, dans des conditions sévères (Ali *et al.*, 2009), et possèdent des propriétés prometteuses dont les actions de biocontrôle des maladies des plantes causées par des agents pathogènes (Wanget *al.*, 2012)..

### 3-Généralités sur les *Pseudomonas* spp.fluorescents :

Les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* sont caractérisées par leur caractère ubiquiste et ont été isolées de nombreux habitats tels que les sols, les sédiments, les végétaux ainsi que les eaux douces et marines (O'Sullivan et O'Gara, 1992). Elles s'adaptent très bien à de nombreuses niches écologiques du fait leurs simples exigences nutritionnelles. (Palleroni, 1984 ; Semal, 1993 ; Allaire, 2005 ; Euzeby, 2005).

Les *Pseudomonas* sont parmi les bactéries les plus importantes dans les rhizosphères (Misko et Germida, 2002) Le genre *Pseudomonas* a été découvert en 1894 par Migula. Ces bactéries se caractérisent par un métabolisme aérobie strict, certaines souches ont une respiration anaérobie avec le nitrate comme accepteur terminal d'électron et/ou l'arginine. Les *Pseudomonas* sont mobiles à un ou plusieurs flagelles polaires (Eyquem et al, 2000 ; Hass et Défago, 2005), sont rarement immobiles et sont non sporulés. La plupart des *Pseudomonas* se cultive à 30°C et se caractérisent par une croissance lente à 4°C (Eyquem et al, 2000) .



**Figure n°2 :** Photo de genre *Pseudomonas* ([http : //www. bacterio.cict.fr/p/Pseudomonas .html.](http://www.bacterio.cict.fr/p/Pseudomonas.html)).

Ce genre joue des rôles clés dans les sols en tant qu'agent de biocontrôle (O'Sullivan& O'Gara, 1992) mais aussi dans la stimulation de la croissance végétale ainsi que dans la bio remédiation (Garbaye et al., 2004).

**2-1-Taxonomie**

Actuellement, l'édition de 2005 du Bergey's manual of Systematic Bacteriology rapporte une soixantaine d'espèces au genre *Pseudomonas* (Palleroni, 2005). Néanmoins, 188 espèces sont actuellement répertoriées sur le site internet <http://wwwbacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html>.

Selon Chaker (2012), la taxonomie de *Pseudomonas* est la suivante :

*Règne : Bacteria*

*Division : Proteobacteria*

*Ordre : Pseudomonales*

*Famille : Pseudomonaceae*

*Genre : Pseudomonas*

D'après (Hefle et Altier, 2010), les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en 7 groupes selon leur ARNr,

- *Les Pseudomonas fluorescens*
- *Pseudomonas putida.*
- *Pseudomonas aeruginosa.*
- *Pseudomonas syringae.*
- *Pseudomonas chlororaphis .*
- *Pseudomonas stutzeri.*
- *Pseudomonas pertucinogena..*

**2-2-Caractères morphologiques et culturels**

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des bacilles à Gram négatif typiques de 0.5 à 1mm de diamètre sur 1.5 à 5mm de long, chimio-hétérotrophes mobiles avec un flagelle polaire (Bell PerKins et Lynch, 2002).

Les *Pseudomonas* sp. fluorescents sont caractérisés par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose) (Allaire, 2005).

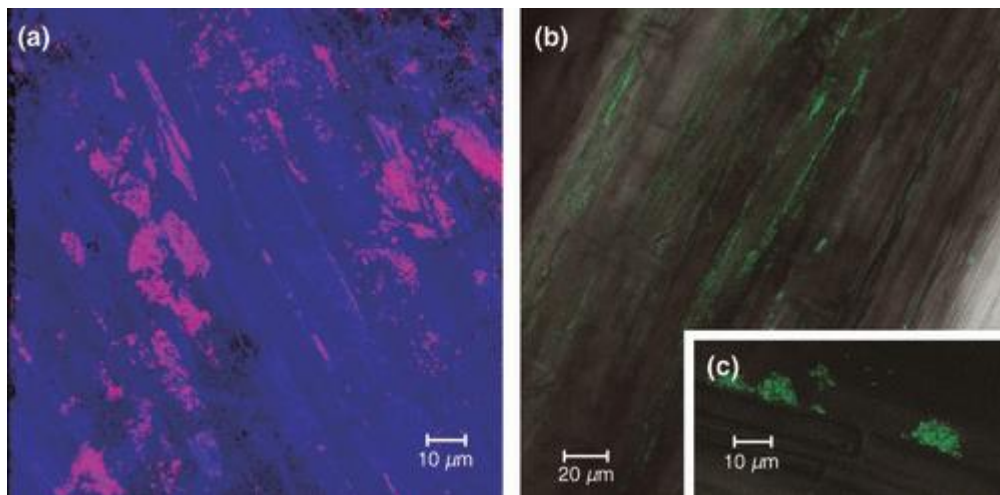
Elles sont caractérisées par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores appelés Pyoverdines (Meyer et Abdallah, 1978). Ces derniers sont des pigments

de couleur jaune-verte, solubles dans l'eau insoluble dans le chloroforme et fluorescents sous l'irradiation d'UV (Leong, 1986).

Le genre *Pseudomonas* peut être divisé en deux groupes, les *Pseudomonas* non fluorescents et ceux fluorescents produisant la pyoverdine (Meyer et al., 2002, 2007).

Les mêmes auteurs (Meyer et al., 2002, 2007) signalent que les sidérophores sont sécrétés dans le milieu externe pour chélates et piéger le fer et les ramener à l'intérieur de la cellule. Un nombre important d'espèces de plantes peut assimiler les complexes Fe<sup>3+</sup>-sidérophores bactériens (Loper, 1988 ; Bitter et al. 1991).

Les *Pseudomonas* ont une grande capacité à coloniser les racines et à maintenir une forte densité de population est remarquable. (Figure n° : 3). Cette grande rhizo-compétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large souvent issus des exsudats racinaires comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (Moore et al., 2006).



- **Figure n°3** : Colonisation des racines de riz et de blé respectivement par les souches de F113 *Pseudomonas fluorescens* (a) et CHAO *Pseudomonas. Fluorescens*. (b,c).(<http://data.gbif.org/species/13238840/>).

## 2-3-Métabolites des *Pseudomonas* spp. fluorescents

### 2.3.1. Sidérophores

Sidérophores (Du grec sideros=fer, phoros=porter) désigne les molécules qui transportent le fer (Digat ; 1983). Les sidérophores sont des métabolites de faible poids moléculaire (Weller, 1988). L'importance de sidérophores est étroitement liée au fer qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crosa et Walsh, 2010). 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 (Lemanceau *et al.*, 2009).

Le rôle des sidérophores consiste à solubiliser et à chélater le fer dans le milieu extracellulaire et de le transporter vers le cytoplasme de la bactérie (Meliani, 2012). Les sidérophores sont des métabolites secondaires produits à la fin de la phase exponentielle et le début de la phase stationnaire du cycle de vie de la bactérie.

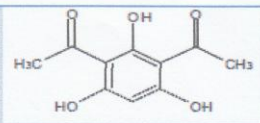
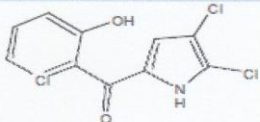
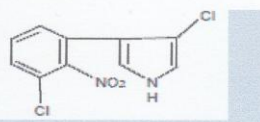
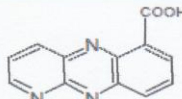
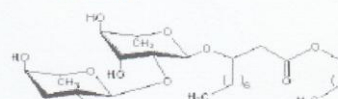
Les sidérophores sont synthétisés par les *Pseudomonas* spp. fluorescents sous les conditions limites en fer (De Weges *et al.*, 1986 ; Beck et Cook, 1988 ; Alaire, 2005).

Les sidérophores des deux espèces *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent appelé « Pyoverdine » (Meyer et Abdallah, 1981) qui forment avec le fer un complexe : **ferripyoverdine**

Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux. Kloeppers *et al.*, (1980) ont été les premières à démontrer l'importance de la production de sidérophores dans le mécanisme de biocontrôle. Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires (Lemanceau *et al.*, 1992, 1993). Raaijmakers *et al.* (1995a) et Audenaert *et al.*, (2002) ont démontré, respectivement, la participation des pyoverdines dans la suppression de la fusariose du radis *Fusarium oxysporum* f.sp. raphani et du *Botrytis cinerea* chez la tomate.

### 3.1.2 Antibiotiques :

Plusieurs antibiotiques sont produits par les *Pseudomonas* spp. fluorescents (Figure n°4) et jouent un rôle important dans l'inhibition d'agents phytopathogènes, tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène (HCN), les rhamnolipides, l'oomycine A, la phenazine, la pyocyanine, la pyrrolnitrine, ou des lipopeptides cycliques (Haas et Defago, 2005).

Nom	Structure moléculaire
2,4-Diacétylphloroglucinol	
Pyolutéorine	
Pyrrolnitrine	
Phénazines	
Rhamnolipides	

**Figure n°4 :** Principaux antibiotiques sécrétés par les *Pseudomonas* Fluorescent (Dwivedi and Johri 2003).

Ces antibiotiques manifestent des propriétés antagonistes à l'encontre de différents champignons: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia* (Howell et Stipanovic, 1979, 1980) ont ensuite montré que la souche bactérienne protège les plantes de coton contre ces pathogènes de manière analogue à celle des antibiotiques purifiés. Ils concluent que la protection des plantes assurée par cette souche de *Pseudomonas* est liée à la synthèse de ces antibiotiques.

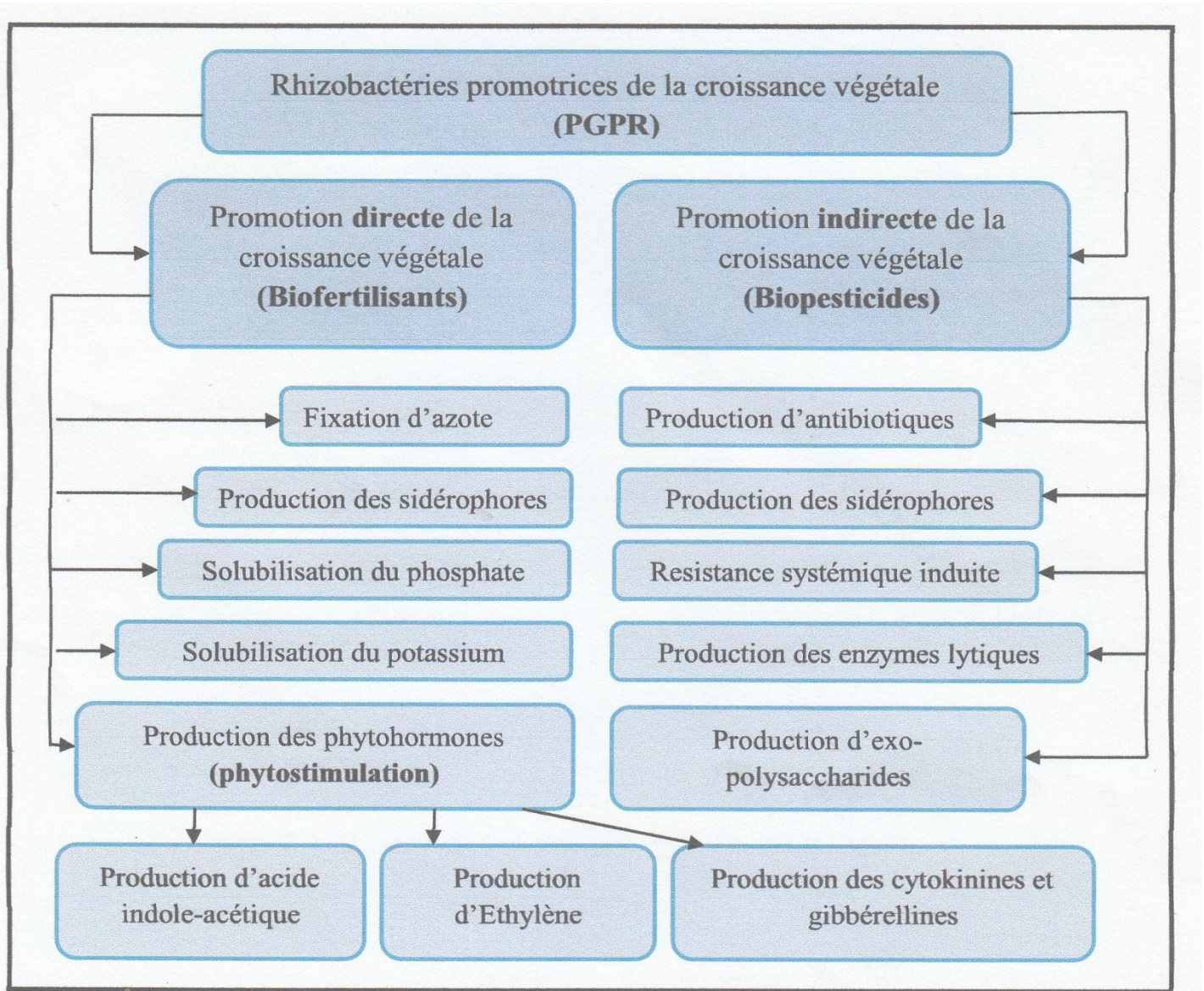
### 3-*Pseudomonas* spp. fluorescents dans la rhizosphère :

Une nouvelle lumière a été apportée sur le rôle de ces microorganismes dans le fonctionnement des écosystèmes grâce à l'étude et la compréhension de l'effet de la rhizosphère sur les communautés microbiennes ainsi que l'effet de ces dernières sur la croissance des plantes (Rai, 2017).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des rhizobactéries non symbiotiques qui occupent la rhizosphère (Kloepper et Schroth, 1978). Appartenant aux PGPR (Plant-Growth Promoting Rhizobacteria), elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Elles sont responsables de la suppression des maladies fongiques dans les cultures et stimulent la croissance des plantes (Haas et Keel, 2003). (figure n°5).

Différents mécanismes ont été avancés pour expliquer les effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces bactéries s'attachent d'abord à la racine et sont donc distribuées de façon passive. Puis elles se multiplient et colonisent de façon active la rhizosphère (Rabhi, 2011). Les exsudats racinaires, et en particulier les sucres et les acides aminés attirent les bactéries par chimiotactisme à la surface des racines. Ils stimulent notamment la mobilité flagellée des bactéries, ce qui permet à ces dernières de coloniser la rhizosphère (De Weert et al. 2002).

Durant la colonisation du système racinaire des plantes, Les rhizobactéries, les *Pseudomonas* spp. fluorescents, agissent d'une façon directe sur la croissance des plantes en stimulant leurs aptitudes physiologiques (van Loon and Glick 2004) et/ou indirectement en limitant les actions néfastes des agents pathogènes et délétères. en produisant des substances antimicrobiennes (Haas et Défago, 2005) et des enzymes lytiques des parois des champignons (Dibyet al., 2005a ; Siddiqui et al., 2005)



**Figure n° 5 :** Effets directs et indirects des PGPR sur la croissance des plantes (Gupta, Parihar et *al.* 2015).

**3-1-Les *Pseudomonas* spp fluorescents agents de biocontrôle.**

Différentes espèces de *Pseudomonas* fluorescents ont été rapportées comme des PGPR et sont appliquées comme agents de bio contrôle contre les microorganismes pathogènes notamment les champignons phytopathogènes grâce à leur abondance dans la rhizosphère (Rovira and Sands, 1971).

Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont un grand pouvoir de chélation du fer et pourraient rendre l'ion ferrique inaccessible aux autres microorganismes notamment les espèces pathogènes. En plus, elles peuvent produire des métabolites interférant avec la croissance des phytopathogènes : *Pseudomonas fluorescens* CHA0 produit le cyanhydrique d'hydrogène (HCN) qui réduit la pathogénicité des champignons tels *Thielaviopsis basicola*, agent de la pourriture noire du tabac (Mercado-Blanco et al., 2004).

Ces bactéries non seulement stimulent la croissance des plantes et réduisent les maladies causées par les phytopathogènes (bactéries, champignons, virus, nématodes), mais aussi améliorent la défense de la plante, ce qui est désigné par la résistance systémique induite (ISR) (Rai, 2017). Plusieurs mécanismes ont été décrits responsable de la réduction des maladies telluriques (Thomaschower, Weller, 1996 ; Wipps, 2001 ; Adam, 2008). (tableau 1).

Maladies	Microorganismes pathogènes	Références
Chancre bactérien	<i>Xanthomonas citri</i>	Unnamalai et Gnanamanickam (1984)
Fonte de semis	<i>Pythium</i> spp	Elad et Chet (1987) Howell et Stipanovic (1980) Loper (1988) Walther et Gindrat (1988) Weller et Cook (1986)
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Howell et Stipanovic (1979)
Fusarioses * de pourriture	<i>Fusarium oxysporum</i> f sp <i>radicis lycopersici</i>	Lemanceau et Alabouvette (1991)
	<i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium oxysporum</i> f spp	Anderson et Guerra (1985) Duijff <i>et al</i> (1991) Kloepper <i>et al</i> (1980b) Leeman <i>et al</i> (1991) Lemanceau (1988) Park <i>et al</i> (1988) Scher et Baker (1982) Van Peer <i>et al</i> (1990b)
* vasculaires		
Jambe noire de la pomme de terre	<i>Erwinia carotovora</i>	Rhodes et Logan (1986) Xu et Gross (1986ab)
Pertes et pourritures racinaires pourriture du collet	<i>Pythium</i> spp	Becker et Cook (1988) Suty <i>et al</i> (1992) Weller et Cook (1986)
	<i>Sarocladium oryzae</i>	Sakthivel et Gnanamanickam (1987)
	<i>Sclerotium roffsii</i>	Ganesan et Gnanamanickam (1987)
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Mew et Rosales (1986)
	<i>Thielaviopsis basicola</i>	Stuz <i>et al</i> (1986)
Piétin échaudage du blé	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var <i>tritici</i>	Brisbane et Rovira (1988) Keel <i>et al</i> (1989) Kloepper <i>et al</i> (1980b) Weller et Cook (1983) Wong et Baker (1984)
Tache bactérienne du champignon	<i>Pseudomonas tolaasi</i>	Olivier et Guillaumès (1981)
Verticilliose	<i>Verticillium dahliae</i>	Leben <i>et al</i> (1987)

Tableau n° 1 : Protection des plantes contre différents maladies d'origine tellurique, assurée par les souches *Pseudomonas* spp Fluorescents.

### 3-1-1-Compétition

Les interactions microbiennes sont conditionnées par la nature et l'intensité de la compétition entre microorganismes (Lockwood, 1981 ; Alabouvette, 1983). L'effet protecteur conféré par les *Pseudomonas* spp. fluorescents agents de biocontrôle, est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels ou pour les niches écologiques (Bakker, Ranet al. 2003). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents antagonistes participent à ces 2 types de compétition.

La colonisation des systèmes racinaires par les *Pseudomonas* spp. fluorescents implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, et une compétition pour les substances nutritives (Jacques al, 1993). La compétition pour les nutriments se fait généralement par la disponibilité en fer dans le milieu, par la production de sidérophores. Les *Pseudomonas* fluorescents piègent le fer présente dans le milieu en privant les autres microorganismes et en inhibant leurs pouvoirs de pathogénicité (Meliani, 2012).

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 (Bloembergen et Lygtenberg, 2001. Persello – Cartieux et al, 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 conséquent, leur croissance (Piano et al, 1997 ; Reyes et al., 2004).

## 3-1-2-Antibiose :

Métabolites	Action létale ou forte	Action faible ou nulle	Références
✓ <b>Pyrolnitrine</b> (3-chloro-4[2'-nitro3'- Chlorophenyl]-pyrol)	<i>Thielaviopsis basicola</i> <i>Alternaria sp.</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Pythium ultimum</i> <i>Fusarium sp.</i>	Digat, (1983)
✓ <b>Pyoluteorine</b> (4,5-Dichloro-1-4- pyrol 2 YL-2,6-DI- OH- phenyl-cetone)	<i>Aletnaria sp.</i> <i>Fusarium sp.</i>  <i>Pythium ultimum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Howell et Stepanovic, (1980). Digat, (1980).
<b>Pseudobactine</b> (Hexapeptide)	<i>Pythium ultimum</i> <i>Aphani dermatum</i> <i>Rhizoctonia solami</i> <i>Erwinia carotovora</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Xanthomomas sp.</i> <i>Corynebacterium sp.</i> <i>Pseudomonas marginalis</i> <i>Pseudomonas tomato</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>  <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Meyer et Abdellah, (1978); Teintze et al., (1981); Digat, (1983); Baker, (1985)
<b>Tropolone</b> (2-OH-2,4,6- Cycloheptatrien 1-1)	<i>Helmentosporium sp.</i> <i>Alternaria sp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Diploida sp.</i> <i>Piricularia sp.</i> <i>Rhizoctonia sp.</i> <i>Pythium sp.</i> <i>Colletotricum sp.</i>	<i>Apspergillus sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Trichoderma sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i>	Howell et Stepanovic, (1979), Lindberg, (1981).
<b>Oomycine</b> <b>Pyocheline</b> PCA (Phenazine 1- Carboxylique Acide)	Divers champignons Divers champignons Divers champignons	- - -	Gutterson, (1990) Cox et al.,(1981) Thomashow et Weller, (1988) Brisbane et al., (1987)
<b>Bactobolines</b> <b>Beta-Lactams</b> <b>Acide Cyanhydrique</b>	Diverses bactéries Diverses bactéries Diverses bactéries Divers champignons	- - - -	Munaka, (1981) Wells et al., (1984) Ahl et al., (1986)
<b>Pyoverdine</b> (A.I.A) Acide Indole- 3-acétique	Divers champignons Divers microorganismes	- -	Bakker et Schippers, (1987) Meyer et Abdellah, (1978) Loper et Schroth, (1986)
<b>Phloroglucinol</b>	Divers microorganismes	-	Keel et al., (1991)

**Tableau 2** : Molécules antibiotiques et métabolites à activité antifongique et antibactérienne produits par les *Pseudomonas* fluorescents

L'antibiose consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène par la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants impliqués dans le biocontrôle, par exemple l'acide cyanhydrique (HCN), la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones, les tensines et les tropolones (Defago, 1993 ; Haas et Defago 2005) (Tableau 2).

Certaines souches de PGPR ont la capacité de dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels que 1,3-glucanases, exo- et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001).

L'acide cyanhydrique (HCN) qui est produit par plusieurs *Pseudomonas* spp est un métabolite secondaire responsable de l'activité biologique contre divers champignons (Haas *et al*, 2003). Ce composé volatil est un facteur de virulence qui peut s'avérer toxique. Le cyanure d'hydrogène produit également, par les *P. fluorescens* peut inhiber un grand nombre de métalloenzymes.

La production d'HCN pour l'adaptation à la rhizosphère peut être avantageuse pour acquérir des nutriments (Ellis *et al*, 2000). Elle peut également contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer et Haas, 2000). La production d'HCN, a été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983), l'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O'Gara, 1992), sa production peut même inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes via la phase gazeuse *in-vitro* (Blummer et Haas, 2000).

Selon Voissard *et al*. (1989), la production d'acide cyanhydrique (HCN) par la souche de *Pseudomonas* spp. *Fluorescens* CHA5 est nécessaire à la protection de la plante vis-à-vis de l'agent de la pourriture noire du tabac. Ce mécanisme est de moindre importance avec la souche CHA77 (Haas *et al*, 1991). Egalement, *Thielaviopsis basicola* est sensible *in vitro* à l'acide cyanhydrique.

Egalement, les souches bactériennes de *Pseudomonas* capables de réduire la gravité de la fusariose de la tomate, causée par *Fusarium oxysporum* f. *spadicis-lycopersici* (Shippers *et al*, 1990). L'HCN produit dans la rhizosphère activerait des réactions de défense de la plante ce qui correspond à un mécanisme indirect de protection.

### 3-1-3- Induction de la résistance systémique (ISR) :

L'expression des mécanismes de défense systémiques chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes (Meliani2012).

Certains *Pseudomonas* colonisant les racines protègent les plantes des agents phytopathogènes par l'induction de la résistance systémique (Weller 2007). Ce phénomène appelé « résistance systémique induite » (ISR : induction systimiqueresistance), leur permettant de mieux se protéger contre l'attaque éventuelle de pathogènes (Van Loon, 2007). Selon plusieurs auteurs, les *Pseudomonas* spp fluorescents ont la capacité d'induire une résistance (ISR) chez la plante contre les champignon phytopathogènes ( tableau n°3)

L'ISR diminue significativement l'impact de maladie causées par des champignons racinaires (*Fusariumoxysporum*, *Pythium naphanidermatum*) ou aériens (*Botrytis Cinerea*, *AlternariaBrassicicola*), par des bactéries(*Pseudomonas syringae*, *Erwiniaamylovora*,*Xanthomonascampestris*), des virus (tobacomosaicvirus, tomatomottle virus) et par certaines nématodes (Ongena et al., 2006).

Ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelles attaques des agents pathogènes (virus, bactéries et champignons). De nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (Gupta et al, 2015 ;Shameer et Prasad, 2017).

Certaines souches de *Pseudomonas* spp.fluorecents sont responsables de l'amélioration des niveaux de résistance des plantes à l'encontre de différents agents pathogènes par la stimulation et activation des mécanismes de défenses (ISR) (Pieterse et al., 2001). 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 Solanoet al., 2008a).

Genre	Souche	Pathosystème (plante hôte/pathogène)	Références
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	89-B-61	-Tomate/ <i>Phytophthora infestans</i> . -Tomate/cucumber mosaic virus -Tabac/ <i>Peronospora tabacina</i> - <i>Arabidopsis/Pseudomonas syringae</i> -concombre/Scarabee du concombre	- Yan et al., (2002). -Raupach et al., (1996). -Zhang et al., (2002). -Ryu et al., (2003). -Zehnder et al., (2001).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CHAO	- <i>Arabidopsis/Peronospora parasitica</i> -Tabac/Tobacco necrosis virus	-Iavicoli et al., (2003). - Maurhofer et al., (1994; 1998).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	WCS417r	-Oeillet/ <i>Fusarium oxysporum</i>  - <i>Arabidopsis/ Fusarium oxyspsotum</i> - <i>Arabidopsis/ Pseudomonas syringae</i>  -Tomate/ <i>Fusarium oxysporum</i> . -Radis/ <i>Fusarium oxysporum</i>	-Van Peer et al., (1991); Van Peer et Schippers. (1992). Steijl et al., (1999). -Pieterse et al., (1996). - Van Wees et al., (1997) ; Pieterse et al., (1998) ; Tom et al., (2002a) - Duijff et al., (1997). -Hoffland et al., (1996).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	WCS374r	-Radis/ <i>Fusarium oxysporum</i>  - <i>Arabidopsis/ Pseudomonas syringae</i>	-Leeman et al., (1995a ; 1995b ; 1996). - Hase et al., (2003).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	S97	-Haricot/ <i>Pseudomonas syringae</i>	-Alstr.m, (1991).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EP 1	-Canne à sucre/ <i>Colletotrichum falcatum</i>	-Viswanathan et Samiyappan, (2002a ; 2002b).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	PF 1	-Riz/ <i>Rhizoctonia solani</i> -Canne à sucre/ <i>Colletotrichum falcatum</i> .	-Nandakumar et al., (2001). -Viswanathan et Samiyappan, (2002a ; 2002b).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	A506	-Pomme / <i>Erwinia amylovora</i>	-Momol et al., (1999).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	sp.	-Bettrave / <i>Heterodera Schachtii</i>	-Oostendorp et Sikora, (1990).
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	sp.	-Tomate/ <i>Meloidogyne incognita</i>	-Santhi et Sivakumar, (1995).
<i>Pseudomonas putida</i>	BTP1	-Haricot/ <i>Botrytis cinerea</i>	-Ongena et al., (2004 ; 2005c).
<i>Pseudomonas putida</i>	WCS358r	- <i>Arabidopsis/Pseudomonas syringae</i> - <i>Arabidopsis/ Fusarium oxysporum</i>	-Van Wees et al., (1997) ; Meziane et al., (2005).

**Tableau n° 3 :** Exemples de *Pseudomonas* Fluorescents induisant l'ISR dans divers pathosystèmes (Adam, 2008).

### 3-2- *Pseudomonas* spp fluorescents agent de phytostimulation

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de synthétiser des métabolites secondaires qui influencent positivement sur la croissance des plantes (Sturz and Christie 2003).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents stimulent et améliorent la germination des graines et la levée des plantes particulièrement dans des conditions environnementales défavorables à leur germination (Compant et al., 2005; Haas et Déffago, 2005). Chez plusieurs espèces végétales surtout les espèces herbacées, après leur bactérisation, la vitesse de levée a été accrue (Matiru et Dakora, 2004 ; Sharma et al., 2007 ; Wang et al., 2012).

La stimulation de la croissance des plantes bactérisées peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance analogues aux phytohormones (Persello-Cartieux et al, 2003 ; Romans et al, 2007) et à l'amélioration de la nutrition minérale (Adjanohoun et al, 2011).

#### 3-2-1- Production des hormones de croissance :

Il existe cinq catégories des régulateurs de croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir et al, 2004). L'acide indole-3-acétique est la phytohormone la plus répandue, il joue un rôle très important dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen et al., 2007). et il est l'une des principales raisons de l'augmentation du rendement (Khakipour et al., 2008). Les cytokinines et les gibbérellines sont impliquées dans la modification de la morphologie des plantes et dans la stimulation de développement de la partie aérienne (van Loon, 2007).

L'auxine est la plus importante des hormones de croissance des plantes. Elle est impliquée dans plusieurs processus, y compris la division cellulaire, la différenciation et la formation de faisceaux vasculaires. Elle augmente également la ramification des racines et améliore l'absorption de minéraux et d'eau (Paten et Glick, 2002 ; Ahmad et Kibret, 2013 ; Gupta et al., 2015).

L'éthylène est la seule phytohormone gazeuse. Il est connu pour être l'hormone des blessures parce que sa production dans la plante peut être induite par n'importe quel perturbation physique ou chimique des tissus (Salisbury, 1994). Parmi ses nombreux effets sur la croissance et le développement de la plante, la production d'éthylène peut causer l'inhibition de la croissance des racines (Reed et Glick, 2005) et par conséquent une

réduction de la croissance végétale. La diminution de la teneur élevée de l'éthylène peut être réalisée en dégradant son précurseur direct, l'acide 1-Aminocyclopropane -1-carboxylique (ACC), à l'aide de l'ACC-désaminase (Rifat et al., 2010) qui régule la production de l'éthylène (Reddy, 2016). A cet effet, la quantité de l'éthylène produite par la plante est réduite, ce qui favorise l'élongation des racines (Penrose et al., 2001 ; Rifat et al., 2010).

### 3-2-2- Amélioration de la nutrition minérale :

La capacité de quelques micro-organismes à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important pour les PGPR. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent biofertilisant dans l'agriculture (Sharma et al., 2007). Parmi les bactéries rhizosphériques, *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent solubiliser le phosphore (Rosas et al., 2006 ; Park et al., 2009). Ces effets stimulent la croissance (Jacques et al., 1993, Sturz et Christie, 2003 ; Zahret et al., 2004) et augmentent le rendement des cultures.

#### 3-2-2-1-Fixation d'azote

Parmi les éléments nutritifs nécessaires, celui qui est le plus souvent limitant pour la croissance des plantes est l'azote. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N<sub>2</sub>) inaccessible aux animaux et aux plantes (Pujic et Normand, 2009). La fixation biologique de l'azote relève uniquement du domaine des procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Weyens et al., 2010).

#### 3-2-2-2-Solubilisation des phosphates

Après l'azote, le phosphore est l'élément le plus limitant pour les plantes qui sont capables seulement d'absorber ses formes solubles mono- et dibasiques (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>4-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) (Ramos Solano et al., 2008b ; Keneni et al., 2010). Les bactéries solubilisant le phosphate sont communes dans la rhizosphère, cette dernière étant le siège de nombreuses interactions entre les plantes et les divers microorganismes associés. La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilite la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Kim et al., 1998 ; Richardson, 2001).

**3-2-2-3-production de sidérophores :**

Synthèse des sidérophores en condition de carence en fer tels que pyoverdines ,pyochelines,ferribactines ,pseudomonines.(Reddy,2016).La majorité des espèces de *Pseudomonas* spp. Fluorescents produisent des sidérophores. Un nombre important d'espèces de plantes peuvent assimiler les complexes Fe<sup>3+</sup>-sidérophores bactériens (Becker et Cook, 1988; Loper, 1988; Bitter et *al.*, 1991). Les sidérophores jaunes-verts sont nommes pyoverdines (PVDs) ou pseudobactines (Budzikiewicz, 1993, 1997).

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). Ils jouent également le rôle de chélateurs de métaux rhizosphériques ayant une faible disponibilité pour les plantes (Dimkpa et *al.* 2009).

#### 4-Les trachémycoses :

Les maladies vasculaires causent des dégâts importants sur de nombreuses cultures. Les champignons des genres *Fusarium* et *Verticillium* en sont les principaux responsables.

##### 4-1-Généralité sur la fusariose vasculaire :

La fusariose vasculaire est l'une des maladies d'origine tellurique les plus répandues, dont les incidences sur les cultures sont très graves (Nelson et al 1983). La fusariose est une maladie causée par des champignons du genre *Fusarium* qui vivent dans le sol, et attaquent de nombreuses plantes (Amzelloug, 1999). Elle est responsable de nombreuses maladies connues sous le nom de fusarioses, trachémycose, nécrose (Fravel et al., 2003).

*Fusarium* spp sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs causant des flétrissements et des pourritures racinaires de plusieurs espèces végétales. Le champignon se conserve dans le sol grâce à ses chlamydospores et ou mycélium capable de survivre sur les débris (Erskine et Bayaa, 1996).

Selon Armstrong et Armstrong (1981) *Fusarium oxysporum* appartient au règne fungi, division : Ascomycota, classe Ascomycetes, Sous-classe Sordariomycetes , Ordre Hypocreales , Famille Nectriaceae , Genre *Fusarium* , Espèce *Fusarium oxysporum*

Les espèces de *Fusarium oxysporum* se caractérisent par une large gamme de plantes hôtes. La plupart des souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* envahissent le système vasculaire de ces plantes et présentent une spécificité parasitaire, c'est-à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminé (Nelson et al, 1983).

##### 4-1-1- Fusariose vasculaire du palmier dattier :

Fusariose vasculaire du palmier dattier (le Bayoud) causée par champignon d'origine tellurique *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (FOA) (Killian et Maire 1930), est la maladie la plus destructive et la plus menaçante dans l'Afrique du nord. Elle est répandue surtout au Maroc et dans une grande partie des palmeraies de l'Algérie (Djerbi 1982 ; Brac et Benkhalifa 1991).

- **Caractéristique de l'agent causal :**

Le parasite responsable du Bayoud a été isolé pour la première fois en 1921, mais identifié seulement en 1934 par Malençon.

Ces formes imparfaites sont caractérisées par un mycélium septé et des conidies généralement unicellulaires situées sur des conidiospores ; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (Lepoivre, 2003). Ce dernier est un agent vasculaire qui se conserve dans le sol sous forme de chlamydospores et infecte les plantes via les racines qu'elles pénètrent directement ou par des blessures d'origine mécanique ou biologique.

Cet agent causal se caractérise par sa résistance à la sécheresse et par sa capacité de rester dangereux après plus de trente ans passés sous-sol. Il est également très prolifique soit par le repiquage de rejets apparemment sains, soit par l'irrigation, soit par les vents de sables qui peuvent transporter de minuscules éléments végétaux (El Hadrami *et al.*, 2007)

- **Symptôme de la maladie :**

Le Bayoud attaque aussi bien les palmiers jeunes qu'adultes, de même que leurs rejets basaux. Le premier symptôme externe de la maladie, apparaît sur une ou plusieurs feuilles de la couronne du milieu. (Figure 6 et 7) La feuille affectée flétrit d'une manière caractéristique, les pennes d'un côté deviennent blanches depuis la base vers le sommet de la feuille, puis depuis le haut vers la base de l'autre côté de la feuille (Messiaen *et al.*, 1993). Ce symptôme est à l'origine du nom de la maladie, bayoud dérivant du mot arabe « abyed » qui veut dire blanc et de la forme spéciale albedinis du *Fusarium oxysporum* responsable de la maladie, tiré du latin *albus* (blanc). Pendant ce blanchissement, la face dorsale du rachis devient brune, correspondant au passage du mycélium dans les faisceaux vasculaires du rachis. Ensuite, la feuille, ressemblant à une plume mouillée, prend le long du tronc. Ce processus peut prendre quelques jours à plusieurs semaines (Djerbi, 1988).

Si on déracine un palmier malade, on ne voit qu'un petit nombre de racines infectées, rougeâtres, sans proportion avec les dégâts observés sur l'arbre. Ces racines malades correspondent à plusieurs groupes de vaisseaux vasculaires du stipe qui ont pris une coloration brune-rougeâtre, de même que le parenchyme et le sclérenchyme environnants. (Bulit *et al.*, 1967 ; Louvet *et al.*, 1970 ; Djerbi, 1982).

Le palmier meurt à partir de 6 mois à 2 ans après l'apparition des premiers symptômes, et ceci dépend des cultivars et des conditions de culture (Djerbi, 1982). Les symptômes de la maladie de Bayoud n'ont pas été jusqu'ici signalés dans les fleurs ou les fruits (Koulla et Saaidi, 1985).



**Figure n° 6 :** premiers symptômes de Bayoud (Lepoivre, 2007)



**Figure n° 7 :** stade final de Bayoud (Lepoivre, 2007)

- **Dissémination :**

La propagation de la maladie se fait de différentes manières, par des rejets infectés, par le sol contaminé, par les plantes porteuses du champignon (henné, luzerne, etc.), par les tissus infectés (en particulier des morceaux de rachis infectés) et par l'eau d'irrigation. La maladie peut aussi se transmettre par contact entre les racines infectées et saines (Bouizgarne et al, 2004).

#### **4-1-2-Fusariose vasculaire de la tomate :**

La tomate est sujette à deux maladies fusariennes : la flétrissure fusarienne classique causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder et Hansen et la pourriture des racines et du collet causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis et Shoemaker. (Katan et al., 1997).

Ce dernier est un champignon tellurique doté d'une spécificité stricte d'hôtes. Il est capable d'envahir l'ensemble du système vasculaire de la plante provoquant ainsi son

obstruction et par la suite l'affaiblissement de la plante qui finit par mourir (Snissiet *al.*, 2006).

La flétrissure fusarienne est une maladie dévastatrice pour les cultures de tomate partout dans le monde (Walker, 1971).

- **Caractéristiques de l'agent causal :**

Le *Fusariumoxysporumlycopersici* (Fol) produit trois types de spores asexuelles : les microconidies uni ou bicellulaires, seules présentes dans la plante-hôte; Les macroconidies en forme de croissant, comprenant trois à cinq cellules, formées sur des débris de plantes mortes; les chlamydo-spores, formées à partir de mycélium ou de macroconidies, représentant les spores de résistance du champignon (Agrios, 2005).

- **Symptômes de la maladie :**

La maladie peut affecter sévèrement de jeunes plantules de tomate et les tuer, mais elle attaque surtout les plantes qui portent des fruits. Les symptômes produits par *Fusariumoxysporumf.splycopersici* responsable de la fusariose vasculaire de la tomate sont variables. On peut observer des symptômes foliaires de flétrissement et de jaunissement, le brunissement des vaisseaux, et enfin la mort de la plante hôte (Messiaien, 1981)(Figure 8)

En coupe, la base de la tige montre des vaisseaux bruns à noirâtres (conséquence de l'activité des substances phénoliques) localisés sur un secteur du côté des racines atteintes ou bien répartis sur toute la section (Kraft et *al.*, 1994) (figure9).



**Figure n° 8 :**Jaunissement et flétrissement du au *Fusariumoxysporumlycopersici* sur les feuilles de la tomate(



**Figure n° 9 :** Brunissement longitudinal de la tige

- **Dissémination :**

La dissémination du champignon se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent, les éclaboussures, les importations dans l'exploitation terreuse ou des plants contaminés (Agrios, 1988).

#### 4-2 Verticilliose

La verticilliose est une maladie due à un champignon *Verticilliumdahliae* se transmet par voie racinaire, entraîne un dessèchement des arbres par une interruption de la circulation de la sève au niveau du collet.

Les *Verticillium*sont polyphages, et attaquent des plantes appartenant à des genres et famille botaniques très différents dont beaucoup ont un intérêt agricole et économique telles que plantes maraichères, fourragères, fruitières, ornementales.

En Algérie, la verticilliose fut signalée pour la première fois par Boullinger(1970) et par Subramoniam (1974) sur les cultures de tomates. Ce n'est qu'en 1990 que la Verticilliose de l'olivier a été signalée en Algérie par Benchaabane et plus récemment par Matallahet *al.* (1996), puis Bellahcene et *al.* (1997, 1998,2000). Cette maladie est signalée dans de nombreuses zones de production du monde et peut occasionner des dégâts importants.

Ruggieri (1946) in Bellahcene, 2004) attribuent l'affection vasculaire de l'olivier à un agent de trachéomycose, *Verticillium* Kleb, qui a été décrit pour la première fois sur le dahlia en 1613.

Selon la classification établie par Agrios (1988) puis Botton et *al.*, (1990). *Verticillium dahliae* appartient à la division des Amastigomycota, Groupe Deutéromycètes, Classe Hyphomycét, Ordre hyphales ou Moniliales, Famille Moniliaceae, genre *Verticillium*, espèce *Verticillium dahliae*.

- Le genre *Verticillium* appartient au groupe des champignons imparfaits et possède deux types d'organes reproducteurs : les microconidies, les microslérotés. (Goudou – Sinha, 1988).
- **Symptômes de la Verticilliose**

Les symptômes de la verticilliose sont variables selon les conditions du milieu, les plantes-hôtes et l'agressivité des souches. *Verticillium dahliae* provoque chez son hôte des symptômes externes au niveau du système aérien : jaunissement et nécrose des feuilles, flétrissement des feuilles et de la plante entière, ainsi que des modifications de croissance. (Figure n° :10 et 11). Il entraîne également des symptômes internes brunissements des vaisseaux, dus à l'oxydation de phénols des cellules du parenchyme (Mueller et Beckman, 1976).



**Figure n°10 :** Les symptômes de verticilliose sur l'olivier



**Figure n°11 :** Les symptômes de verticilliose sur la tomate

- **Cycle infectieux de l'agent pathogène :**

Verticilliose peut survivre dans le sol durant plusieurs années, jusqu' à 20ans, sous forme de microsclérotés (amas de cellules de 0,1a 0,5mm) libres ou dans des tissus infectés (Civantos, 1999 : Julien, 2005). Parasite facultatif, son cycle de développement se déroule en 2 phases saprophytique qui comprend une période d'activité et une phase parasitaire qui se déroule dans la plante-hôte (Hiemstra, 1998).

### 5- Méthode de lutte contre trachéomycoses:

Plusieurs méthodes de lutte sont préconisées pour faire face à la flétrissure fusarienne : l'utilisation de variétés résistantes, les méthodes culturales qui consistent à éviter les conditions qui favorisent la maladie soit : un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées et un manque de lumière en intensité et en temps (Benchabane, 2005).

Toutefois, Djerbi (1986) annonce qu'une rotation de la récolte de 4 à 5 années diminue la densité de l'inoculum dans le sol mais sans freiner complètement la maladie.

En outre, une méthode de lutte physique a été mise en pratique par Arbaoui (1984), qui consiste à un traitement à l'eau chaude de 48-49°C des racines pendant 30 secondes au moins, 48 heures avant la transplantation. L'utilisation des fongicides telles que Thiabendazole, benomyl, carbendazim et méthyl-thiophanate sont absorbés par le feuillage et les racines et transportés par le xylème (Erwin et Buchenauer, 1971). Cependant, aucune lutte chimique efficace n'a été mise au point (Tawil, 1979 ; Tawil et al., 1991 ; Tjamos, 1993).

La lutte biologique contre des maladies végétales est due généralement à la présence de microorganismes qui contrôlent les maladies et qui sont marqués comme agents de lutte biologique (Alabouvette et al., 1979). Les *Pseudomonas spp.*, fluorescentes sont parmi les microorganismes expérimentés avec succès à l'égard des maladies d'origine tellurique. Ils entrent en compétition pour les nutriments et la colonisation racinaire avec des souches de *Fusarium oxysporum* pathogènes (Alabouvette et al., 2006).

La lutte biologique contre les maladies fongiques par des agents microbiens semble être une excellente option, car les effets néfastes secondaires sur l'environnement peuvent être nuls ou minimes. L'inhibition des pathogènes par des souches bactériennes rhizosphériques est considérée comme un mécanisme indirect pour favoriser la croissance des plantes. (Nautiyal, 2001).

### 1-Matériel biologique :

#### 1-1 Souches bactériennes :

Nous avons utilisé deux souches bactériennes B1, B2 de *Pseudomonas* spp. fluorescents, ces souches bactériennes ont été isolées à partir de la rhizosphère de sol cultivé (collection de laboratoire).

#### 1-2 Isolats fongiques :

Trois isolats fongiques ont été utilisés

- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedenis*, agents de la fusariose vasculaire.
- *Verticillium dahliae*, agent de la verticilliose..



- *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedenis*(foa)
- *Verticillium dahliae*(v d)
- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*(fol)

➤ **Figure 12:** isolats fongiques sur milieu PDA *Fusarium oxysporum* *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* *albedenis* et *Verticillium dahliae* (Originale, 2019).

#### 2- vérification de la pureté du matériel biologique :

La pureté des souches bactériennes a été vérifiée sur le milieu King B (King, 1954)(annexe n°1). Les souches pures sont obtenues suite à une série de repiquages jusqu'à obtention de souche pure qui consiste à réaliser le prélèvement et la transposition de la bactérie. Après 24 heures d'incubation à T° 26°C ± 2°C à l'étuve on observe des colonies bien individualisées. Après les souches pures sont conservées à 4°C.

La vérification de pureté des isolats fongiques a été effectuée par la mise en développement des champignons en déposant un disque mycélien sur milieu PDA (Jonsthorpe et Booth, 1954) (annexe n° 1). Après incubation à  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$  pendant une semaine, les isolats fongiques sont conservés à  $4^{\circ}\text{C}$ . (figure 12).

### **3-Identification phénotypique des isolats bactériens :**

L'identification préliminaire des souches bactériennes espèces de *Pseudomonas* est essentiellement basée sur les caractéristiques morphologiques, production de pigment fluorescent

La coloration de Gram, la mobilité, la recherche de la catalase et de l'oxydase, ainsi que l'étude des caractéristiques physiologique et biochimiques.

#### **3-1--Caractérisation morphologique (caractère culturaux) :**

##### **3-1-1 Caractérisation macroscopique :**

La caractérisation est effectuée après purification des souches bactériennes. L'examen des caractères morphologique porte sur l'observation des caractères culturaux qui sont essentiellement la couleur, la forme, l'aspect, l'élévation et les dimensions des colonies bactériennes, après une incubation à  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  pendant 24h sur le milieu King B .

##### **3-1-2-Caractérisation microscopique :**

###### **3-1-2-1-Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est une coloration différentielle permettant de classer les bactéries en deux groupes selon la structure de leur paroi en bactéries à Gram positif et à Gram négatif. La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode classique décrite par Hildebrand et *al.*, (1988).

En effet quand les bactéries sont mises au contact du violet de gentiane puis soumises à l'action du lugol, il se forme un complexe colorant qui colore en violet la cellule bactérienne. Cependant, lorsque ces bactéries colorées sont lavées à l'alcool, seules celles à Gram négatif (présence membrane externe et couche mince de peptidoglycane) qui perdent leur coloration et prennent la couleur rose après la coloration par la Fushine. Les bactéries à Gram positif possèdent une couche épaisse de peptidoglycane qui empêche la pénétration de l'alcool et

donc restent en couleur violet. La coloration de Gram a été réalisée par la méthode classique décrite par Hilde Bbrand et al, (1988) et qui s'effectue en trois étapes :

- Préparation du frottis bactérien : une crème bactérienne âgée de 24h et déposée dans une goutte d'eau stérile sur une lame propre et bien étalée.
- Fixation : la préparation a été fixée par la chaleur au-dessus de la flamme du bec bunsen.
- Coloration : le frottis ainsi fixé est d'abord coloré par le violet de gentiane pendant une minute suivie par l'application d'une solution d'iodo-iodurée (lugol).

Après une minute, on réalise un rinçage à l'eau, puis une décoloration du frottis par l'utilisation de l'alcool jusqu'à disparition de la couleur violette.

Après un lavage abondant à l'eau, le frottis subit une deuxième coloration à l'aide d'une solution de fuschine basique ; on termine par un lavage à l'eau et un séchage au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

L'observation de la préparation est faite sous un microscope photonique à l'huile à immersion au grossissement  $10 \times 100$ . La lecture des résultats est basée sur la coloration prise par les bactéries roses pour les Gram négatif, violet pour les Gram positif.

### **3-2-Caractères biochimique :**

L'activité biochimique des deux souches bactériennes est basée sur quelques testes biochimiques (galerie biochimique classique) dans le but de vérifier la stabilité des caractères des souches étudiées.

#### **3-2-1-Recherche de catalase :**

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée, (Guiraud et al., 2003). Sur une culture bactérienne âgée 24h, on instille quelques gouttes de l'eau oxygénée à 10 volumes. La présence d'une catalase (catalase positive) se traduit par l'émission, des bulles gazeuses, juste après le contact selon la formule :



### 3-2-2-TestOxydase:

Ce test est réalisé avec l'utilisation d'un disque d'oxydase prêt à l'emploi. A l'aide d'une pince nous déposées ce disque sur jeune culture bactérienne âgée de 24 heures. La lecture des résultats se fait immédiatement, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur bleu violacée au bout de 10 secondes.

### 3-2-3-Tolérance au Nacl :

La détermination de la résistance des isolats bactériens à la salinité a été effectuée par l'ensemencement en strie les souches bactériennes âgées de 24 heures sur milieu de culture de Chapman. La lecture des résultats portant sur la présence ou l'absence de la croissance bactérienne est réalisée après 72 heures d'incubation à  $26^{\circ}\text{C} \pm 2\text{C}$ .

### 3-2-4-Test Mannitol et Mobilité :

Le milieu Mannitol-Mobilité permet de mettre en évidence l'utilisation de mannitol comme source de carbone, ainsi que la mobilité des souches bactériennes. L'ensemencement des souches bactériennes âgées de 24 heures est réalisé par pique jusqu'au fond du milieu de culture (Gardan et Luisetti, 1981) (. Annexe n° 3)

Après incubation à une température de  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ , l'apparition d'une coloration jaune correspond au Mannitol positive. Le développement des bactéries dans toute la gélose signifie qu'elles sont mobiles.

### 3-2-5- Recherche de Nitrate réductase :

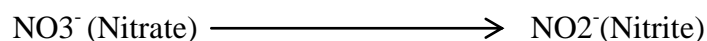
La réduction des nitrates a été testée selon la méthode décrite par Roussel Delifet *al.* (2005). La technique consiste à inoculer une suspension bactérienne de 24 h dans des tubes de Bouillon nitraté (Annexe n° 2), puis les incubés pendant 24 h à une température de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

La mise en évidence des nitrites dans le milieu se fait grâce à la technique de Khan qui utilise les réactifs de GelessIllosway : Réactif A : Acide sulfanilique en milieu acétique, Réactif B : Naphtylamine en milieu acétique.

Cette méthode consiste à ajouter à la surface de milieu 3 gouttes du réactif A puis 3 gouttes du réactif B et homogénéiser le mélange. Si une coloration rose apparaît les nitrites sont présents, la bactérie possède un nitrate réductase.

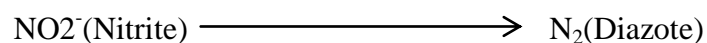
Si le milieu reste incolore, on ajoute la poudre de zinc. Si le milieu devient rose, les nitrates sont présents, la bactérie ne possède pas dénitratre-réductase. Si le milieu reste inchangé, les nitrates ont été réduits en nitrites par le nitrate réductase, et les nitrites en azote ammoniacal par le nitrate -réductase. Selon la réaction suivante :

### Nitrate réductase



La dénitrification a permis l'obtention de diazote. La réaction est fortement positive, c'est-à-dire la bactérie possède le nitrate réductase.

### Dénitrification



### 3-2-6-Utilisation de l'ion citrique :

L'utilisation du milieu Citrate de Simmons (Annexe n° 1) a pour but de déterminer la capacité des souches bactériennes à utiliser les citrates de sodium comme une seule source de carbone. (Gardan et luisité, 1981).

Cette technique consiste à ensemencer en stries longitudinales le milieu (qui se présente en pente) à partir de la suspension bactérienne âgée de 24 h. L'incubation se fait à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Les bactéries citrate perméase (+) donnent une culture abondante et se traduit par le virage de la couleur du milieu au bleu (Larpent, 1975).

### 5-2-7 /-Test Fermentation oxydation.

La fermentation ou l'oxydation des sucres (glucose, lactose) est recherchée sur le milieu d'identification Mevag (méthode d'étude des voies d'attaques des glucides) (annexe n°3).

L'ensemencement d'une crème bactérienne âgée de 24h est réalisé par une pique centrale sur le milieu Mevag confectionné en deux tubes à essai. Ajoute, à l'un de ses tubes une mince couche de l'huile de vaseline pour l'obtention des conditions d'anaérobiose.

Le virage de la couleur au jaune dans les deux tubes indique que la bactérie utilise la voie fermentative. Si le virage de la couleur au jaune est uniquement dans le tube qui ne contient pas de la vaseline donc la bactérie utilise la voie oxydative.

### 3-2-8- Utilisation des glucides :

Le milieu triple sugariron (TSI) : est un milieu utilisé pour voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate, et dégradation du sucre est accompagnée d'une production d'acide. (Annexe n°2)

Le milieu de départ s'il vire au rouge pas de fermentation, la bactérie est aérobie, s'il vire au jaune une fermentation, s'est produite ; de l'acide a été produit, la bactérie est anaérobie facultative. Gaz formé : du a une fermentation, couleur noire : sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) a été produit.

### 4-Essai d'activité antagoniste « *in vitro* » :

Dans l'essai d'antagonisme microbien, nous avons utilisées les deux souches B1, B2 de *Pseudomonas fluorescences* et trois isolats fongiques, il s'agit de l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici (fol) agent de la fusariose vasculaire de tomate et l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. albedinis (foa) agent de fusariose de palmier dattier et *Verticillium dahliae*, agent de la verticilliose.

L'étude *in vitro* du pouvoir antagoniste des deux souches vis-à-vis des trois isolats fongiques, a été réalisé en boîtes de Pétri sur les trois milieux différents : Le milieu B de King (KB) (King et al ,1954) ; le milieu PDA (Jonsthor et Bootn, 1983) ; le Gélose nutritive (GN) (Gardan et Luisetti, 1981).

Egalement, nous avons utilisé deux méthodes différentes afin de tester l'activité inhibitrice des bactéries sur la croissance mycélienne.

Pour l'ensemble des méthodes, nous avonsensemencé les boîtes de Pétri uniquement par l'isolat fongique (sans bactérie) afin de les utiliser comme témoins.

La lecture des résultats se fait par mesure de la distance parcourue par le mycélium, de l'isolat fongique en direction de la souche bactérienne. Le pourcentage d'inhibition selon (Trivedi et al ; 2008) est comme suit :

**(%) inhibition = (R témoin - R testé) / R témoin × 100** (Wang et al ,2002).

\* **R témoin** : distance de la croissance radiale de l'isolat témoin

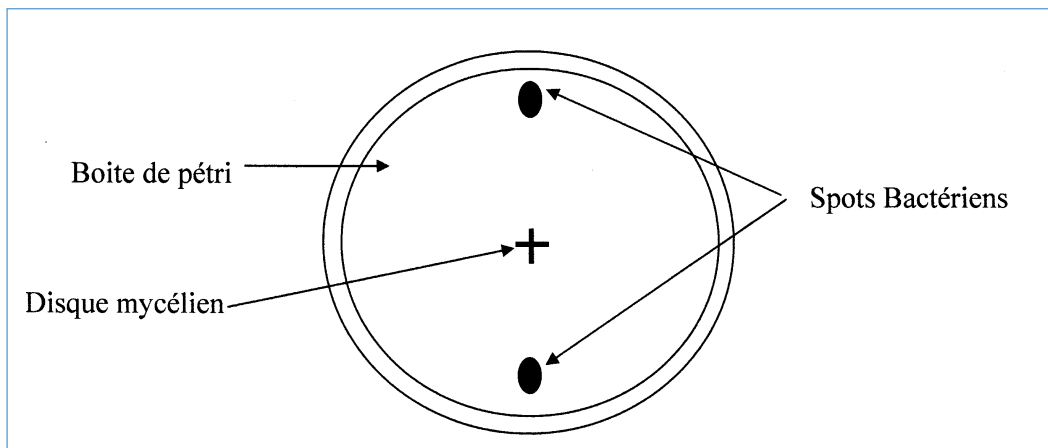
\* **R testé** : distance de la croissance radiale du mycélium en présence de bactérie

### 4-1-La méthode directe :

Cette méthode consiste à effectuer une confrontation directe (contact direct) entre la bactérie antagoniste et l'isolat fongique.

### 4-1-2- Méthode des spots :

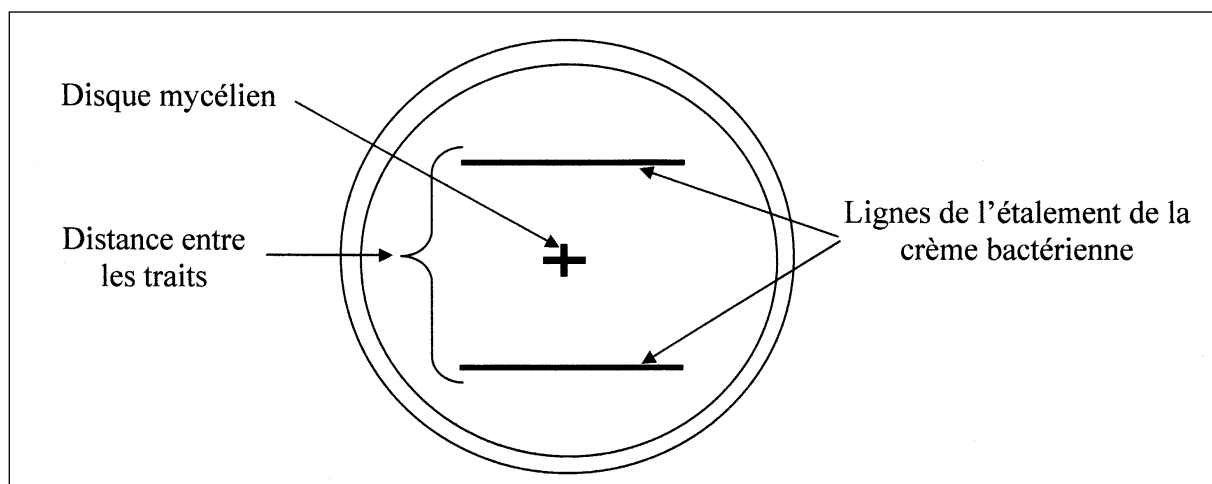
Cette méthode a été décrite par Becker (1988). Il s'agit de déposer à l'aide d'une anse des spots bactériens âgés de 24 heures à la périphérie de boîte de Pétri, contenant le milieu de culture, Après une incubation de 24 heures à une température de  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ , on dépose un disque mycélien dans le centre de la boîte puis on incube le tout à une température de  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$  pendant une semaine. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche.



**Schéma 1** : la méthode en spots

### 4-1-2- Méthodes des traits :

La méthode des traits (Reddy et Patrick, 1990) consiste à cultiver les souches bactériennes âgées de 24h, sous forme de traits fins espacés de 2 à 3 cm. Après 24 heures d'incubation à  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ , et le disquemycélien est déposé entre les deux traits bactériens. L'incubation est réalisée à  $26^{\circ}\text{C}$  pendant une semaine.

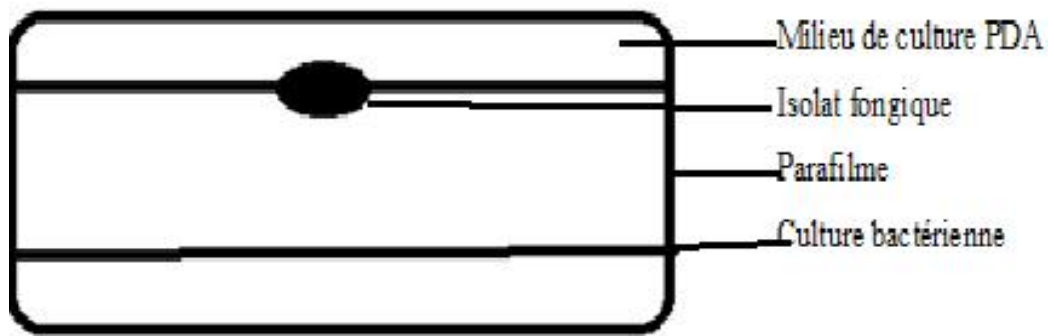


**Schéma 2 :** la méthode en traits

### 7-1-4-Méthodes de confrontation indirecte :

Cette méthode consiste à mettre en évidence les substances volatiles telles que l'HCN par la confrontation indirecte de la souche bactérienne avec le champignon phytopathogène, les souches bactériennes âgées de 24h sontensemencées sur milieu de culture King B coulé en boîte de Pétri, après 24h d'incubation à  $28^{\circ}\text{C}$  on place au-dessus de ces dernières le milieu PDA coulés en boîtes de Pétri etensemencé par un disque mycélien. Les deux fonds de boîtes de Pétri sont cillés par le para film.

L'ensemble est incubé à  $28^{\circ}\text{C}$  pendant une semaine. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la colonie fongique en présence et en absence de la souche bactérienne.



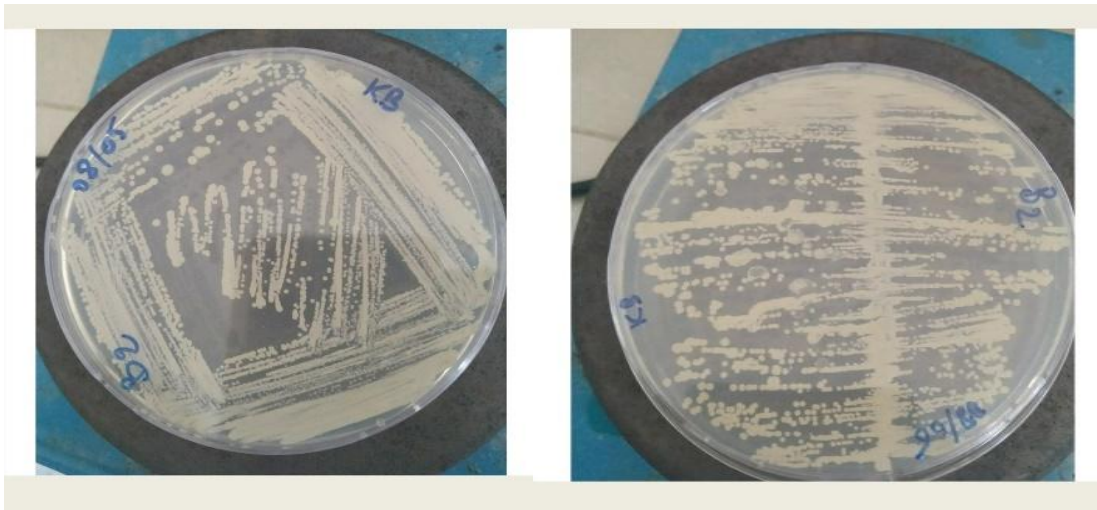
**Schéma n°3** : la méthode indirecte

### Résultats et Discussions :

#### 1- Caractérisation des souches bactériennes

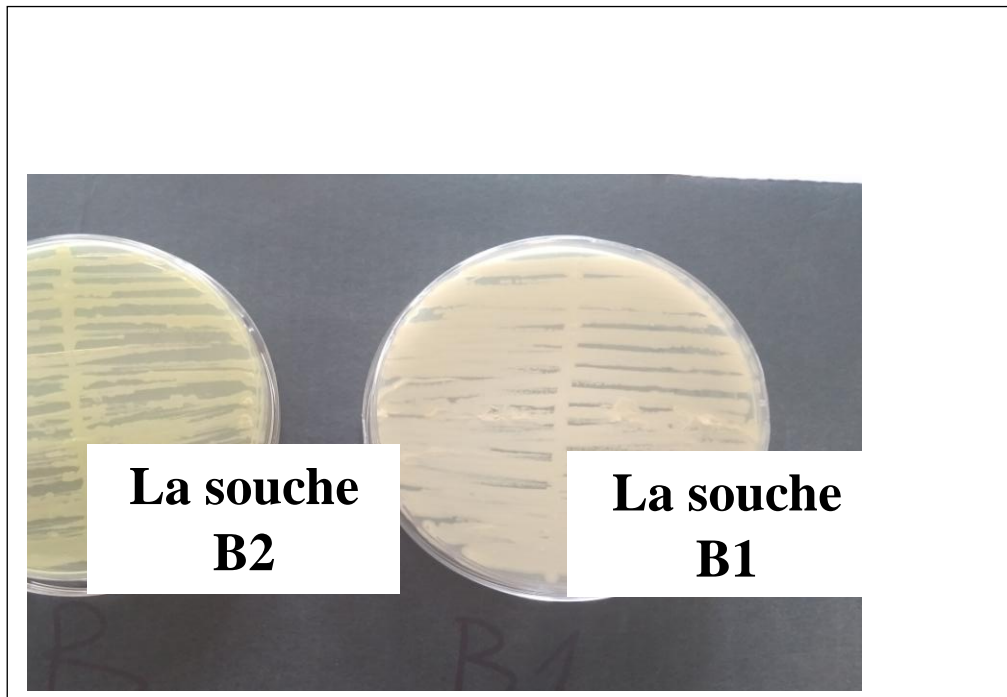
##### 1-1- caractères morphologiques et culturaux :

Après une incubation de 24h à 25°C sur milieu King B, nous avons obtenu des colonies bactériennes de couleur beige et crème avec un diamètre qui varie de 0.2 à 4mm. (Figure n° :13). L'élévation est convexe avec un aspect lisse et un contour régulier pour les deux souches bactériennes testées.



**Figure n°13 :** Aspect de souche bactérienne B1 observée à l'œil nu sur le milieu King B (Originale, 2019).

L'apparition d'une pigmentation fluorescente a été visible à l'œil nu sous lumière naturelle sur milieu King B. Cette pigmentation est plus importante sur la souche B2 que la souche B1. (Figure n° 14)



**Figure n°14 :** Production de pigment fluorescent par les souches b1 et B2 sur le milieu King B (Originale, 2019).

Les deux souches bactériennes observés sous microscope optique au grossissement 10×100 sont de forme bacille, droit, isolé ou regroupé de couleur rose, la coloration de Gram confirme que les deux souches bactériennes testées sont Gram négatif.

### **1-2-caractérisation biochimique :**

D'après les tests biochimiques réalisés (tableau n°4) nous avons constaté la galerie. Biochimique (figure n° 15).

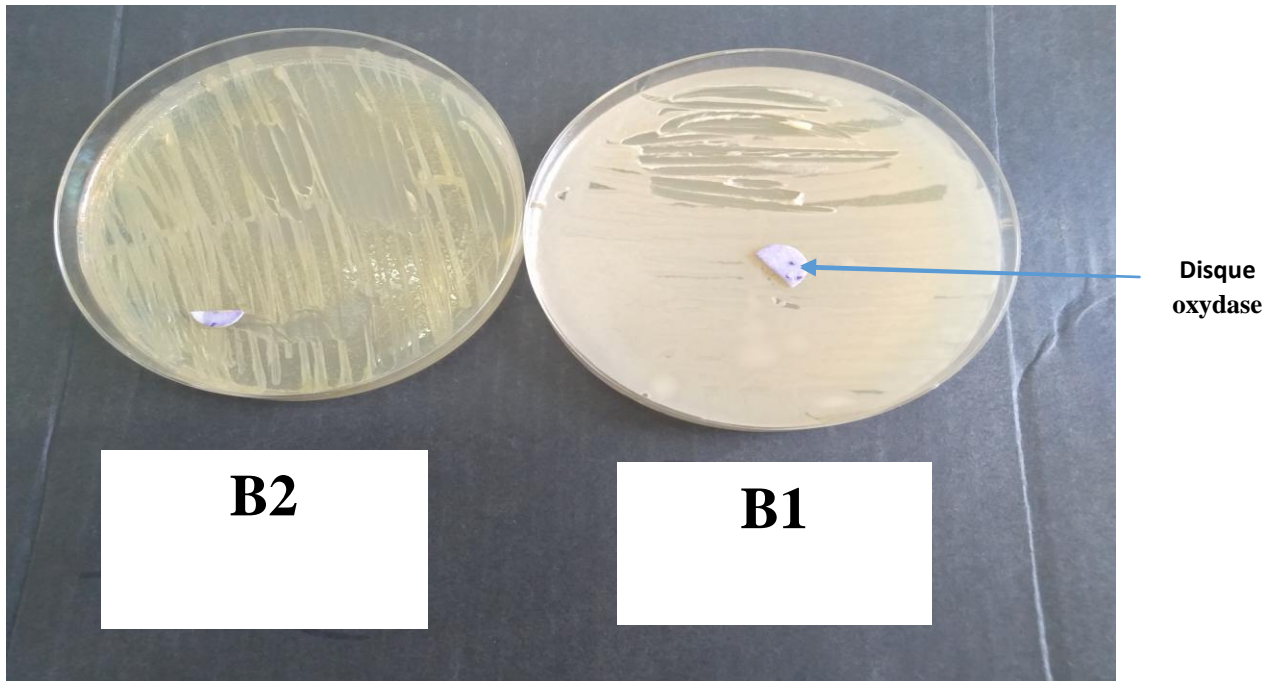


**Figure n °15** : la Galerie biochimique classique

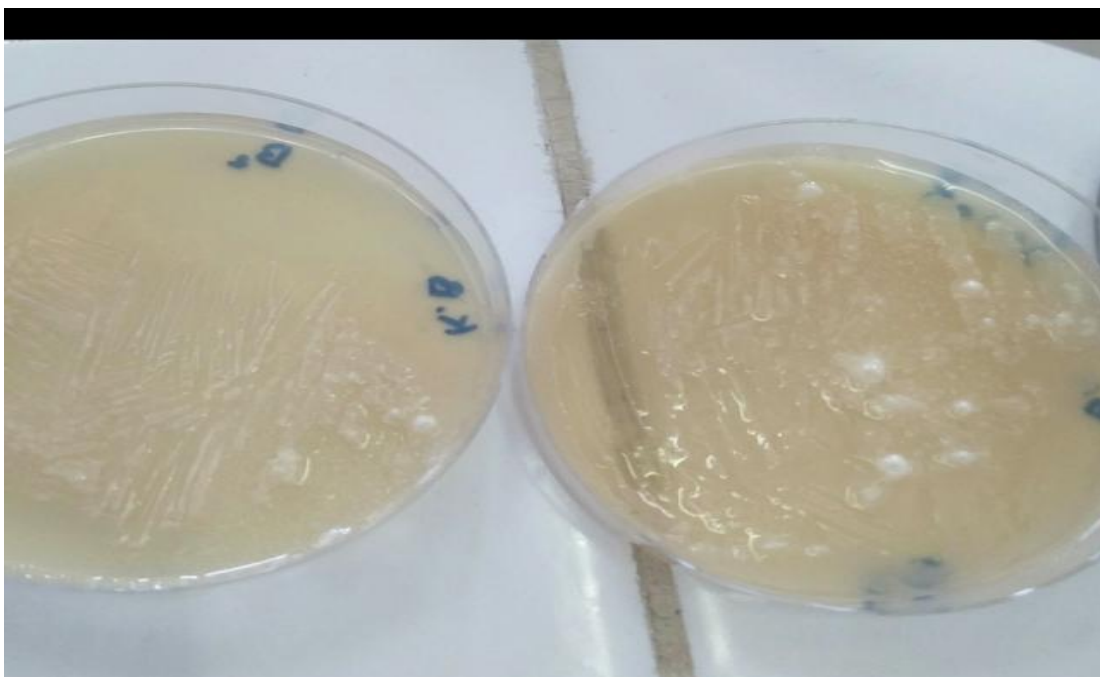
- Sur Mannitol –mobilité, les deux souches sont mobiles mais elles n’ont pas la capacité d’utiliser le Mannitol.
- Sur le milieu Citrate de Simmons, nous avons observé une coloration bleue ceciexplique la capacité à se développer en utilisant le citrate de sodium comme seule source de carbone donc les souches B1 et B2 possèdent la citrate-perméase.
- Les deux souches ont montré une réaction négative sur le bouillon nitraté ce qui signifie l’inaptitude à réduire les nitrates donc absence des nitrate réductases.
- Les souches bactériennes sont de métabolisme oxydative en présence de l’oxygène sur le milieu Mevag ce qui signifie que ces bactéries sont de type aérobie strict.
- Tolérance au NaCl : Les deux souches bactériennes ont montré une inaptitude totale à croître et à se développer sur milieu Chapman, ce qui explique qu’elles sont incapables de tolérer le NaCl.
- Sur le milieu TSI : un développement bactérienne et le changement de la couleur au jaune sont observés au niveau de la pente, cela signifie que ces bactéries sont des

lactoses (+) et saccharoses (+). En culot il n'y a pas de changement de couleur donc, il s'agit de glucose (-).

- Les deux souches sont catalase positive et oxydase positive. (Figure n° 16 et 17).



**Figure n°16 :** Résultats du test oxydase des deux souches B1 et B2



**Figure n°17 :** Résultats du test catalase des deux souches bactériennes B1 et B2

**Tableau n° 4 :** Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2

Souche	B1	B2
Test		
Pigment fluorescent	+	+
Catalase	+	+
Oxydase	+	+
Citrate de Simmons	+	+
Mannitol mobilité	Mannitol- Mobilité+	Mannitol- Mobilité+
Mevag	Aérobie Stricte	Aérobie Stricte
TSI	Glucose- Lactose+ Saccharose+	Glucose- Lactose+ Saccharose+
Bouillon nitraté	-	-
Tolérance au NaCl	-	-

(+) réaction négative

(-) réaction positive

### 2- Activité antifongique des souches bactériennes

Les souches B1 et B2 testées, présentent un taux d'inhibition >20%, elles sont considérées comme inhibitrices. Ces souches manifestent une action inhibitrice vis-à-vis des trois isolats de *Fusarium oxysporum albedenis* (Foa), *lycopersici* (Fol) *Verticillium dahliae* (vd). Le Diamètre des colonies mycéliennes a été réduit en présence des souches antagonistes de *Pseudomonas. spp.* fluorescents, comparé au témoin non inoculé.

L'inhibition de la croissance mycélienne est variable en fonction des souches bactériennes testés, des isolats, des milieux de culture et même de la méthode d'antagonisme utilisée.

#### 2-1-Résultats de la confrontation directe :

- **Sur milieu King :**

Sur le milieu King B, les résultats obtenus montrent que les deux souches exercent une activité antagoniste vis-à-vis des trois Isolats fongiques F1 (FOA), F2 (FOL), F3 (Vd). Ce résultat se voit clairement sur les boîtes de Pétri lors de la comparaison avec le témoin (Figure n°19).

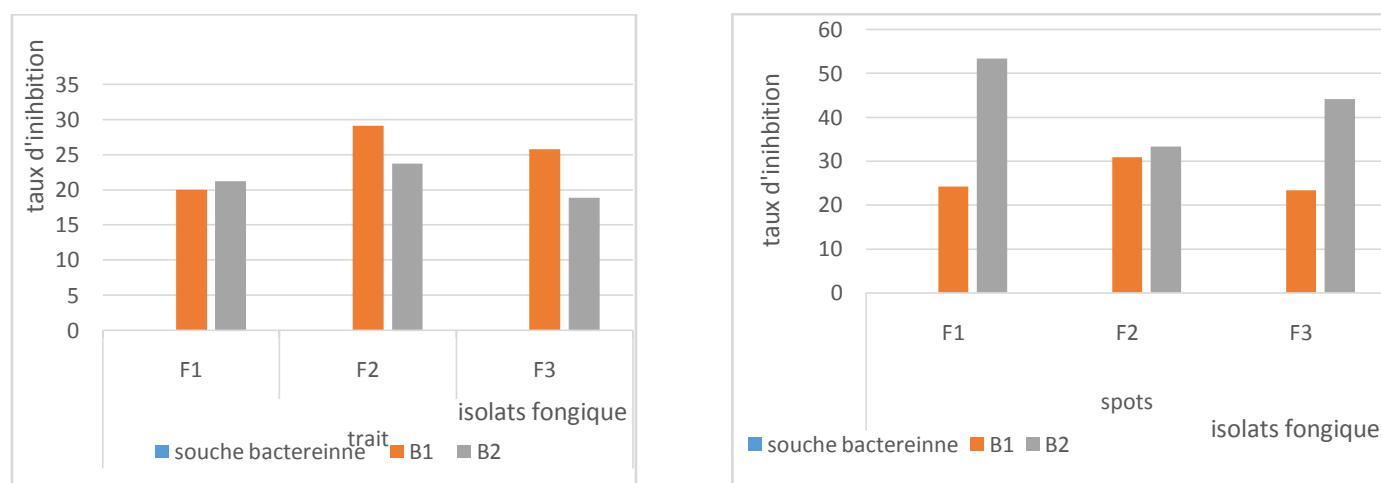
Nous avons remarqué une variabilité de taux d'inhibition assez importante entre la méthode des spots et celles des traits.

Sur ce milieu King B, les deux souches sont considérées comme inhibitrices avec un taux d'inhibition dépassant les 20%, à l'exception de la souche B2 qui a montré une activité antagoniste presque faible par la méthode des traits. (Tableau 5).

Les meilleurs taux d'inhibition de 53(%) enregistrée par la méthode des spots par la souche B2 vis-à-vis de F1.

Méthodes	Méthode des traits			Méthode des spots		
isolats souche	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (dv)
B1	20.06	29.19	25.82	31.05	30.68	23.85
B2	21.23	23.75	18.88	53.48	33.34	44.23

**Tableau n°5** : Taux d'inhibition (%) sur le milieu King B



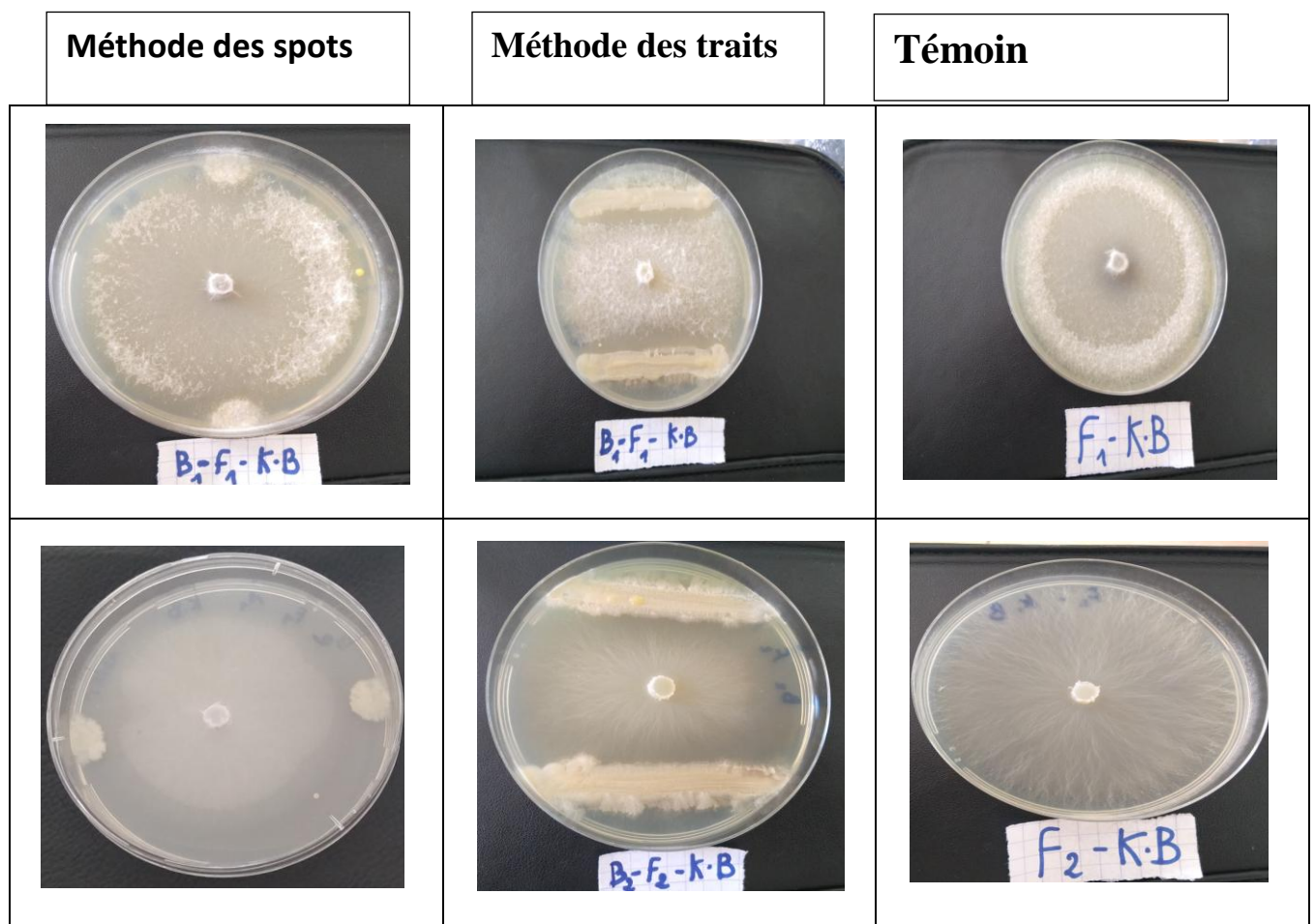
**Figure n°18** : Taux d'inhibition des souches B1 et B2 sur le milieu King B par la méthode des traits et des spots.

D'une manière générale, les taux d'inhibitions sont plus élevés dans le cas de la méthode des spots que dans la méthode des traits (tableau n°5, figure n°18).

Les résultats de méthode des spots montrent (Figure 18) que l'activité antagoniste de la souche B2 est plus élevée que la souche B1 en enregistrant un taux maximal d'inhibition de 53.48% vis-à-vis du F1 et de 44.23% vis-à-vis du F3. Un faible taux d'inhibition est enregistré par la souche B1 à l'encontre de F3 avec un taux de 23.85%.

Par la méthode des traits, les taux d'inhibitions les plus importants sont obtenus par la souche B1 vis-à-vis du F1 avec un taux de 29% et 25.82% vis-à-vis de F3. Egalement, la souche B2 a provoqué un taux d'inhibition de 23% vis-à-vis de F2.

A travers tous ces résultats, nous avons remarqué que sur le milieu King B, l'activité inhibitrice la plus importante a été obtenue par la souche B2 vis-à-vis d'isolat fongique F1.



**Figure n °19** : activité antagoniste des souches sur le milieu King B vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* lycopersici et *Fusarium oxysporum* albedenis et *Verticillium dahliae*

- **Sur le milieu PDA**

Sur le milieu PDA, les deux souches bactériennes ont montré des activités antagonistes, appréciables par les deux méthodes vis-à-vis des trois isolats fongiques. (Figure 21).

Même chose que pour le milieu King B, l'inhibition est obtenue beaucoup plus par la méthode des spots, que par la méthode des traits. (Tableau 6).

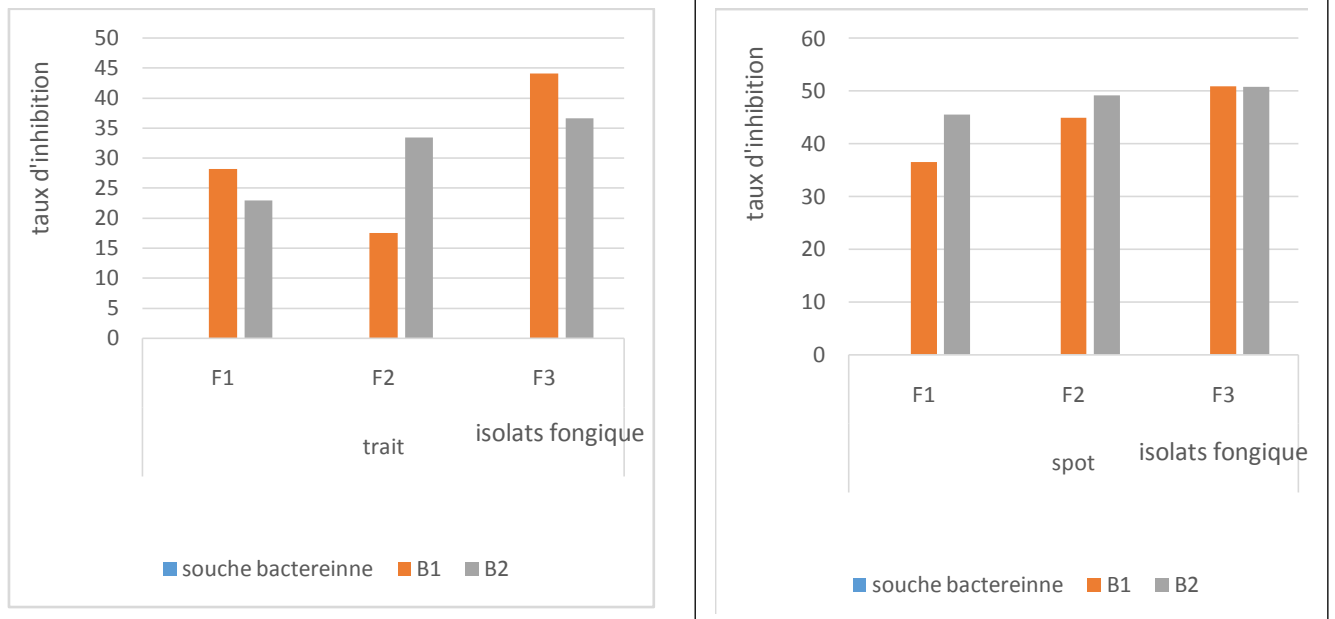
Le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré par la souche B1 avec une inhibition de 50.88% vis-à-vis de l'isolat F3 suivi par la souche B2 enregistrant un taux de 50.83% vis-à-vis du même isolat.

Le faible taux d'inhibition de 17.57% a été enregistré par la souche B1 vis-à-vis d'isolats F2. (Méthode des traits) (. Figure 20)

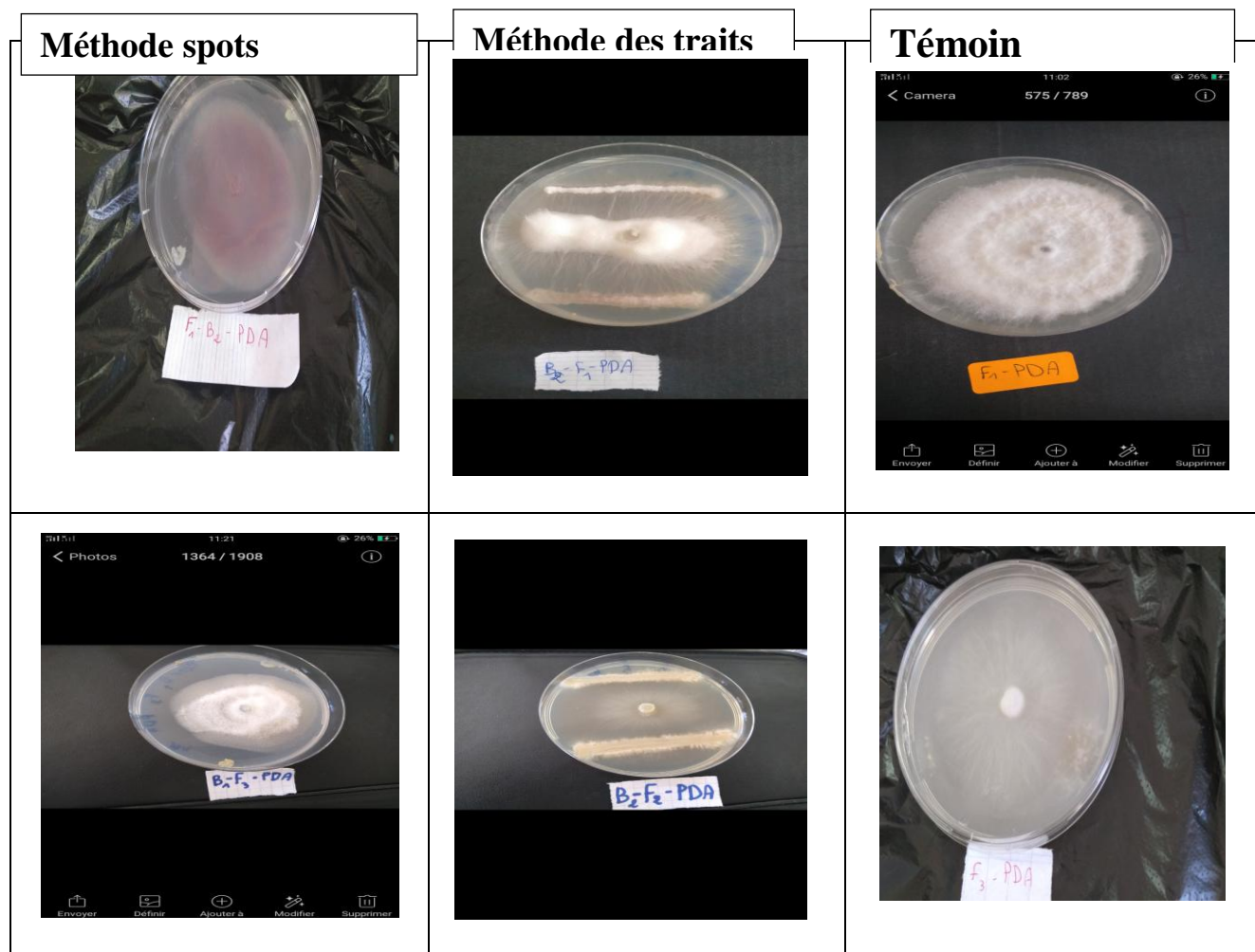
Sur ce milieu, la meilleure activité inhibitrice a été obtenue par la souche B1 vis-à-vis de isolats fongique F3 ce dernier s'est montré très sensible à la présence de bactéries antagoniste.

**Tableau n°6** : Taux d'inhibition (%) sur le milieu PDA.

méthode	Méthode trait			Méthode spot			
	isolats fongique	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)
souche bactérienne							
B1		28,25	17,57	44,16	36,56	44,9	50,88
B2		22,99	33,47	36,66	45,49	49,21	50,83



**Figure n°20 :** Taux d'inhibition de B1 et B2 sur le milieu PDA par la méthode des traits et spots



**Figure 21 :** activité antagoniste des souches sur le milieu PDA vis-à-vis de *Fusarium oxysporum lyopersici* et *Fusarium oxysporum albedinis* et *Verticillium dahliae* (originale, 2019)

### Sur le milieu GN :

Sur le milieu GN les deux souches exercent une activité antagoniste remarquable vis-à-vis de trois isolats fongiques. Les meilleurs résultats ont été obtenus par la méthode des spots. (Figure 23). Sur ce milieu, les souches bactériennes ont montré des taux d'inhibitions plus importants par rapport aux deux autres milieux (King B et PDA)

L'activité antagoniste maximale a été obtenue à l'encontre de l'isolat F3 par la souche B2 et B1 en enregistrant des taux d'inhibitions respectivement de 63.61% et 55.64%. (tableau 7).

La plus faible activité antagoniste a été obtenue par la souche B1 vis-à-vis de F2 avec un taux de 21.93

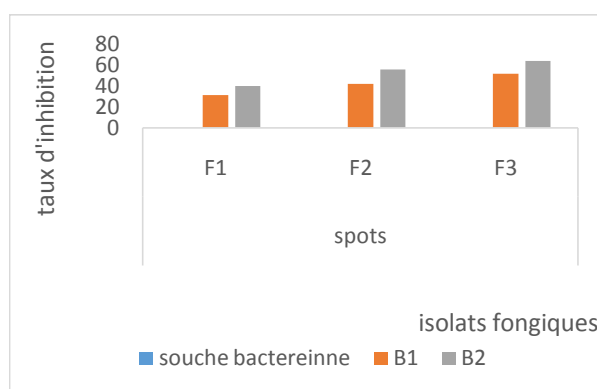
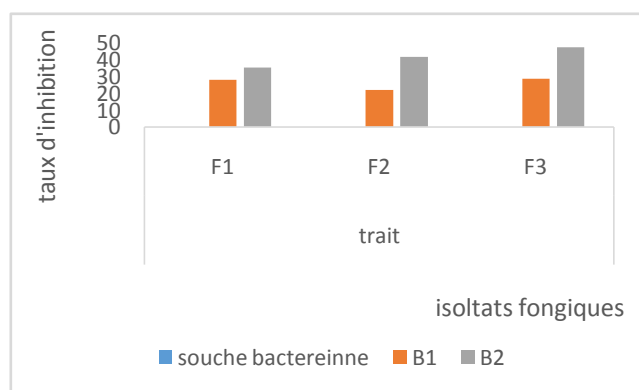
**Tableau n°7** : Taux d'inhibition obtenue par la souche B1 et B2 (%) sur le milieu GN.

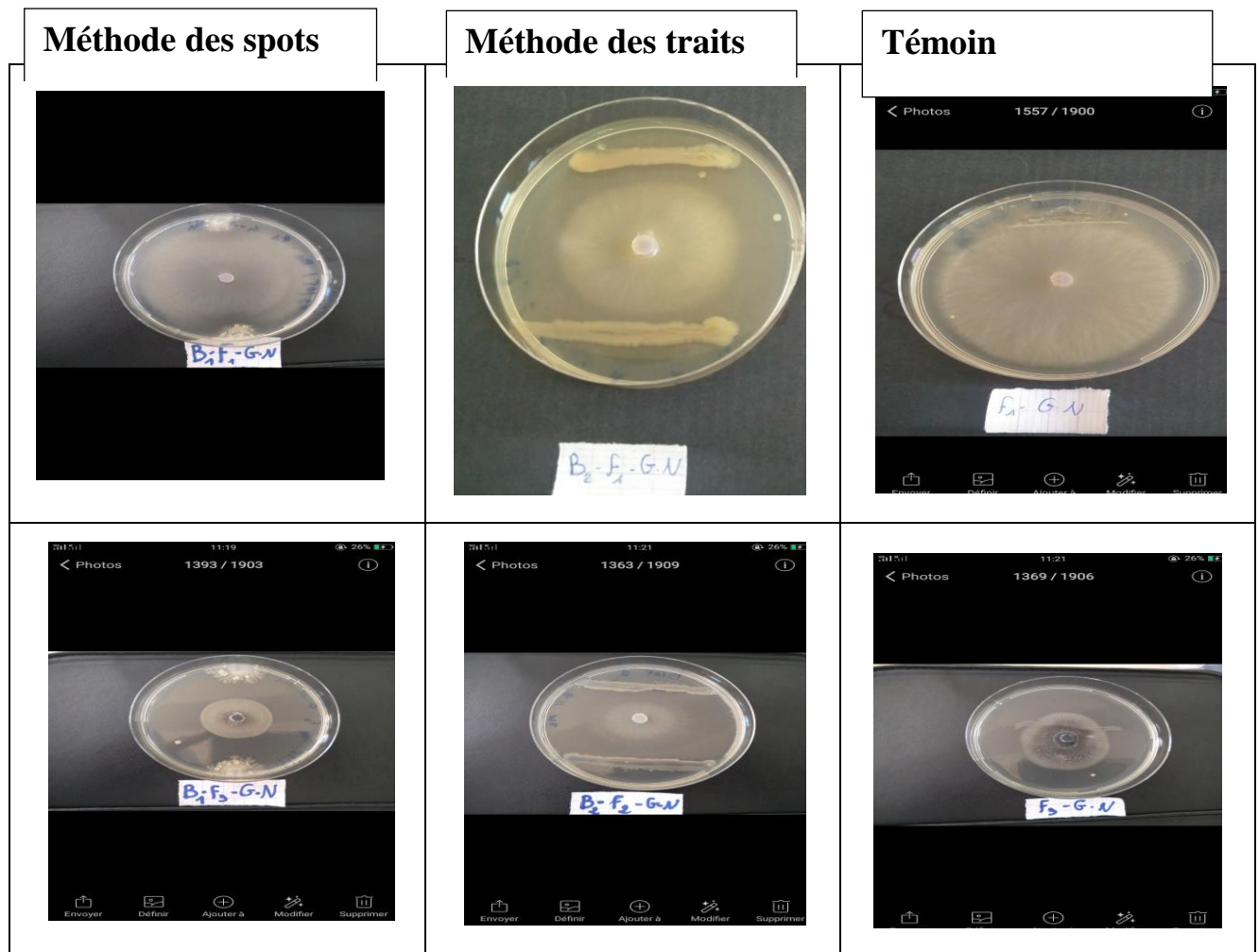
Méthode	Méthode des traits			Méthode des spots		
isolats Souche	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)
B1	27.89%	21.93%	28.62%	31.25%	42.01%	51.57%
B2	35.48%	41.78%	47.33%	39.52%	55.64%	63.61%

Les deux souches bactériennes ont enregistré des taux d'inhibitions importants, mais la souche B2 reste la plus efficace (. Figure 22)

Les trois isolats fongiques sont sensibles aux deux souches. L'isolat F3 s'est montré plus sensible par rapport au F2 et F1. Par contre l'isolat F1 s'est montré plus résistant aux rhizobactéries antagonistes.

**Figure n°22** : taux d'inhibition de B1 et B2 sur le milieu GN par la méthode des traits et la méthode des spots





**Figure n°23 :** activité antagoniste des souches sur le milieu GN vis –a-vis de *Fusarium oxysporumlyocopersici* et *Fusarium oxysporumalbedenis* et *Verticilliumdahliae*

### 3-2-Resultats de la confrontation indirecte :

Par Méthode de confrontation indirecte, l'activité antagoniste par la production de substances antagonistes volatiles en l'occurrence l'acide cyanhydrique a été démontrée par les souches bactériennes testées particulièrement vis-à-vis d'isolat F1 et F3. (Figure 24).

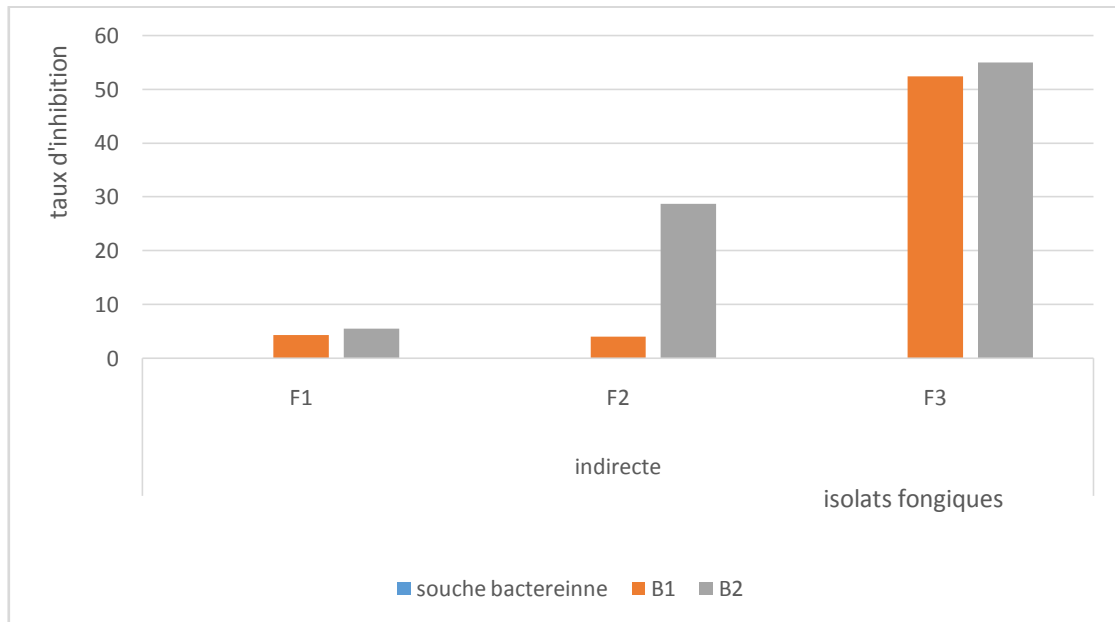


**Figure n°24** : activité antagoniste de la souche par la méthode indirecte

Par les actions antagonistes les plus importantes sont obtenues par la souche B2 avec un taux d'inhibition de 55% vis-à-vis de F3 suivit par la souche B1 avec un taux d'inhibition de 52.5% vis-à-vis du même isolat. (Tableau 8).

**Tableau n° 8** : Taux d'inhibition sur le milieu PDA par la méthode indirecte

Méthode	Méthode indirecte		
isolats souche	F1 (foa)	F2 (fol)	F3 (vd)
B1	4.32	4.1	52.5
B2	5.55	28.76	55



**Figure n°25:** taux d'inhibition sur le milieu PDA par la méthode indirecte

Vis-à-vis d'isolats F2 la souche B2 a montré une inhibition assez importante en enregistrant un taux de 28.76%. La souche B1 a montré une activité presque nulle vis-à-vis de l'isolat F2 et F1. Les composés volatiles synthétisés par la souche B2 sont plus efficaces que la souche B1 (figure 25).

### 3 -Discussion :

Comparativement avec les caractéristiques décrites précédemment, les deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescent étudiées ont montré une stabilité dans les caractéristiques culturales et biochimiques.

D'après les résultats obtenus du test d'antagonisme réalisé *in vitro*, nous avons constaté que nos souches bactériennes ont montré une grande variabilité de leur activité inhibitrice vis-à-vis des trois isolats fongiques. Cette variabilité n'est pas spécifique, elle dépend des souches bactériennes elles-mêmes, des milieux de culture et des isolats fongiques et de la méthode de l'ensemencement des souches bactériennes.

Par la méthode de confrontation directe, la souche bactérienne ont montré une activité antagoniste importante sur milieu King B. La souche B1 a enregistré des taux d'inhibition qui varient de 20.06% à 31.05%. La souche B2 s'est montrée plus antagoniste que la souche B1 en enregistrant des taux qui varient de 18.88% à 53.48%. Cette activité antifongique sur le milieu King B pourrait s'associer à l'implication de sidérophores.

Dans les conditions de carence en fer, les *Pseudomonas* spp. fluorescents synthétisent les sidérophores (pyoverdine et pyochiline), qui chélatent la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieaux et al., 2003 ; Suty, 2010).

Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires. (Lemanceau 2009). Ran et al. (2005) montrent que les *Pseudomonas putida* se caractérisent par une forte production en pyoverdines, exercent un effet antagoniste vis-à-vis *Botrytis cinerea*. Ils ont rapporté l'implication des sidérophores dans la suppression d'une maladie bactérienne chez *Eucalyptus Urophylla*. 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 (Lemanceau et al., 2009).

Les meilleurs taux d'inhibition sont enregistrés sur le milieu GN qui favorise l'activité inhibitrice des deux souches contre les champignons (F1, F2 et F3). Et le taux d'inhibition le plus important 63.61% a été enregistré par la souche B2 vis-à-vis de F3 et un taux de 51.57% enregistré par la souche B1 vis-à-vis de l'isolat F3.

Les souches bactériennes ont montré une activité assez remarquable sur le milieu PDA et GN par rapport au milieu King B. Ceci montre que la chélation du fer ne semble pas l'unique mécanisme intervenant dans le phénomène d'antagonisme *in vitro*. L'inhibition de la croissance mycélienne observée sur ces les trois milieux suggèrent que l'inhibition observée n'était pas due uniquement à l'action des sidérophores, mais que d'autres mécanismes ont été développés par ces bactéries, telle que la compétition pour les éléments nutritifs ou l'antibiose. Selon plusieurs auteurs les activités antagonistes peuvent être attribuées à la synthèse d'antibiotique et d'autre métabolite secondaire à effets d'antibiose (Digat et Gardan, 1987, Lemanceau, 1988, Van et Bakker, 2003).

De plus Weller et Cook (1983) avaient auparavant rapporté, que malgré l'importance de la production des sidérophores dans le biocontrôle, ce n'est probablement pas le seul mécanisme impliqué dans l'antagonisme. Etebarien et al (2005) ont attribué l'activité antagoniste de *Pseudomonas fluorescens*; contre plusieurs maladies végétales sa capacité de produire plusieurs métabolites antifongiques.

Autres mécanismes pouvant intervenir dans l'antagonisme microbien tel que la compétition pour les éléments nutritifs ou pour l'espace (Weller et al; 1988; Lemanceau, 1992; Bloemberg et al; 2001; Jelyaon et Kloepper, 2002; Persello-Cartiaux et al; 2003). Cela explique l'activité antagoniste de nos souches bactériennes enregistrée sur le milieu GN, un milieu riche en éléments nutritifs, vis-à-vis des trois isolats fongiques. Digat (1994), a signalé que l'activité antagoniste dépend non seulement des souches et des espèces testées, mais aussi de la composition du milieu.

Il apparaît clairement que les mécanismes responsables des effets de certaines souches de *Pseudomonas* reposent sur leurs activités antagonistes par la production des métabolites secondaires à l'encontre des agents phytopathogènes. Il a été déjà confirmé que ces trois souches de *Pseudomonas* (BB6, BB10 et F21) produisent des sidérophores, de l'acide cyanhydrique, des phosphatases, des Phénazines et d'autres enzymes de

dégradation de parois cellulaires chez les champignons (protéases, chitinases, cellulases, et pectinases) (Toua et al., 2013).

L'activité antagoniste par la production de substances antagonistes volatiles a été démontrée par les souches bactériennes testées *vis-à-vis* des isolats fongiques, en utilisant la méthode indirecte.

Par cette méthode, l'activité antagoniste la plus importante a été obtenue par la souche B2 et B1 vis-à-vis du F3 enregistrent des taux d'inhibition respectivement de 55% et 52.5%, cette inhibition peut être due à la synthèse des substances volatiles telles que l'acide cyanhydrique. Les *Pseudomonas. spp.* fluorescents produisent d'autres métabolites, de nature volatile qui peuvent interférer avec la croissance des phytopathogènes. Il s'agit de l'acide cyanhydrique (HCN) (Jacques et al., 1993). L'HCN produit dans la rhizosphère activerait des réactions de défense de la plante, ce qui correspond à un mécanisme indirect de la protection.

Les *Pseudomonas. spp.* fluorescents produisent le cyanure d'hydrogéné, qui assure une activité antimicrobienne à large spectre dans le contrôle biologique des maladies telluriques des nombreuses plantes (Ramette et al., 2003). C'est un métabolite essentiel dans le biocontrôle par les *Pseudomonas* (Weller, 2007 ; De Coste et al., 2010). La production de HCN par la souche de *P. fluorescens* CHA0 réduit la pathogénicité des champignons tels *Thielaviopsis basicola*, agent de la pourriture noire du tabac (Mercado-Blanco et Bakker, 2007).

Les composés volatils tels que l'ammoniac et le cyanure d'hydrogéné (HCN) sont produits par un grand nombre de rhizobactéries et jouent un grand rôle dans le biocontrôle (Brimecombe et al. 2001).

D'après les résultats obtenus, il est ressorti que la méthode la plus efficace sur l'inhibition de la croissance mycélienne était la méthode directe comparée à celle par action des substances volatiles. D'ailleurs, ces résultats rejoignent ceux de Tripathi et Johri (2002), signalant les composés volatils antifongiques produits par des *Pseudomonas .spp. Fluorescents* comme ayant un pouvoir antifongique moins important que leurs produits diffusibles.

Nous pouvons conclure que la capacité inhibitrice des souches bactériennes est plus importante quand celle-ci se trouve en contact direct avec l'agent pathogène. Pour la méthode de confrontation directe, il y a l'intervention de plusieurs mécanismes d'actions, contrairement à la méthode indirecte où il y a l'implication uniquement d'un seul mécanisme qui est l'HCN. Alabouvette et al. (1993) ont démontré que l'efficacité d'un agent de contrôle biologique n'était pas due à un seul mécanisme mais à une combinaison de différents modes d'action. Ceci montre que la méthode directe est plus efficace que la méthode indirecte.

Les méthodes de lutte classiques : culturales, génétiques et chimiques vis-à-vis des phytopathogènes présentent des limites et un manque de durabilité. Les PGPR sont utilisées comme une solution alternative ou complémentaire, qui semble assurer une efficacité durable. Induire et renforcer les mécanismes de défense propres d'une plante par l'application de ces agents biologiques est une nouvelle stratégie en matière de gestion indirecte des biogresseurs. Les PGPR peuvent contrôler les maladies des cultures par leurs actions directes sur les phytopathogènes, en produisant des métabolites secondaires, antimicrobiens et /ou d'enzymes hydrolytiques et /ou par compétition trophique.

Certaines bactéries associées aux plantes Particulièrement les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont connus depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies telluriques dans certains champs, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes *in vitro*. D'après nos résultats et comparativement aux caractéristiques décrits précédemment, les souches B1 et B2 ont montré une stabilité de leurs caractéristiques culturales et biochimiques.

Les résultats du test d'antagonisme *in vitro*, ont montré des effets antagonistes assez appréciables des souches bactériennes testées (B1 et B2). Ces dernières sont considérées inhibitrices des agents fongiques *Fusarium oxysporum albedinis*, *Fusarium oxysporum lycopersici* et *Verticillium dahliae*. En enregistrant des taux d'inhibition supérieurs ou égaux à 20%.

Les souches B1 et B2 ont enregistré des activités inhibitrices sur milieu King B qui signifie l'implication des sidérophores qui contribuent à l'antibiose (Maksimov *et al.* 2011).

A travers les résultats obtenus d'antagonisme indirecte, nous avons constaté que les souches sont capables d'inhiber la croissance mycélienne par la synthèse des produits antifongiques volatils tels que l'acide cyanhydrique.

Les taux d'inhibitions les plus élevés sont obtenus sur le milieu de culture GN par rapport aux milieux PDA et King B. L'activité inhibitrice enregistrée sur le milieu GN ne favorisant pas la production de sidérophores confirme la responsabilité d'autres métabolites, autres que les sidérophores.

A travers les résultats obtenue d'antagonisme indirecte, nous avons constaté que La souche B2 s'est montrée plus efficace que la souche B1 dans l'inhibition de la croissance mycélienne par la synthèse des produits antifongiques volatiles tels que l'acide cyanhydrique.

L'effet de l'activité antagoniste des deux souches (B1-B2) contre les trois champignons phytopathogènes a été étudié par les méthodes de confrontation sur les boites de Pétri (*in vitro*). Il en est ressorti que la méthode la plus efficace sur la croissance mycélienne était la méthode directe sur boite comparée à celle par action des substances volatiles. On conclue que la capacité inhibitrice des souches bactériennes est plus importante quand celles-ci se trouvent en contact direct avec l'agent pathogène.

Selon nos résultats, la souche B2 présente un potentiel antifongique plus important que la souche B1.

La compréhension des mécanismes d'action et des conditions permettant l'optimisation des effets bénéfiques de ces rhizobactéries constitue une voie indispensable pour leur exploitation dans les pratiques agronomiques comme biopesticides et/ou biofertilisants, l'utilisation de ces micro-organismes constitue une alternative biologique à l'emploi de produit chimique, essentielle à une agriculture saine et durable dans un souci de protection de l'environnement. Afin de diminuer la dépendance excessive des intrants chimiques dont les effets négatifs sur la santé et l'environnement ne sont plus à démontrer. Ces rhizobactéries peuvent devenir un complément ou même une réelle alternative pour les techniques de lutte et de fertilisation chimiques.

Pour cela, il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à la mise en euvres des activités antagonistes par les réalisations des essais *in situ* (plein champs ou sous serre). Ainsi, il est intéressant de tester, ces souches vis-à-vis d'autres agents phytopathogènes.

## Références bibliographiques

---

- **Abnatura RD. (2013).** Les Rhizobactéries PGPR. Bulletin Technique. Avril 2013 Issue. <[http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura\\_bulletin](http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin). (Accessed 21.04.18)
- **Adam A., 2008.** Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxigénase par des rhizobactéries non pathogènes. Thèse de Doctorat, Université de Liège. Belgique. 165p.
- **Adjanohoun, A., Baba-Moussa, L., Kakaï R.G., Allagbe, M., Yehouenou, B., Gotoechanhodonou, H., Sikirou, F., Sessou, P Et Dominique, C.K., 2011.** Caractérisation des rhizobactéries potentiellement promotrices de la croissance végétative du maïs dans différents agrosystèmes du Sud-Bénin. Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(2): 433-444.
- **Ahmad, M. & Kibret, M. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J King Saud Univer-Scien 26(01): 1-20.
- **Agrios, G.N.** 1988. Plant pathology. 3 rd. Ed. Academic Press. INC. England, 388p
- **Alabouvette C (1983)** La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse dr es sci nat, univ Nancy, 158p
- **Alabouvette, C., Lemanceau, P., Steinberg, C. 1993.** Recent advances in the biological control of *Fusarium wilts*. Pest. Sci., 37, pp. 365-373.
- **Alabouvette, C., Rouxel, F., Louvet, J. 1979.** Characteristics of *Fusarium* wilt-suppressif soils and prospects for their utilization in biological control in: soil-borne plant pathogens, Schippers..and Gams, W. (eds). Academic press, London, UK, pp 648.
- **Alabouvette, C. Olivain, C. et Steinberg, C. 2006.** biological control of plant diseases : the European situation. European Journal of Plant Pathology, 114:329-341.
- **Ali S.K., Sandahya M., Grover N., Kishore, L.V ET RAO B., Venkateswardlu., 2009.** Pseudomonas spp. strain AKM-P6 enhance of sorghum seedlings to elevated temperatures .Biol.Fert.Soils.46 :45-55.
- **Allaire, M. 2005.** Diversité fonctionnelle des Pseudomonas producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères des conifères en pépinière et en milieu naturel. Thèse Mag, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation .Univ. Laval Quebec.
- **Amkraz N., Boudyach E. H., Boubaker H., Bouizgarne B., AIT Ben**

## Références bibliographiques

---

- Aoumar A., 2010.** Screening for *fluorescent pseudomonades*, isolated from the rhizosphere of tomato, for antagonistic activity toward *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26 (6): 1059-1065.
- **Arbaoui M., 1984.** Essai d'utilisation de vibration électronique et manuelle pour l'élimination de la fécondité de la tomate *lycopersicum esculentum* non chauffée, thèse d'ingénieur en agronomie, INA. 56P.
  - **Armstrong, G.M., Armstrong, J. K. 1981.** Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Nelson, P. E., Tousson, T. A., Cook, R.J. Ed. Pennsylvania State University Press, University Park. pp. 391-399.
  - **Askeland, R. A. and Morrison, S. M., 1983.** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1802-1807
  - **Audenaert, K., Pattery, T., Cornelis, P., Hofte, M. 2002.** Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15: 1147-1156.
  - **Bakker P.A.H.M., Ran L.X., Pieterse C.M.J., Van Loon L.C., 2003.** Understanding the involvement of rhizobacteria – mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases. *Can. J. Plant Pathol.* 25: 5-9.
  - **Bale, J.S., van Lenteren, J.C. ET Bigler, F. (2008).** Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 761-776
  - **Bellahcene, M., Fortas, Z., Henni, D., Mattalah, A., Geiger, J.P., Nicole, M. 1997.** Importance and epidemiology of *Verticillium dahliae* (Kleb) on olive in Kabylie. In: *Proceeding of 10<sup>th</sup> Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, June 1-5, Montpellier.
  - **Becker, J.O. and Cook, R.J., 1988.** Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathol.* 78: 778-782
  - **Becker J.O. Cook, R.J. 1988** : Role of siderophores on suppression of *Pythium* species production of increased-growth response of wheat by *Fluorescens Pseudomonas* *Phytopathology*; 78: 778-782.
  - **Bellahcene, M., Fortas, Z., Kaddous, M., Matallah, A., Nicole, M., Geiger, J.P. 1988.** La verticilliose de l'olivier dans les oliveraies de la région ouest d'Algérie: estimation du taux

## Références bibliographiques

---

- **Bellahcene, M., Fortas, Z., Geiger, J.P., Matlah, A., Henni, D. 2000.** *Vrticillium* wilt in olive in Algeria: Geographical distribution and extent of the disease. *Olivae*, 82, pp.41-43.
- **Bell Perkins L.J., Lynch J.M., 2002.** Encyclopedia of environmental microbiology, A Wiley-Interscience Publication, Canada. Rhizosphere microbiology In. G. Bitton (ed), 2713-2728.
- **Benchabane M., 2005.** Caractérisation des effets d'antagoniste microbien et la promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas spp. fluoresce* Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger. 235pp.
- **Bloemberg G. AND Lugtenberg B., 2001.** molecular basis of plant growth Promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Cur. Opin. Plant Biol.* 4: 343-350
- **Blumer, C. And Haas, D., 2000.** Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch. Microbiol.* 173: 170-177.
- **Bitter W., Marug L.A., Tommsen J., Weisbeek P.J., 1991.** The ferric – pseudobactine respect Pup a of *Pseudomonas putida* WCS358 :homology to Ton Bdependent *Escherichia coli* receptors and specificity of the protein. *Mol. Microbiol.* 5:647-655.
- **Bitter, W., Marugg, J.D., de Weger, L.A., Tommassen, J. and Weisbeek, M. P. J., 1991.** The ferric-pseudobactin receptor PUPA of *Pseudomonas putida* WCS358: homology to TonB-dependent *Escherichia coli* receptors and Specificity of the protein. *Mol. Microbiol.* 5: 647-655.
- **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, PH., Larpent, L.P., Raymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Ed Masson, Paris, 347p.
- **Boullinger, M. 1970.** Cultures maraichères-phytopathologie, phytopharmacie, projet Algérie. Formation Professionnelle Agricole, 70p.
- **Bouizgarne B., Brault M., Pennarun M., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami I ET Bouteau F., 2004.** Electrophysiological response to fusaric acid of root hairs from seedlings of date palm susceptible and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *J. Phytopathol.* 152: 321-324.
- **Brac de la Perriere, R.A., Benkhalifa, A., 1991.** Progression de la fusariose du palmier dattier en Algérie. *Sécheresse*, 2 : 119-128.

## Références bibliographiques

---

- **Brimecombe, M. J., De Liej, F. A, Lyhch, J. M. 2001.** The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. In: Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P. Ed. The rhizosphere. Marcel Dekker. New York. pp 95-140.
- **Budzikiewicz, H., 1993.**Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. FEMS Microbiol. Rev. 104: 209–228.
- **Budzikiewicz, H., 1997.** Siderophores of fluorescent pseudomonads. Z. Naturforsch 52 (C ): 713–720.
- **Bulit, J. ; Bouhot, D. ; Louvet, J. ; Toutain, G. (1967)** Recherches sur les fusarioses. I.Travaux sur le bayouth fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord. Annales des Epiphyties 18, 213-239.
- **Chaker H.( 2012 ).**Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* a son hôte : implication des métabolites du tryptophane
- **Compant, S., Reither, B., Aessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., Ait barka, E 2005.** Endophytic Colonization of *Vitis vinifera*L. By Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain. Ps .JN;Appel. Environ. Microbiol N071: 1685-1693.
- **Civantos, L.1999.** Contrôle des parasites et des maladies de l'olivier. Ed.Conseil Oléicole International, Madrid, Espagne, 207p.
- **Cook, R.J.,Rovira,A.D.1976.**The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils. Soil Biology and Biochemistry,8,pp.269-274
- **Crosa J.H.,et Walsh C.T.,2010.**Geneticqs and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria.Microbiol.mol.bio.Rev.66pp 223-249.
- **De Coste N. J., Gadkar V. J. and Filion M., 2010.** *Verticillium dahlia* alters *Pseudomonas* spp. Population and HCN gene expression in the rhizosphere of strawberry. Canadian Journal of Microbiology, 56(11), pp 906-915
- **Defago G., 1993.** 2, 4-Diacetylphloroglucinol, a promising compound in biocontrol. Plant Pathol. 42: 311–312.
- **De Weert, S., H. Vermeiren, I.H.M. Mulders, I. Kuiper, N. Hendrickx, G.V. Bloemberg, J. Vanderleyden, R. De Mot, et B.J.J. Lugtenberg. 2002.** Flagella driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. Mol. Plant Microbe Interact. 15: 1173-1180.

## Références bibliographiques

---

- **De Weger ,L.A, Van Boxtel,R., Van der Burg,B.,Bruters,R.A .,Geels,F.P.,Schippers ,B.,Lugtenberg ,B.1986.**Siderophores and outer membrane proteins of antagonistic,plant growth stimulating,root collonizing *Pseudomonas* spp.*J.Bacterail.*165 :585-594.
- **Diby P.,Saju K.A.,Jisha J.P.,SarmaY.R.,Kumar A.,Anandaraj M.,2005a.**Mycolytic Enzymes Produced by *Trichoderma* and *Pseumonas fluorescens* spp.Against *Phytophthora capsici*,foot ort pathogen of the black peooer (*Piper nigrum*L) .*Annals of Microbiology*,55,(2).pp129-133.
- **Digat, B. 1983.** Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes. 24eme colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux. Ed. INRA publ. Coll. INRA. 18 : 239-25
- **Digat,B.and Gardan L ;1987.**Caractérisation,variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas Putida*.*Bull OEPP.*17 :559-568-468.
- **Digat, B. 1994.** Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes. Le cas des *Pseudomonas*. *C. R. Acad . Agric. Fr*, 80, N°2 pp 125.
- **Dimkpa, C., I. Tanjaweinad, et F. Asch. 2009.** Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* doi:10.1111/j.1365 -3040.2009.02028.x. p 1-13.
- **Djebri, M., 1988.** Les maladies du palmier dattier, Projet régional contre le bayoud .FAO
- **Dorjey, S., D. Dolkar. (2017).** «Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas*: A Review. » *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6(7): 1335-1344.Gosal, S., J. Kaur, et al. (2017). *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: A Probiotic For Plant Health and Productivity.* *Probiotics and Plant Health*, Springer : 589-600.
- **Dwivedi, D. And B. Johri (2003).** "Antifungals from fluorescent pseudomonads: biosynthesis and regulation." *Current science* : 1693-1703.
- **El Hassni M,El Hadrami A,Daayf F,Cherif M,Ait Barka, El Hadrami I, 2007.****Biological control of bayoud disease in date palm:selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reaction.***Environmental and Experimental Botany.*59:225-230.

## Références bibliographiques

---

- **Ellis, R.J., Timms-Wilson, T.M., Bailey., M.J., 2000.** Identification of conserved traits in fluorescent *pseudomonads* with antifungal activity. Environmental microbiology. Volume 2, Issue 3 : 274–284.
- **Erskin, W., Bayaa, B. 1996.** Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. Phytophathol. Mediterr., 35, pp. 24-32.nogre
- **Erwin, D.C.,Buchenauer, H.1971.**The challenge ad possibilities for control of *Verticillium* wilt byapplication of systemic chemical.In: Proceeding of I<sup>ST</sup> Int.*Verticillium Sypm.*, September20-22,Wde Colleg,England,pp.12-21.
- **Etebariam, II.R. Sholberg, P., Eastwell, C.,Sayler, R. J. 2005.**Biological control of appel blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. Ca. J. Microbiol.51:591-598.
- **Euzeby,J.P.(2005).**Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire
- **Eyquem A. Alouf J., Mantgnier L., 2000.** Traités de microbiologie clinique :Deuxième mise à jour compléments. Piccin Nova Libraria , Italie,238 p.
- **Fravel, D. Olivain, C. Alabouvette, C. 2003.** *Fusarium oxysporum* its biocontrol. New Philologist, (157): 493-502.
- **Gardan N, Luisetti G ; 1981.** Ethode d'isolement et identification des bactéries phythopathogens.Station de Pathologie INRA.Angers, 32.
- **Gosal, S., J. Kaur. (2017).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: A Probiotic for Plant Health and Productivity. Probiotics and Plant Health, Springer: 589-600
- **.Goudou- Sinha, C.1988.** Les relations bote –parasite dans le cas du couple Tomate – *Verticilium dahliae* .Etudes histologiques .Mémoire de D.E.A .USTL,Montpellier.
- **Gray, E., Smith, D.L, 2005.**Intracellular and extracellular PGPR ; commonalities and disinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil boils. Biochem 37: 395-412.
- **Gupta G, Singh Parihar S, Kumar Ahirwar N, Kumar Snehi Set Singh V. (2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. J Microb BiochemTechnol. Volume 7(2), 96-102.
- **Gupta, G., S. S. Parihar, et al. (2015).** "Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture." J Microb Biochem Technol 7(2): 096-102
- **Haas D., Keel C et Laville J ., 1991.**Secondry metabolites of *Pseudomonas* Fluorescents strain CHA0 involved in the suppression of root diseases.In :Hennecke, H.,

## Références bibliographiques

---

- Verma, D.P.S. Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions. Ed. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, pp.450-456.
- **Haas D., Keel C., 2003.** Regulation of antibiotic production in rootcolonizing *Pseudomonas* spp. And relevance for biological control of plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41:117–153.
  - **Haas D., Défago G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *Pseudomonas*. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.
  - **Hiemstra, J.A., Harris, D. C. 1998.** A compendium of *Verticillium* wilts in trees species. Ed.CPRO-DLO/HRI.,Ponsen and Looijen, Wageningen/west-Malling. The Netherlands, 80p.
  - **Hilddbrand D.C., Schorth M.N et Sand D.C., 1988.** *Pseudomonas* spp 60-77. In Shaaad, N. W.E.D Laboratory guide for identification of plant pathogen bacteria 2<sup>nd</sup>
  - **Howell CR, Stipanovic RD (1979)** Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced
  - **Howell CR, Stipanovic RD 1980** Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology*70, 712-715.
  - **Jacques P.,Delfosse P.,Ongena M.,Lepoivre P.,Cornélis P.,Koedam N., Neirinckx L.,Thonart P .,1993.** Les mécanismes biochimiques développer par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmis par le sol, *Cahier Agriculture*,2,pp 301-307.
  - **Jacques P.,Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Jetiyanon, J., Kloepper,J. W. 2002.**Mixture of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Bilo. Control* 24:285-291.
  - **Kang, Y., M. Shen, et al. (2013).** « A possible mechanism of action of plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus pumilus* WP8 via regulation of soil bacterial community structure. » *The Journal of general and applied microbiology* 59(4): 267-277.
  - **Katan T., Shlevin, E., Katan J. 1997.** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissimination of inoculums. *Phtopathology*: 712-719.
  - **Keneni, A., F. Assefa, et P.C. Prabu. 2010.** Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilization insoluble phosphates *J. Agr. Sci. Tech.* 12: 79-89.

## Références bibliographiques

---

- **Khakipour. N.Khavazi.k.,Mojallali H.,Pazira and E.,Asadirahmani H.,2008.**Production of auxin hormone by fluorescent *pseudomonas* .American-Eurasian J.Agric.&Environ.sci.4.(6).pp 687-692.
- **Killian, C., Maire, R., 1930.** Le Bayoud, maladie du dattier. Bull. Soc. Hist. Nat. Agr., 21: 89-101.
- **Kim, K.Y. And McDonald, G.A., 1998.** Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soilmicrobial activity. Fert. Soils 26: 79-87 Kim, M.S., Kim, Y.C. and Cho, B.
- **King E.d Ward. M.K ET Rnaey D.E; 1954.** Two simple medeia for the demonstration of pycuanin ad Fluorescein. J.Lab .Clin. Led .44:301-307
- **Kloepper, J.W., Leong, J., Tetntze, M., Schroth, M.N. 1980.** Pseudomonas siderophore: a mechanism explaining disease-suppressive soils. Curr. Microbiol., 4 : 327-330.
- **Koulla L., Saaidi M. 1985.** Etude du rôle des inflorescences et de fruits du palmierdattier dans la dissémination du Bayoud. Séminaire National sur l'Agronomie Saharienne,pp. 67-70. INRA, Marrakech, Morocco .*Lawsonia inermis* et de la luzerne *Medicagosativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*agent causal du Bayoud. Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, **58** : 1-11.
- **.Kraft J.M., Haware M.P., JJinenez-Diaz R.M., Bayaab et Harrbil., 1994.** Screening techniques and sources of resistance to root rots and wilts in coolseason food legumes. In: Muelbauer,F.G.,Kaiser, W.J. Expanding the production and useof cool season food legumes. Ed. Kluwer academic pulishers, Dordrecht. The Netherlands, PP. 268-289
- **Lamizadeh, E., N. Enayatizamir, et. (2016).** «Isolation and identification of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from the rhizosphere of sugarcane in saline and non-saline soil." Int J Curr Microbiol App Sci 5(10): 1072-1083
- **Larpentj.P., 1975.** Mémento technique de microbiologie.Ed : Perfectionnemnt industriel des cadres.14p
- **Latour, X., Delorme, S., Mirleau, P. And Lemanceau, P., 2009.** Identification of traits implicated in the rhizosphere competence of fluorescent pseudomonads: description of a strategy based on population and model strain studies. In: Sustainable

## Références bibliographiques

---

- agriculture. Part. 3, Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, D., Souchère, V. and Alberola, C. (Eds). Springer, Netherlands : 285-296.
- **Lemanceau, P.; 1988.** Recherches sur la résistance des sols aux maladies . XV. Comparaison des populations de *Pseudomonas* fluorescents d'un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires . *Agronomie* 8 :243-249
  - **Lemanceau, P., 1992.** Beneficial effects of rhizobacteria on plants: exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12: 413-437.82
  - **Lemanceau P., Alabouvette C., 1993.** Suppression of fusarium wilts by Fluorescent *Pseudomonas*: mechanism and application. *Biocontrol Sciences and Technology* .3:219-234.
  - **Lemanceau P., Offrep., Mougè., Dessaux Y., Moenne –Loccozy et Bertag., 2009.** Microbial ecology of the rhizosphere .In :microbiological methodes for assessing ,Massachusetts, Cambridge ,MA, Etats –Unis ,Pp.228-230.
  - **Lemanceau, P., Expert, D., Gaymard, F., Bakker, P.A.H.M. et Briat, J.F. 2009.** Role of iron in plant–microbe interactions. *Advances in Botanical Research*, 51: 491-549.
  - **Leong, J. 1986.** Siderophore; Their biochemistry and possible role in the biocontrôle of plant pathogens .*Annu Rev Phytopathol* 24;187-208
  - **Lepoivre, P. (2003).** Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck Université, Bruxelles, Belgium, p. 432
  - **Lepoivre P., 2003.** Phytopathologie : De Boeck. Ed. 482p.
  - **Liu B., Qiao H., Huang L., Buchenauer H., Han Q., Kanget ., Gong, Y. 2009.** Biological control of take-all in wheat by endophytic *Bacillus subtilis* E1R-j and potential mode of action. *Biological Control*, 49(3), 277-285
  - **Lockwood JL (1981)** Exploitation competition. In : The fungal community. Its organisation and role in the ecosystem (DT Wicklow, GC Carrol, eds) M Dekker, Inc
  - **Loper J.E., 1988.** Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathol.* 78:166–172.
  - **Loper, J. E., Buyer, J. S. 1991.** Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant-Microbe Interact* 4:5-13.
  - **Maksimov, IV. Abizgil'dina, R.R and Pusenkova, L.I., 2011.** Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review). *Appl Biochem Microbiol* 47 : 333-345

## Références bibliographiques

---

- **Marchal N., Bourdon J.M., 1982.** Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries. Dion éditeurs, Paris 196.
- **Massiaen C.M et Cassini R, 1981.** Taxonomy of *Fusarium*. In « *Fusarium*, Disease, biology and Taxonomy » pp 427-445. Pennsylvania State University Park.
- **Matiru V.N., , F.D.2004.** Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in land races of African cereal crops. *African J. Biotechnol.* N°3 :1-7.
- **Meliani, A. (2012).** Contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *Pseudomonas fluorescens* Doctorat université d'Oran.
- **Mercado-Blanco J., Rodriguez-Jurado D., Hervas A Et Jimenez R.M 2004.** Suppression of Verticillium wilts in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biol Control* 30 :474–486.
- **Mercado-Blanco, J., et P.A.H.M. Bakker. 2007.** Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie van Leeuwenhoek.* 92: 367-389
- **Meyer, J.M. and Abdallah, M.A., 1978.** The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107:319-328.
- **Meyer, J.M., Geoffroy, V.A., Baida, N., Gardan, L., Izard, D., Lemanceau, P., Achouak, W. and Palleroni, N., 2002.** Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and non-fluorescent *Pseudomonas*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2745–2753.
- **Meyer, J.M., Gruffaz, C., Tulkki, T. And Izard, D., 2007.** Taxonomic heterogeneity, as shown by siderotyping, of strains primarily identified as *Pseudomonas putida*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2543–2556
- **Misko A.L. and Germida J. J., 2002.** Taxonomic and functional diversity of *Pseudomonas* isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42 :399-407

## Références bibliographiques

---

- **Moore E.R.B., B.J.Tindall V.A.P.Martins Dos Santos D.H. Pieper ,J.L.Romos et N.J.Palleroni.,2006.**Nonmedical :Pseudomonas,p.646 -703.In M.Dworkin, S.Falkow,E.Rosenberg,K.H.Schleifer,et E .Stackebandt (ed),Prokaryotes,Springer,USA.

**Mueller,W.C., Beckman, C.H.1976.** Ultrastructure and development of phenolic storing cells in cotton roots. *Can.J. Bot.*,54, pp.2074-2082.

- **Messiaen C.M., Blancard D., ROUXEL F. Et lfon R., 1993.** les maladies des plantes maraichères.3ème Ed. INRA
- **Nautiyal,C.S. ,2001.**Biocontrol of plant diseases for agricultural sustainability .In : Upadhyay,R.K. ,Mukerji,K.G.,Chamola,B.P.Biocontrol Potential and its Exploitation in Sustainable Agriculture ,vol.I :Crop Diseases, Weeds ,and Nematodes .Ed .Kluwer Academie,New York ,pp.9-23.

O

- **Ongena M., Daayf F., Jacques P., Thonart P., Benhamou N., Paulitz C et Vbelanger., R. R, 200.0.** Systemic induction of phytoalexins incucumber in response to treatments with fluorescent Pseudomonads. *Plant Pathol.*49(4):523-530.
- **Ongena, M., Jacques, P., Delfosse, P. And Thonart, P. 2002.** Unusual traits of the pyoverdinmediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals.*15(1) :1-13.
- **Ongena M., Thonart P., 2006.** Resistance Induced in Plants by Non-pathogenic Microorganisms: Elicitation and Defense Responses. In *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: advances and topical issues*, edited by A. Jaime and T. d. Silva. Japan: GlobalScience Books. 49(5) :523-530.
- **O'sullivan D.J.,O'gara F., 1992.**Traits of fluorescents Pseudomonas spp.involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Society.* 85:1-20
- **O'Sullivan, D.J., et F. O'Gara. 1992.**Traits of fluorescent Pseudomonas spp. Involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.* 56: 662-676.
- **Palleroni.N.J.1984.**Pseudomonadaceae, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg, N.R. and Holt,J.G(editors) Baltimore :the Williams and Wilkins Co .,pg .141-199.

## Références bibliographiques

---

- **Palleroni, N.J., 2005.** Genus *Pseudomonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Part B : The Proteobacteria*. Springer, New York, pp. 323–379.
- **Patten CL, Glick BR (2002)**Rôle of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol* 68:3795–3801.
- **Penrose D.M .Moftatt 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 canola seedlings [http://www.refdoc.fr/?traduire=en&FormRechercher=submit&FormRechercher Txt Recherche name attr=liste Titre Serie %20%28Canadian %20journal%20of%20 microbiology %29.Canadian Journal of Microbiology,47\(1\).pp77-80](http://www.refdoc.fr/?traduire=en&FormRechercher=submit&FormRechercher Txt Recherche name attr=liste Titre Serie %20%28Canadian %20journal%20of%20 microbiology %29.Canadian Journal of Microbiology,47(1).pp77-80).
- **Persello-Cartieaux F., Nussaume L et Robaglia, C. 2003.** Tless from underground: Molecular plant-rhizobacteria interaction .*Plant Cell Environ* .26:189-199.
- **Piano S., Neyrotti V., Migheli Q. and Gullini M.L., 1997.** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis postharvest* rot of apple .*Postharvest Biol. Technol.* 11 (3):131-140.
- **Pieterse, C.M.J., Ton, J. And Van Loon, L.C., 2001.** Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden? *Ag. Biotech. Net.* 3: ABN 068.
- **Pujic, P., et P. Normand. 2009.** La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur.* 298: 26-29
- **Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Vander Sluis, I., Schippers, B., Bakker, P.A.H.M. 1995a** .Dose-response relationships in biological control of fusarium Wilt of radish by *Pseudomonas* spp.. *Phytopathology* 85:1075-1081
- **Rabhi, N. E. H. (2011).** Isolement de *Pseudomonas* spp. Fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. Magistère Université Ferhat Abbas Setif.
- **Rai, A. (2017).** Effet du stress salin sur les bactéries du sol : rôle d'extraits dérivés de *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* et *Opuntia ficus-indica* sur la relation bactérie-plante sous stress salin, Université Ferhat Abbas Sétif.
- **Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, et F.J. Gutiérrez Mañero. 2008 a.** Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), p. 41 - 52. In: I. Ahmad, J. Pichtel et S. Hayat (ed.), *Plant-bacteria interactions*. Wiley -Vch, Weinheim.

## Références bibliographiques

---

- **Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero. 2008 b.** Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology*. 98: 451-457.
- **Ran, L. X., Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. 2005.** Induction of systemic resistance against bacterial wilt in *Eucalyptus urophila* by *fluorescent Pseudomonas* spp. *Eur. J. Pathol.* 113: 59-70
- **Reddy M.S and Patck Z, A. 1990.** Effect of Fluorescen *Pseudomonas* on growth of tobacco seedlings and suppression of Black root caused by *Theilacriopsis basicola*. In plant growth-promtioing rhizobacteria. Prospects .C. KEFL. B. Koller and G. Defago,(Eds),IOB/WPRS Bulletin XIV. 18 :23-33
- **Reddy, P. P. (2016).** Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop Protection, Springe
- **Reed, M. L. E., et B.R. Glick. 2005.** Growth of canola (*Brassica napus*) in the presence of plant growth-promoting bacteria and either copper or polycyclic aromatic hydrocarbons. *Can. J. Microbiol.* 51: 1061-1069
- **Remette A. Frapolli M., Défago G., Moenne-Loccoz Y., 2003.** Phylogeny of HCN synthase-encoding HCN BC genes in biocontrol *fluorescent Pseudomonas* and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact*, 16(6), pp. 525-535.
- **Rovira, A. and D. Sands (1971).**"Fluorescent *pseudomonads*—a residual component in the soil microflora " *Journal of Applied Microbiology* 34(1): 253-259.
- **Reyes M.E.Q.,Rohrbach K.G.and Paull R.E .,2004.**Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit .*Postharvest Biol.Technol.*33(2) :193-203.
- **Roussel-Delif L., Tarnawski S., Hamelin J., Phillippot L., Aragnom et Fromin N., 2005.** Frequency and diversity of nitrate reductase genes among nitrate dissimilating *Pseudomonas* in the rhizosphere of perennial grasses grown in field conditions. *Microb. Ecol.* 49: 63-72.
- **Remette A. Frapolli M., Défago G., Moenne-Loccoz Y., 2003.** Phylogeny of HCN synthase-encoding HCN BC genes in biocontrol *fluorescent Pseudomonas* and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact*, 16(6), pp. 525-535.

## Références bibliographiques

---

- **Richardson, A.E., 2001.** Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants *Aus. J. Plant Physiol.* 28(9):897–906.
- **Rifat H., Satdar A., Ummay A., Rabia K., Iftikhar A., 2010.** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion. *Ann Microbiol.* 20p. DOI 10.1007/.
- **Ruggieri, G. 1946.** Una nuova malattia dell'olivo. *L'Italia Agricola*, 83, pp.369-372.
- **Salisbury, F.B., 1994.** The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions*. Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA. pp. 39-81
- **Schippers, B., Bakker, A.W., P.A.H.M., Van Peer, R. 1990.** Beneficial and deleterious effects of HCN –producing *Pseudomonads* on rhizosphere interactions. In: *The rhizosphere and plant growth*, Keister, D.L, and Cregan, P.B. (eds), Kluwer, Dordrecht, pp.211-219
- **Sharma A., Pathka A., Sahgal M., Meyer J-M., Wary Vet Johri B .N. 2007.** Molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria that enhance peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activity in chile (*Capsicum annum* L) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) .*Arch. Microbiol.* N° 188:483-494
- **Semal, J. 1993.** Traiter de phytopathologie. *Presse Agronomie de Gembloux*. 603p.
- **Siddiqui I.A., Haas D., and Heeb S., 2005.** Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHAO, a biocontrol factor with Activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied And Environmental Microbiology*, 71. (9).pp.5646-5649.
- **Sivasakthi S., Ushering G. And Saranraj P. (2014).** Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research* 25: 1265-1277
- **Snissi, A. Ezzouhri, B. Rossi, D. Lairini, K. 2006.** Contrôle biologique de la fusariose de la tomate causée par *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici*. *biochimie Substances Naturelles et Environnement*. 352-365.
- **Spaepen, S., J. Vanderleyden, et R. Remans. 2007.** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425-44
- **Sturz, A. and B. Christie (2003).** "Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria." *Soil and Tillage Research* 72(2): 107-123
- **Subramoniam, V. 1974.** Rapport sur la microflore d'Algérie. I.N.A, Alger, Algérie, 15p. sol. XIème Journées Nationales de Microbiologie, S.A.M, 30 Nov-1 Déc, Oran, Algérie
- **Suty L. (2010).** La lutte biologique : Vers de nouveaux équilibres écologiques Sciences en partage. Editions Quae, Paris, 328 p

## Références bibliographiques

---

- **Taqarort N., Echairi A., Chaussod R., Nouaim R., Boubaker H., Ait Ben Aoumar A et Boudyach E. H., 2008.** Screening and identification of epiphytic yeasts with potential for biological control of green; old of citrus fruits. *World J.Microbiol. Biotechnol.***24**:3031-3038
- **Tawil, M.Z.1979.**Mode d'action et efficacité des fongicides benzimidazoles. Thèse de Doctorat.Université Aix-Marseille-I, France, 125p.
- **Tawil, M.Z., Halak, H.A.,Abdin,M.M. 1991.**Introduction à la lutte contre *Verticillium dahliae* de l'olivier.Olivae,39,pp.36-40
- **Thakore,Y. (2006).**the biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology* 2:194-208.
- **Thomashow L.S. and Weller D.M. (1988).**Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *triticiti* .*J Bacteriol* 170: 3499-3508.
- **Thomashow ,L.S.,Weller ,D.M 1996.**Current concept in the use of introduced bacteria :mechanisms and antifungal metabolites.In :plant Microbe interactions.G.Stacey and N.T.Keen,eds,Chapman and Hall,New York.
- **Thonart P., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les *Psuedomonas fluorescens* dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier Agriculture*, 2, pp 301-307.
- **Tripathi, M., Johri, B. N. 2002.** *In vitro* antagonistic potential of fluorescent **Pseudomonas** and control of sheath blight of maize caused by *Rhizoctonia solani*. *Ind. J. Microbiol.*, 42, pp. 207-214
- **Trivedi P., Pandey Y A., 2008.**Recovery of plant growth-promoting from sodium alginate beads after 3 years following storage at 4°C,*J Biothechnol*, N°35,205-209
- **Van Loon, L. C. and B. R. Glick (2004).** Increased plant fitness by rhizobacteria. *Molecular ecotoxicology of plants*, Springer : 177-205.
- **Van Loon L.C.2007.**Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-254.

## Références bibliographiques

---

- **Voissard,C.,Keel,Haas ,D.,Défago,G.1989.**cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions .EMBO.J.,8,pp.
- **Weller D. M., 1988.** Biological control of soil borne pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann Rev Phytopathol.* 26:379–407.
- **Whipps J.M., Lumsden R.D., 2001.** Commercial use of fungi as plant disease .biological control agents:status and prospects. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), *Fungi as Biocontrol agents. Progress, Problems and Potential.* CABI Publishing, Wallingford, pp. 9-22.
- **Weller, D. M. (2007).** «*Pseudomonas biocontrol* agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years." *Phytopathology* 97(2): 250-256.
- **Wang C.J. 2012.**Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth promoting rhizobacterium strains. *PLoS One* 7(12).
- **Waller J.C., 1971.** *Fusarium wilt* of tomato. Monogr. 6. American Phytopathological Society,Paul,MN.
- **Wang, S. L., Hsiao, W. J.,Chang, W . T. 2002.**Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Manascus purpureus*CCR31499 in a shrimp and crab shell powder medium *J. Agric . Food. Chem.*, 50, pp.2249-
- **Zahir, Z. A, M. Arshad, et W.T. Frankenberger, Jr. 2004.** Plant growth promotingrhizobacteria: application and perspectives in agriculture. *Adv. Agro.* 81: 97-198
- (<http://www.bacterio.cict.fr/p/Pseudomonas.html>).
- ([ecologiemi.crobi.enscm.fr](http://ecologiemi.crobi.enscm.fr)).
- <http://data.gbif.org/species/13238840/>
- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Sid%C3%A9rophore>

# Annexe1

## Milieux de culture

### 1. Milieu de King « King B » (King et al., 1954)

- Peptone .....20g ;
- Glycérol ..... 15ml ;
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....1.5ml ;
- Mg SO<sub>4</sub> .....1.5g ;
- Agar agar .....15g ;
- Eau distillée .....1000ml.

Ajuster à un Ph=7.2. Autoclavage 120°C pendant 20mn

### 2. Potatos Dextrose Agar PDA (Jonsthon et Booth, 1954)

- Pomme de terre ..... 200g ;
- Dextrose .....20g ;
- Agar agar.....20g ;
- Eau distillée .....1000 ml.

Ajuster à un Ph=6.8. Autoclavage 120°C pendant 20mn

### 4. Milieu Citrate de Simmons ((Garden et Luisetti, 1981)

- Sulfate de magnésium (MgSo<sub>4</sub>) ..... 0.2g ;
- Ammonium dihydrogenophosphate .....1g ;
- Phosphate dipotassique .....1g ;
- Citrate de Sodium .....2g ;
- Chlorure de Sodium (NaCl) .....5g ;
- Bleu de bromothymol ..... 0.08 g ;
- Agar .....20g ;
- Eau distillée q.s.q .....1000ml.

Ajuster à un ph =6.6±0.1

### 7. Gélose nutritive GN (Garden et Luisetti, 1981)

- Extrait de levure 2 g
- Peptone 5g
- Extrait de viande.....1g ;
- NaCl.....5g ;
- Glucose .....5g ;

- Agar agar .....20g ;
- Eau distillée q.s.q ..... 1000ml.

Ajuster à un pH=6.8. Autoclavage 120°C pendant 20 mn.

### **5. Milieu TSI (Garden et Luisetti, 1981)**

- Peptone .....20g ;
- Extrait de viande.....3g ;
- Extrait de levure .....3 g ;
- Chlorure de Sodium.....5g ;
- Citrate ferrique .....0.3 g ;
- Thiosulfate de Sodium .....0.3g ;
- Lactose.....10g ;
- Saccharose.....10g ;
- Glucose .....1g ;
- Rouge de Phénol ..... 0.5g ;
- Agar agar .....2 g.

Ajuster à un pH =7.4

### **6. Bouillon nitraté (BN)(Garden et Luisetti,1981)**

- Peptone.....10 g ;
- Extrait de viande .....5 g ;
- Chlorure de sodium ..... 5 g.

Ajuster à un pH=7.2

### **7. Milieu Mannitol de mobilité (Garden et Luisetti, 1981)**

- Peptone.....20g ;
- Nitrate de Potassium .....1 g ;
- Mannitol .....2g ;
- Rouge de Phénol .....40 mg ;
- Gélose .....4g ;
- Eau distillée q.s.q ..... 1000 ml.

Ajuster à un pH=8.1

### **8. Milieu Mevag (Marchal et Bourdon, 1982)**

- Tryptone .....3g ;
- Dipotassiumphosphate .....0.3g ;

- Potassium chlori ..... 5 g ;
- Eau distillée q.s.q ..... 1000 ml.

Ajuster à un Ph =  $7.8 \pm 0.2$

## Résumé

Les champignons pathogènes causent de nombreuses maladies des plantes, dont la gravité peut être atténuée par les bactéries non –pathogènes associées. La lutte biologique est considérée comme une alternative potentielle aux méfaits des produits chimiques. Parmi les rhizobactéries non symbiotiques, les *Pseudomonas* spp fluorescents font l'objet d'une attention particulière. Deux types de mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques, l'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante. Ces effets bénéfiques sont associés à la production de métabolites secondaires (antibiotiques, sidérophores, phytohormones). Ainsi, la compétition et l'antibiose exercées par les *Pseudomonas* spp réduisent la densité et l'activité néfaste de microorganismes pathogènes. L'objectif de la présente étude est d'évaluer les effets antagonistes de deux souches bactériennes B1 et B2 de *Pseudomonas fluorescens* in vitro vis-à-vis de des isolats fongiques *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Fusarium oxysporum albedinis* et *Verticillium dahliae*.

## Mots –clés :

*Pseudomonas fluorescens*/ lutte biologique/Sidérophores/Phytohormones./antagoniste/*Fusarium oxysporum*/ *Verticillium dahliae*.

## Abstrat

The fungi cause many diseases of plants, whose seriousness can be attenuated by the non-pathogenic associated bacteria. Biological control is considered as a potential alternative to mischief Chemicals. Beneficial effects of rhizobacteria on plants: example of fluorescent *Pseudomonas* spp. Among the non-symbiotic rhizobacteria, two main mechanisms are responsible for these beneficial effects. One is due to the modification of the microbial balance at the rhizosphere level, the other is due to the modification of the metabolism and the physiology of the inoculated plant. These beneficial effects are ascribed to the production of secondary metabolites (antibiotics, siderophores, phytohormones). So; competition and antibiosis performed by fluorescent *Pseudomonas* spp reduce the density and the deleterious activity of pathogenic microorganisms. The objective of this study is to evaluate the antagonistic effects of both bacterial strains B1 and B2 *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis fungal isolates next fungal isolates *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Fusarium oxysporum albedinis* and *Verticillium dahliae*.

## Keywords:

Fluorescent *Pseudomonas*/ biological control / siderophores/ phytohormones/ antagoniste/*Fusarium oxysporum*/ *Verticillium dahliae*.