

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Mémoire de fin d'étude



En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences agronomiques.
Spécialité : Production végétale
Spécialité : Production végétale

Thème

Mise en évidence de l'implication de deux souches de *Pseudomonas spp. Fluorescents* dans la tolérance de la tomate (*Solanum Lycopersicum*) au stress salin et leur effet de biocontrôle vis-à-vis de certains pathogènes fongiques

Présenté par :

M^{elle} Medjad Melissa

M^{elle} Mehri Nadia

Déposé le : 21/10/2021 devant le jury composé de :

L'encadreur : M^{me} Dahoumane-Larbaoui A. M.A.A

Le président : M^r Ait Said S. M.C.B

L'examinatrice : M^{me} Kouraba-Cherifi F. M.A.B

2020/2021

Remerciements

On tient d'abord à remercier et en premier lieu Dieu, le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté le courage pour mener à bonne fin ce travail.

En préambule à ce mémoire, nous voudrions exprimer nos sincères remerciements et nos gratitudees à toute personne qui nous ont apporté l'aide et l'assistance nécessaire à l'élaboration de ce travail et qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Qu'il nous soit permis d'exprimer nos profondes reconnaissances et nos remerciements les plus sincères à M^{me} DAHOUMANE-Larbaoui Akila, notre promotrice pour la confiance qu'elle nous a accordée en nous proposant ce thème de recherche. Pour nous avoir Fait Profiter De Ses Connaissances, Pour Ses Encouragements, On la remercie également de nous avoir enseigné dans la bonne humeur, la pratique des sciences et la rigueur au travail.

Nous tenons à remercier les membres du jury qui ont bien voulu accepter de valoriser ce travail. Le président du jury Ait Saïd, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons à remercier M^{me} Kouraba, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être l'examinatrice de notre travail.



Dedicace



Je dédie ce mémoire aux êtres les plus chers au monde A mes chers parents:

*A mon père « **Mohamed ou chabane** » pour tout ce qu'il m'a enseigné, pour la valeur du travail bien fait que j'ai tenté de concrétiser dans ce mémoire.*

*A ma chère maman « **Zahia** » pour m'avoir encouragé et écouté que dieu te garde pour nous.*

*A mes sœurs «**Karima, Lydia, Lila, Hanane, et surtout Kamilia** qui m'a toujours épaulé durant mes études», et à mon unique cher petit frère «**Rezki**».*

*A mes beaux-frères «**Kalifa, Malek, et particulièrement Idris** qui m'est le plus proche».*

*A mes chères nièces «**Emilie, et Alicia**», mon neveu «**Meziane**». Et spéciale dédicace pour «**lemdani laifa**» quand attend avec impatience.*

*A tous mes amis et je voudrais mentionner les plus chers «**Nadia, Celia, Katia, Yahia, et Nabil** ma moitié».*

Melissa



Dedicace



*C'est grâce à Dieu « الله », le tout puissant qui m'a
donné le courage et la volonté pour achever ce modeste
travail que je dédie*

*A ma très chère mère « Ounissa » qui a consacré tout son
temps pour notre bien.*

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

*A mon cher frère Walid : je te souhaite un avenir plein de
joie, de bonheur et de réussite.*

*A mes grands-mères: Que dieu vous accorde longue vie et
bonne santé.*

A mes grands-pères : Paix à leurs âmes.

*A ma chère copine et binôme Melissa, à tous nos amies,
tout particulièrement à notre chère Karima qui nous a
accordé son soutien.*

*J'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes
proches : Tantes, Oncles, Cousins et Cousines qui m'ont
toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de
ce mémoire.*

Merci à tous et à toutes.

Nadia

Listes des abréviations

ACC : Aminocyclopropane-1-carboxylate

AIA : Acide indole acétique

°C : Degré Celsius

DAPG : 2,4-diacétyl phloroglucinol

FG : la faculté de germination

GA : Gibbérelline

HCN : Acide cyanhydrique

H₂S : Sulfures d'hydrogènes

H₂O₂ : Eau oxygéné

KB: King B **MAN**:Manitol **MEL**: Melibiose

Mb : Méga-bits

mm : Millimètre

mg : Milligramme

mM : Millimole

MS : Milieu Minéral Salt Medium

µm : Micromètre

µg : Microgramme

Nm: Nanometer

NaCl : Chlorure de sodium

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

PCA : Acide 2-hydroxyphénazines-1-carboxylique

PDC: Acide phénazine-1,6-diacarboxylique

PCN : Phénazine-1-carboxamide

PDA: Potato-Dextrose Agare

PVK : Pikovskaya

qx : Quintaux

RSI : (Induced systemic resistance) induction de la résistance systémique.

RM : Rouge de méthyle

rpm : Rotation par minute

TG : Taux de germination

TSI : Milieu triple sugariron

TMG : Taux moyen de la germination

UFC: Unité formant colonie.

VI : Indice de Vigueur

VP : Voges Proskauer

% : Pourcentage

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Nécrose apicale causée par la salinité sur le fruit de la tomate	08
02	Top cinq des pays producteurs de tomates fraîches en 2018 (FAOSTAT, 2020)	12
03	Maladies de la tomate	16
04	Ravageurs de la tomate	16
05	Photo de genre <i>Pseudomonas</i> (http://www.gettyimage.com)	19
06	Représentation schématique décrivant les interactions entre plantes et bactéries coopératives (PGPR) dans la rhizosphère	21
07	Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries. Les trois étapes principales sont : (A) : L'élicitation ; (B) : La transmission du signal ; (C) : L'expression du ou des mécanisme (s) de défense (Ongena&Thonart., 2006)	25
08	Principaux antibiotiques produits par les souches de <i>Pseudomonas</i> de biocontrôle (Dubuis et al., 2007)	27
09	Structure du HCN	28
10	Structure de 3 composés phénazines importants produits Par des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents, soit l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), l'acide phénazine-1,6-dicarboxylique(PDC) et la pyocyanine	29
11	Frottis bactérien (Originale, 2021)	33
12	Galerie biochimique classique (originale, 2021)	33
13	Méthode de pélliculage (originale2021)	39
14	Semence déshydratés et celle transférée dans l'eau distillée (originale2021)	39
15	Mise en germination des graines après bactérisation B1 et B2 (originale2021)	41
16	Isolats fongiques sur milieu PDA des agents <i>Cercospora</i> sp et <i>Colletotrichum</i> sp et <i>Fusarium pseudograminearum</i> (Originale, 2021).	43
17	Production de pigment fluorescent par la souche B1 et B2 sur le milieu King B (Original, 2021)	45
18	Technique KOH appliquée pour les deux souches B1 et B2 (Originale, 2021)	46
19	Résultat de galerie biochimique classique des deux souches bactériennes B1 et B2 (originale, 2021)	46
20	Résultats du test catalase des deux souches bactériennes (B1 et B2)	47
21	Solubilisation du phosphore sur le milieu PVK par la souche B1 et B2	51
22	Effets du stress hydrique sur la croissance bactérienne des souches B1 et B2	52
23	Nombre de colonies bactériennes obtenus en conditions d'hydratation (A) et de déshydratation (B) (originale2021)	53

24	Effet de la salinité sur le taux de germination des graines de la tomate bactérisées par les souches B1 et B2	56
25	Effet de la salinité sur la vitesse de germination de variété Heinz de tomate	57
26	Effet de la salinité sur la Longueur racinaire de la tomate	58
27	Effet de la salinité sur la hauteur de la plumule de la tomate	58
28	Germination de la tomate inoculée avec la B2 en condition de stress salin	59
29	Germination de la tomate inoculée avec la B1 en condition de stress salin	59
30	Effets de la salinité sur l'indice de vigueur de la tomate	60
31	Taux d'inhibition des souches B1 et B2 sur le milieu King B vis-à-vis des trois isolats fongiques	64
32	Inhibition de cercospora sp sur milieu King B par la souche B1 et B2 (originale 2021)	65
33	Inhibition de colletotrichum sp sur milieu King B: souche B1(A), souche B2(B) Originale (2021)	65
34	Inhibition du fusarium pseudograminearum sur milieu King B par la souche B1 et B2 (originale 2021)	66
35	Taux d'inhibition des souches B1 et B2 sur le milieu PDA vis-à-vis des trois isolats fongiques	67
36	Inhibition du cercospora sp sur milieu PDA par la souche B1 (originale 2021)	67
37	Inhibition du cercospora sp sur milieu PDA par la souche B2 (originale 2021)	68
38	Inhibition de colletotrichum sp sur milieu PDA par la souche B1 et B2 (originale 2021)	68
39	Inhibition de fusarium pseudograminearum sur milieu PDA par la souche B1 et B2 (originale 2021)	69

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Niveau de la salinité dans quelque périmètre de l'Ouest de l'Algérie	06
02	Evolution de la production de la tomate en Algérie pendant (2001-2011) (FAO, 2011)	13
03	Principales maladies de la tomate (Anonyme, 1999)	15
04	Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches bactériennes (B1 et B2)	48
05	Diamètres des zones de clarification (halo) formés par la solubilisation du phosphore sur le milieu PVK par les deux souches bactériennes	51



Sommaire



Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Salinité

1	Définition de la salinité.....	4
2	Origine de la salinité.....	4
2-1	Salinisation primaire	4
2-2	Salinisation secondaire.....	5
3	Salinité dans le monde.....	5
4	Salinité en Algérie	5
5	Salinité et plante.....	6
5-1	Effets de la salinité sur les plantes.....	6
5-1-1	Effets de la salinité sur la germination.....	6
5-1-2	Effets de la salinité sur la croissance et le développement.....	7
5-1-3	Effets de la salinité sur la photosynthèse	8
5-1-4	Effets de la salinité sur le développement des maladies des plantes.....	8
5-1-5	Effets de la salinité sur le rendement.....	9

Chapitre II: Généralités sur la tomate

1	Historique et origine.....	10
2	Classification de la tomate.....	10
3	Culture de la tomate.....	11
4	Importance économique de la tomate.....	12
4-1	Dans le monde	12
4-2	En Algérie.....	12

5	Principaux ravageurs et maladies de la tomate.....	14
---	--	----

Chapitre III : Généralités sur les Pseudomonas spp Fluorescents

1	Caractères généraux des Pseudomonas spp fluorescents.....	17
2	Effets bénéfiques des Pseudomonas spp.....	20
2-1	Stimulation de la croissance des plantes.....	21
2-2	Biocontrôle et induction de la résistance chez les plantes.....	24
2-2-1	Mécanismes de biocontrôle.....	25
2-2-1-1	Compétition.....	25
2-2-1-2	Antibiose.....	27
2-3	Effets de la salinité sur les Pseudomonas.....	30

Partie 2 : Etude Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1-	Caractérisation des souches bactériennes.....	31
1-1	Souches bactériennes (souche B1, souche B2).....	31
1-2	Caractérisation phénotypique des isolats bactériens.....	31
1-2-1	Caractérisation morphologique (caractère culturaux).....	31
1-2-2	Caractérisation Biochimique.....	33
2	Production de l'acide indole acétique (AIA).....	37
3	Mise en évidence de la solubilisation du phosphore.....	37
4	Résistance au stress hydrique.....	38
4-1	Matériels biologiques.....	38
4-2	Désinfection superficielle de la semence.....	38
4-3	Conduite de l'essai.....	38
5	Stimulation de la germination en conditions de salinité.....	40
5-1	Matériels biologiques.....	40
5-2	Désinfection superficielle des graines.....	40
5-3	Bactérisation des graines.....	40
5-4	Préparation des solutions salines.....	40
5-5	Mise en germination.....	41

5-5-1 Paramètres étudiés.....	41
6 Antagonisme microbien.....	43

Chapitre II : Résultats et discussions

1 Caractérisation des souches bactériennes.....	45
1-1 Caractères morphologiques et culturaux.....	45
1-2 Caractérisation biochimique.....	46
2 Production de l'acide indole acétique (AIA)	49
3 Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes.....	50
4 Résistance au stress hydrique	52
5 Résultats de l'effet de la salinité sur la germinative des graines de tomate bactérisées	55
6 Antagonisme microbien in-vitro.....	63
Conclusion.....	73

Référence

Annexe



Introduction

Introduction

Partout dans le monde, les systèmes agroalimentaires sont soumis à une pression considérable en raison de plusieurs facteurs de stress, tels que la salinité, la sécheresse, les ravageurs et maladies transfrontières, les catastrophes naturelles, l'appauvrissement de la biodiversité et la destruction des habitats ou encore les conflits. De toute évidence, l'un des plus grands défis du XXI^e siècle sera de répondre à l'accroissement des besoins alimentaires de la population mondiale, tout en atténuant les répercussions de l'agriculture sur l'environnement (FAO, 2021).

Les plantes constituent la majorité des ressources énergétique dont dépendent les hommes et les animaux. Malheureusement, lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées, des symptômes se développent, tout ou une partie de l'organisme peut mourir. Les agents responsables des maladies des plantes sont très similaires à ceux rencontrés chez l'homme et les animaux, ils peuvent être biologiques ou physiques (Beniziri et *al.*, 2011)

La salinité du sol est une contrainte abiotique majeure qui affecte négativement les aspects physiologique et biochimique de la plante, en entraînant une réduction de son rendement (Ruiz-lozano et *al.*, 2012 ; Almeida et *al.*, 2014) . En plus, elle induit un stress osmotique, une sécheresse physiologique et un déséquilibre ionique, désactivant ainsi les fonctions vitales cellulaires de la plante (Djerroudi et *al.*, 2011 ; Taffouo et *al.*, 2013 ; Gupta and Huang, 2014). Ainsi, les plantes déclenchent des mécanismes hormonaux, physiologique et biochimique soit en tolérant ou en résistant à cette contrainte (Almeida et *al.*, 2014 ; Eraslan et *al.*, 2015).

Malheureusement, la plupart des espèces cultivées ayant une valeur économique sont très sensibles aux conditions de salinité (Hopkins, 2003). En effet, la tomate est classée parmi les plantes modérément tolérantes vis-à-vis du stress salin (Abdesselam, 2012).

En Algérie, la culture de la tomate occupe une place prépondérante dans l'économie nationale, près de 22 323 ha sont consacrés annuellement à la tomate (maraichère et industrielle), donnant une production moyenne de 1309745 de Tonnes et des rendements moyens d'environ 5682 Kg/ha (FAO, 2018).

Plusieurs solutions sont préconisées afin de lutter contre la progression de salinité et aridité. La plupart concernent surtout des méthodes coûteuses et parfois difficiles à appliquer comme la lixiviation, le drainage, l'inondation et l'utilisation d'une eau d'irrigation de qualité. Dès lors, l'exploitation du potentiel microbiologique des sols, en particulier certaines souches bactériennes osmotolérantes promotrices de la croissance végétale Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), telles que : *Azospirillia*, *Bacillus*, *Rhizobia*, *Pseudomonas*..., considérée comme une technologie émergente et écologiquement très intéressante (Levigneron et *al.*, 1995 ; Le Rudulier et *al.*, 2002).

Parmi les bactéries d'intérêt agricole (PGPR), les *Pseudomonas spp. fluorescents* font l'objet d'une attention particulière. Leur utilisation dans l'agriculture en tant que biofertilisants ou biopesticides offre un bon rendement et pourrait permettre de diminuer les apports d'engrais ou de pesticides chimiques. Ainsi ces bactéries sont connues pour leur effet d'améliorer la santé et stimuler la croissance des plantes (Ali et *al.*, 2009 ; Bano, 2009, Rabhi 2011). Ces bactéries sont un bon outil de lutte biologique; car elles peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses grâce à leur activité antagoniste vis-à-vis des phytopathogènes par la production des métabolites secondaires à effet antimicrobien tels que, la lyse cellulaire, arrêt de la réplication de l'ADN, pouvoir oxydant, antibiotiques, et sidérophores...etc.) (RAI 2017).

L'adaptation de ces bactéries aux fortes concentrations en sel est due à leur faculté de synthèse ou de transport à partir du milieu externe des solutés compatibles ou d'osmoprotecteurs. Ceux-ci ont pour rôles d'osmorégulation et protection cellulaire contre divers types de stress (salinité, chaleur, froid...). La molécule osmoprotectrice majeure accumulée chez les bactéries étant la glycine bêtaïne. Elle est retrouvée abondamment chez les halophytes (Rhodes et Hanson, 1993).

Notre étude consiste à mettre en évidence les potentialités de deux souches bactériennes de *Pseudomonas spp. Fluorescents* (souche B1 et souche B2) dans la production de l'acide-indole-acétique et la solubilisation du phosphate tricalcique. Un essai d'évaluation des potentialités de biostimulation de la croissance végétale au stade germination a été effectué par la bactérisation des graines de tomate variété (Heinz) sous l'effet de différentes concentrations de chlorure de sodium. Comme nous avons testé l'aptitude des souches bactériennes B1 et B2 de genre *Pseudomonas spp* à réinitier une croissance normale dans les conditions optimale après avoir subis un stress hydrique. De plus un essai d'antagonisme

microbien in vitro a été réalisé pour mettre en évidence l'activité inhibitrice des souches bactériennes vis-à-vis de trois isolats fongiques: *Colletotrichum sp* agent de l'antracnose de l'haricot, *Cercospora sp* agent du cercosporiose de l'olivier et *Fusarium pseudograminearum* agent de la pourriture de la couronne de la racine du blé.



Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre I : Salinité

1- Définition de la salinité

Plusieurs auteurs ont défini la salinité des sols comme étant la présence de concentration excessive de sels solubles dans le sol, ou lorsque les concentrations en Sodium (Na^+), Calcium (Ca^{+2}), Magnésium (Mg^{+2}) sous formes de chlorures, carbonates, ou sulfates sont présentes en concentrations anormalement élevées (Asloun, 1990). La salinité est fréquente dans les écosystèmes arides et semi-arides et résulte de la forte évaporation d'eau à partir du sol et d'une irrégularité et une insuffisance de pluviométrie (Taji et *al*, 2002).

Les sols salins sont naturellement présents sous tous les climats et sur tous les continents. Ils sont là où l'évaporation excède les précipitations pluviales de façon permanente ou temporaire, ils sont étroitement liés à une source de salinité d'ordre géologique (évaporites), hydrogéologique (eaux souterraines) ou hydrologique (eaux marines) (Girard et *al.*, 2005). Les sols salés contiennent des sels plus solubles que le gypse, c'est-à-dire susceptible de passer dans la solution du sol en quantité assez importante pour gêner la croissance des plantes (Legros ,2007).

2- Origine de la salinité

2-1 Salinisation primaire

On parle d'une salinisation naturelle lorsqu'elle est le résultat de l'accumulation des sels sur une longue période de temps, dans le sol ou dans les eaux souterraines (Chamekh, 2010). Provenant de l'altération de la roche mère saline par les facteurs d'érosion, la dissolution par les eaux de ruissellement des roches sédimentaires qui sont riche en chlorures , sulfate et carbonate , ainsi que provoquée par l'eau de pluie souvent acide (H_2CO_3), mais aussi par des agents physiques (Hammou, 2010).

La salinisation primaire, d'origine géologique, marine ou lagunaire correspond à une salinisation liée au fonctionnement naturel des terrains, sous l'influence du climat, de l'altération des roches et de la dynamique des eaux

2-2 Salinisation secondaire

Résultat d'activités agricoles sur un sol déjà formé (Maniguet, 2003). Qui modifient l'équilibre du sol entre l'eau appliquée (irrigation ou de pluie) et de l'eau utilisée par les cultures (transpiration) (Noomene, 2011). Les causes principales de cette salinisation secondaire des sols sont :

- utilisation d'une eau d'irrigation de qualité médiocre et lessivage naturel insuffisant (Marc, 2001).
- Les produits chimiques provenant des émissions industrielles peuvent s'accumuler dans le sol et si la concentration est suffisamment élevée, cela peut entraîner une accumulation de sel dans la couche supérieure du sol (Szabolcs, 1992).

2- Salinité dans le monde

La salinité des sols est présente dans la plupart des grands systèmes d'irrigations à travers le monde sous l'effet conjugués d'une mauvaise qualité des eaux d'irrigation, de l'aridité et d'un drainage insuffisant du sol et des aquifères. Les superficies irriguées ont connu un accroissement très rapide depuis 1950, elles atteignent aujourd'hui près de 300 millions d'hectares (Marlet et *al*, 2005). Les évaluations indiquent que, selon les situations, de 15% à 50% des terres aménagées et environ 50% des systèmes d'irrigation seraient affectés par la salinité, plus particulièrement dans les zones arides (Marlet et *al*, 2005). Au Pakistan, plus de 25% des surfaces irriguées sont salinisées, en Tunisie 25%, aux USA 23% en Inde près de 17%, en Chine près de 15% et en Afrique du sud près de 9% (FAO, 2006).

4- Salinité en Algérie

En Algérie on évalue à (1.5 millions) d'hectares la superficie des sols salés (MADR, 2004) dont 49 milles se situent dans le sud du pays. Selon Douaoui et Hartani (2007) environ 20% des sols irrigués en Algérie sont concernés par le problème de salinité. Ce phénomène a été observé dans plusieurs régions de l'Algérie (Chlef, Relizane, Mohamadia, Sig, Ain temouchent, Haute plaines et Sétif) (annexe 1).

Dans l'Ouest algériens, plusieurs périmètres irrigués (tableau01) sont soumis à de graves problèmes de salinisation et de remontée de la nappe qui se traduisent par une dégradation des sols et une baisse de productivités.

Tableau01 : Niveau de la salinité dans quelque périmètre de l'Ouest de l'Algérie

Périmètre	Superficie irrigable (ha)	Superficie affectée /ha	Pourcentage
Haut cheliff	20000	6400	32
Moyen cheliff	21000	8700	41
Bas Chélif	22500	15000	67
Mina	8250	4190	51
Habra	19000	8100	42
Sig	8000	3200	40

Source : ENHYD (2003)

5- Salinité et plante

Le stress salin est un excès d'ions, en particulier mais pas exclusivement les ions Na^+ et Cl^- (Hopkins, 2003). La salinité des sols constitue l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance des plantes cultivées. Cette salinité peut être naturelle ou induite par les activités agricoles comme l'irrigation ou l'utilisation de certains types d'engrais (Jabnoute, 2008).

5-1 Effets de la salinité sur les plantes

La salinité constitue un facteur limitant non négligeable pour l'agriculture mondiale. L'effet de la salinité se manifeste généralement chez la plupart des plantes cultivées par une réduction de la croissance et du développement. Cet effet néfaste se traduit par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance et la productivité végétale (Lahouel, 2014).

5-1-1 Effets de la salinité sur la germination

La germination des graines est le stade le plus sensible aux stress salin et hydrique (Boulaghlagh et *al.*, 2006). Le stade germination est souvent limité par la salinité du sol et se montre le plus sensible que les autres stades (Bouda et Haddioui, 2011).

Selon l'espèce, l'effet dépressif peut être de nature osmotique ou toxique (Ismail, 1990).

➤ Effets osmotique

La salinité inhibe l'absorption de l'eau, la mobilisation des réserves et leur transport vers l'embryon. Cependant il existe un seuil critique d'hydratation que l'embryon doit atteindre avant le démarrage des processus germinatifs (Rejili et *al.*,2006).

➤ Effets toxique

Les effets toxiques sont liés à une accumulation cellulaire de sels qui provoquent des perturbations des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination empêchent la levée de dormance des embryons et conduisent à une diminution de la capacité de germination (Rejili et *al.*,2006).

5-1-2 Effets de la salinité sur la croissance et le développement :

La réponse immédiate du stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire et cette expansion s'arrête si la concentration du sel augmente (Wang et Nil, 2000). Le stress salin provoque aussi la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, tiges et racines (Chartzoulakis et Klapaki, 2000).

Le ralentissement de la croissance peut résulter de plusieurs facteurs, à savoir :

- La concentration élevée en Na^+ et Cl^- diminue l'absorption de Ca^{2+} l'augmentation de la concentration en Na^+ s'accompagne également d'une réduction de la concentration en Mg^{2+} , k^+ et PO_4^- dans la plante (Levitt, 1980).
- La perte de turgescence des cellules due au stress osmotique induit par les solutés externes (Serrano et Gaxiola, 1994).
- L'utilisation des composés carbonés et azotés à des fins de protection et d'osmorégulation aux dépens de leur implication dans la production de biomasse (Alarcon et *al.*,1994).

➤ Le déséquilibre nutritionnel causé par l'absorption réduite des ions essentiels comme le K^+ , Ca^{+2} ou NO_3 en liaison avec cette accumulation excessive (Haoualla et *al.*, 2007).

5-1-3 Effets de la salinité sur la photosynthèse :

La présence du sel en forte concentration inhibe principalement le métabolisme cellulaire et la photosynthèse par l'imposition d'un stress osmotique (Hayashi et Murata, 1998). La salinité réduit la vitesse photosynthétique suite à une diminution de la conduction stomatique de CO_2 (Santiago et *al.*, 2000). En effet, la déshydratation des membranes cellulaires réduit leur perméabilité au CO_2 ce qui réduit l'approvisionnement en CO_2 des cellules des feuilles, à la sénescence accrue et au changement dans l'activité des enzymes photosynthétiques (Parida et Das, 2004).

5-1-4 Effets de la salinité sur le développement des maladies des plantes :

De nombreuses recherches effectuées sur l'influence de la salinité sur la physiologie et la morphologie des plantes ont montré des interactions entre le stress salin et le développement des maladies des plantes (Fig. 01). La sporulation du parasite dans les tissus vasculaires augmente avec la salinité de l'eau d'irrigation, ce qui augmente par conséquent la sévérité de la maladie (In Douakha et Guernine, 2013).



Figure 01: Nécrose apicale causée par la salinité sur le fruit de la tomate. (In Douakha et Guernine, 2013).

5-1-5 Effets de la salinité sur le rendement :

Les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif caractérisé par la faible ramification, le faible diamètre des organes, le nombre réduit des nœuds et la réduction du nombre des feuilles et de la longueur de la tige. A des concentrations élevées de sels, la croissance normale des plantes cultivées est limitée et le rendement des cultures est réduit (Wiebe et *al.*,2001).

Chapitre II: Généralités sur la tomate

1- Historique et origine

La tomate *Lycopersicum esculentum* Mill, est une plante herbacée annuelle originaire la Cordillères des Andes en Amérique du sud (Colombie, Equateur, Pérou, nord du Chili), (Chaux et Foury, 1994).

C'est en effet seulement dans ces régions qu'on a retrouvé des plantes spontanées de diverses espèces de l'ancien genre *Lycopersicum*, notamment *Solanum lycopersicum* cerasiforme, la tomate cerise. Cette dernière est actuellement répandue dans toutes les régions tropicales du globe mais il s'agit d'introductions récentes. La première domestication de la tomate à gros fruits est vraisemblablement intervenue dans le Mexique actuel, où l'ont trouvé les conquérants espagnols en 1519 (Harlen, 1987).

Comme c'est une culture à cycle assez court qui donne un haut rendement, elle a de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit de jour en jour. La consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré (Shankara et al. 2005). Le fruit est riche en potassium, antioxydants, magnésium, phosphore, des vitamines du groupe A, des vitamines du groupe B, des vitamines du groupe C, des vitamines du groupe E, fibres et sels minéraux (Morard, 2013).

Les qualités intrinsèques du fruit ont énormément évolué au cours du temps. Chez la tomate sauvage, le fruit est petit et destiné à la propagation de l'espèce et non à nourrir l'homme (Bergougnoux, 2014). Aujourd'hui, les tomates cultivées modernes portent des fruits plus charnus, avec une grande variation de taille et de couleur. En effet, il existe aujourd'hui une très large gamme de variétés différentes (Bai & Lindhout, 2007).

2- Classification de la tomate

La tomate *Lycopersicon esculentum* MILL est une plante herbacée appartenant à la famille des solanacées (Verolet et al, 2001). La tomate montre de grandes facilités de variation raison pour lesquelles le nombre de variétés en est extrêmement élevé (Laumonnier, 1979).

Munroe et Small (1998) rappellent que la tomate appartient à la classification suivante :

Règne :	<i>Planta</i>
Sous-règne :	<i>Trachiobionta</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe :	<i>Asteridae</i>
Ordre :	<i>Solanales</i>
Famille :	<i>Solanaceae</i>
Genre :	<i>Solanum</i>
<u>Espèce :</u>	<u><i>Solanum lycopersicum</i></u>

3- Culture de la tomate

La culture de la tomate est une culture à cycle court et à haut rendement. Cette culture peut se faire en champ, mais aussi en serre. Au cours du temps, la tomate a pu s'adapter à une grande diversité de conditions climatiques, rendant sa culture faisable un peu partout dans le monde. Un climat relativement frais et sec est cependant préférable pour elle, et la gamme idéale de température pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. La tomate est cependant capable de résister à un certain intervalle de température, mais en deçà de 10°C et au-delà de 38°C, les tissus de la plante seront endommagés (Singh et *al.*, 2017).

La plupart des variétés de tomate exige une température optimale comprise entre 18 et 26°C (Messiaen et *al.*, 1993 et Benton, 1999).

Selon (Benchaalal, 1983), l'humidité atmosphérique doit être de 76% lors de la germination, 75-80% durant la croissance des plantes, 70-80% lors du développement des fruits.

L'eau est un facteur important du rendement et de la qualité du fruit la tomate requiert une quantité significative en eau (Jones, 2005), ce besoin en eau est lié au climat, au stade de la plante et à son stade végétatif (Letard, 1995). Tout stress hydrique à n'importe quel stade de croissance réduira le rendement et la qualité du fruit (Ezzahirri et *al.*, 2004).

De plus, la tomate fait partie des plantes de type glycophyte, c'est-à-dire non résistante au stress salin. En effet, plusieurs études ont démontré sa sensibilité à la salinité (Snoussi et *al.*, 2004; Zribi et *al.*, 2009; Manaa et *al.*, 2011; Martínez et *al.*, 2012; Singh et *al.*, 2012; Martínez et *al.*, 2014; Gharbi, 2017; Parvin et *al.*, 2019).

4- Importance économique de la tomate

4-1 Dans le monde

La tomate est cultivée dans de nombreux pays du monde (170 pays selon la FAO, 2009) et sous divers climats, y compris dans des régions relativement froides grâce au développement des cultures sous abri. La tomate est aujourd'hui largement répandue à travers le globe et représente actuellement la culture maraîchère la plus importante du point de vue économique au monde. Sa production ainsi que sa surface de culture ont plus que doublé ces 20 dernières années (Bergougnoux, 2014). En 2018, c'était la Chine qui dominait le marché de la tomate avec une production annuelle d'environ 61 millions de tonnes, suivie par l'Inde, les États-Unis, la Turquie et l'Égypte ((FAOSTAT, 2020).

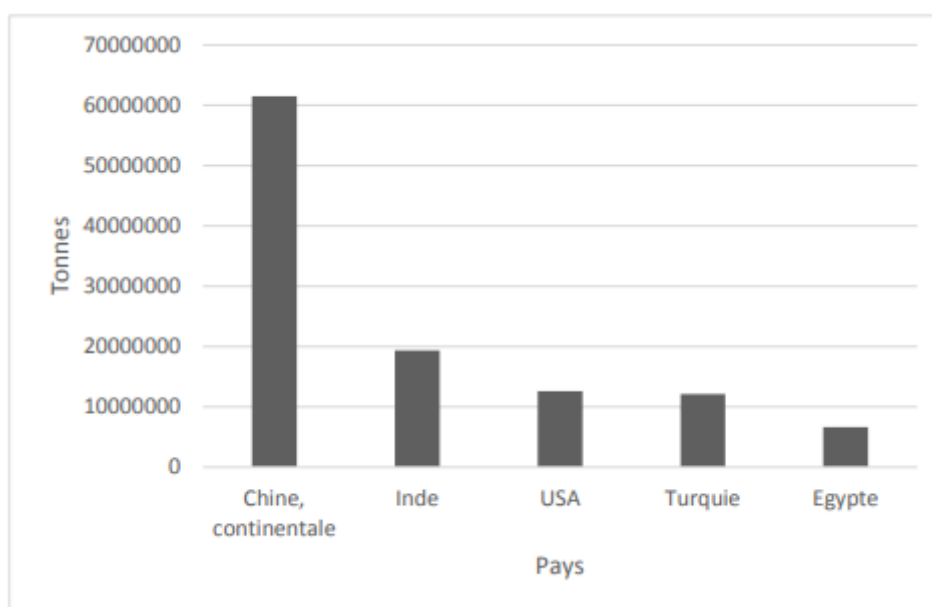


Figure02 : Top cinq des pays producteurs de tomates fraîches en 2018 (FAOSTAT, 2020).

4-2 En Algérie :

De par son importance, la tomate (maraîchère et industrielle) constitue la 3ème activité agricole en Algérie, après les céréales et la pomme de terre (I.T.C.M.I, 2003). La production de la tomate, en Algérie, est influencée par les caractéristiques climatiques régionales et les variétés productives. Selon Abdelguerfi, 2003, la tomate est répartie comme suit :

Chapitre II: Généralités sur la tomate

- Les productions de saison : représentent la plus grande part des superficies maraîchères localisées dans les Tell et les régions suffisamment arrosées ou disposant d'eau d'irrigation (périmètres irrigués, oasis, etc...).
- Les productions d'arrière-saison: arrivent sur les marchés à partir du mois de Novembre. Elles sont localisées dans le littoral, les plaines sub-littorales, les plaines intérieures et les hautes plaines bénéficiant d'infrastructures et d'eau pendant l'été et l'automne.
- Les productions de primeur: réservées aux zones à climat doux. C'est pour cette raison qu'elles sont confinées dans les zones littorales et quelques micro-zones du sud (Abdelguerfi, 2003).

Tableau 02 : Evolution de la production de la tomate en Algérie pendant (2001-2011)
(FAO, 2011).

Compagnes (années)	Superficies (hectares)	Production (tonnes)	Rendement (tonnes/hectare)
2001	39,830.00	830,531.00	208,518.96
2002	42,510.00	814,941.00	191,705.72
2003	45,730.00	887,097.00	193,985.63
2004	46,729.00	1,092,270.00	233.695.63
2005	42,354.00	1,023,450.00	241,641.88
2006	31,005.00	796,160.00	256,784.39
2007	20,079.00	567,313.00	282,540.47
2008	19,655.00	559,249.00	284,532.69
2009	20,789.00	641,034.00	308,352.49
2010	21,350.00	718,240.00	336,412.18
2011	23,500.00	790,000.00	336,170.21

La production nationale de la tomate fraîche s'est établie à 13,72 millions de quintaux (qx) durant la campagne 2017-2018, a indiqué le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche dans un communiqué.

Le rendement a été de 428 qx/hectare pour la tomate plein champ et 1.225 qx/hectare pour la tomate sous serre, a précisé la même source.

Les plus grandes wilayas productrices de la tomate fraîche sont Biskra avec une production de 2,33 millions de qx, Mostaganem avec une production de 1,33 million de qx, Tipaza avec 1,04 million de qx et Ain Defla avec 728.250 qx.

Outre la tomate fraîche, la production de la tomate industrielle (destinée à la transformation), elle a été de 15,4 millions de qx durant la campagne 2017-2018, avec un rendement de 651 qx/hectare.

Les plus grandes wilayas productrices de la tomate industrielle sont Skikda avec une production de 4,65 millions de qx, Tarf avec 3,5 millions de qx, Guelma avec 2,06 millions de qx et Ain Defla avec 1,68 million de qx. (Radio Algérie 31/10/2018)

5- Principaux ravageurs et maladies de la tomate

Les cultures de tomates peuvent être affectées par diverses attaques de ravageurs tels que : les pucerons, les aleurodes, les mineuses, noctuelle tomate, les Doryphores, Mouches des fruits (*Bactrocera*), les acariens et les nématodes... etc (fig04), et de maladies cryptogamiques, bactériennes ou virales (tableau 03), par la concurrence de mauvaises herbes et par des accidents de végétation ou des agressions abiotiques, dont l'importance varie selon le type de culture et les conditions climatiques. Les ravageurs et les maladies de la tomate sont souvent communs à d'autres espèces de Solanacées cultivées, comme l'aubergine ou le tabac (ITCMI, 1994).

La prévention des maladies et des ravageurs est extrêmement importante pour la culture de la tomate. Les principaux facteurs limitant la production de la tomate en plein champ sont l'alimentation hydrique, minérale, les maladies et les ravageurs (Krid et Messati 2013).

Chapitre II: Généralités sur la tomate

Tableau03 : Principales maladies de la tomate

file:///C:/Users/LENOVO/OneDrive/Bureau/flash%20disque%20meliii/meli%20memoire/ tomate-ft-culture_SDRdag_v2016.pdf

Maladies	Symptômes
Virus du TYLC	Voir partie "choix variétaux". Transmis par l'aleurode du tabac
Mildiou (<i>Phytophthora infestans</i>)	Taches jaunâtres qui brunissent rapidement. Duvet blanc grisâtres sous les feuilles. Les tiges attaquées noircissent et la plante meurt en quelques jours.
Oïdium (<i>Oidiopsis</i> ou <i>Leveillula taurica</i>)	Maladie fongique (champignon) développant un feutrage (poudre) blanc, à l'aspect farineux sur feuilles et provoquant leur dessèchement.
Flétrissement bactérien (<i>Ralstonia solanacearum</i>)	L'obturation des vaisseaux due à la bactérie empêche le transport normal de la sève et provoque le flétrissement du plant. Contamination des plants voisins par l'eau (pluie, irrigation).
Fusariose (<i>Fusarium oxysporum</i>)	Le champignon induit la pourriture du système racinaire entraînant le jaunissement du feuillage à partir du bas de la plante puis le dessèchement.
Alternariose (<i>Alternaria solani</i>)	Maladie fongique causant des taches brunes à noires, circulaires ou ovales sur feuilles et tiges, puis dessèchement de la totalité du feuillage. Taches avec feutrage (poudre) noir sur les fruits.
Fonte de semis(<i>Pythium</i>)	Flétrissement et mort des plantules.

Chapitre II: Généralités sur la tomate

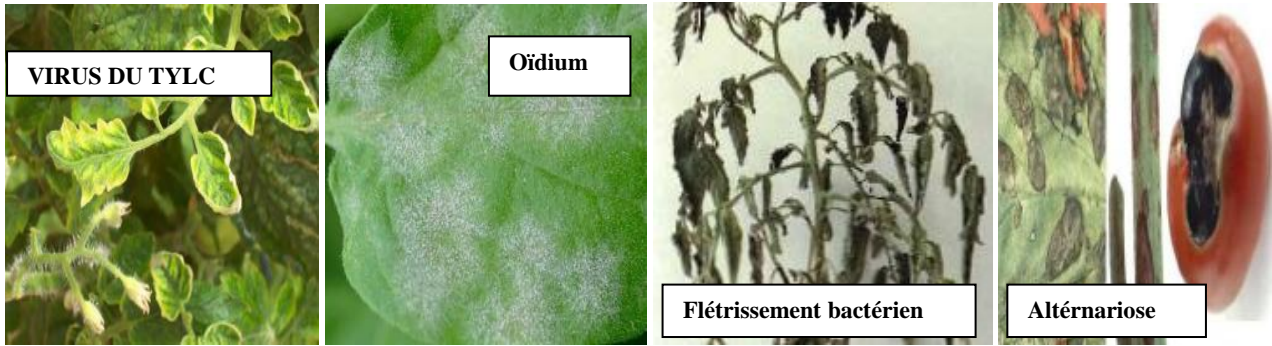


Figure 03: Maladies de la tomate (Direction de l'agriculture, 2018).

file:///C:/Users/LENOVO/OneDrive/Bureau/flash%20disque%20meliii/meli%20memoire/tomate-ft-culture_SDRdag_v2016.pdf



Figure04 : Les ravageurs de la tomate (Direction de l'agriculture, 2018).

file:///C:/Users/LENOVO/OneDrive/Bureau/flash%20disque%20meliii/meli%20memoire/tomate-ft-culture_SDRdag_v2016.pdf

Chapitre III : Généralités sur les Pseudomonas spp

Fluorescents

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

La rhizosphère représente la partie du sol qui entoure les racines des plantes. Cette partie supporte de grands groupes actifs de bactéries appelées rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Parmi ces rhizobactéries, 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; Gosal, Kaur et al. 2017).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* occupent la plupart des environnements naturels. Elles sont isolées de l'eau, du sol et des végétaux. Elles présentent un fort potentiel d'adaptation physiologique et génétique et sont capables d'utiliser une grande variété de nutriments. D'un point de vue écologique, les *Pseudomonas* regroupent des espèces bénéfiques pour l'environnement et des espèces pathogènes (Talon et al. 2006).

Ce genre de *Pseudomonas* 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 bioremédiation (Garbaye et al., 2004).

1- Caractères généraux des *Pseudomonas* spp fluorescents :

Les *Pseudomonas* sont des bactéries que l'on rencontre communément dans l'eau, dans les sols et, en particulier au niveau des rhizosphères (Kanynda et al., 2014). Elles ont une grande capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population.

Le groupe *Pseudomonas fluorescents* a été décrit pour la première fois en 1886 par Flüggé, La fluorescence est due à la production d'un pigment fluorescent jaune-vert appelé « pyoverdine », soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme. Il comprend une soixantaine d'espèces. Leurs caractères principaux sont :

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

- Bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire, oxydase+ (Palleroni, 2008).
- Des bâtonnets droits ou faiblement incurvés de 0,5 à 1µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long (Prescott et al., 2003).
- Le génome de cette bactérie a été séquencé en 2000 et a été publié et révélait le plus large génome bactérien séquencé à ce jour. Il possède 6.3 millions paires de bases, codant 5570 cadres de lecture de la souche modèle PAO1 (Stover et al., 2000). La taille du génome du groupe *Pseudomonas* fluorescents varie d'environ 6,4Mb à 7,7Mb (Paulsen et al., 2005, Silby et al., 2009)
- les températures optimales à leur croissance varient entre 4 °C à 42°C (Palleroni, 2008).
- Toutes les espèces de ce genre ne peuvent pas croître à un pH inférieur à 4.5. Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon et la cellulose (Palleroni, 1984)
- Certaines populations de *Pseudomonas spp fluorescents* ont la possibilité d'assimiler l'azote (Clays-Josserand et al., 1995). Cette assimilation est plus ou moins complète selon le groupe taxonomique considéré (Matsubara et Zumft, 1982).
- Ces bactéries contribuent significativement à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques (Latour et Lemanceau, 1997).
- Elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques (Visca et al., 2007) (Euzéby, 2008).
- Les espèces appartenant au genre *Pseudomonas* se cultivent sur des milieux de culture usuels non enrichis et sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme source de carbone et d'énergie.
- La plupart sont saprophytes (Bossis et al., 2000).
- Quelques espèces comme *P. syringae*, sont phytopathogènes (Stanier et al., 1966), et certaines peuvent causer des infections chez l'homme, particulièrement *P. aeruginosa*, (Mavrodi et al., 2001).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents



Figure 05 : Photo de genre *Pseudomonas* ([http : //www.gettyimage.com](http://www.gettyimage.com))

Les deux espèces de groupe des *Pseudomonas fluorescents* à savoir ; *P. fluorescens* et *P. putida*, sont prédominantes et peuvent constituer plus de 60 % de la flore bactérienne (Digat et Gardan, 1987).

Le genre *Pseudomonas* a été découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des *Gamma proteobacteria*, famille des *Pseudomonaceae*, ordre des Pseudomonales (Palleroni, 1986 ; Moore et *al.*, 2006). Leur classification repose sur des caractéristiques phénotypiques, seules la composition en G+C fussent rajoutées comme caractéristique génétique. Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S, fût entreprise par (Anzai et *al.*, 2000).

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

- 1- Les *Pseudomonas fluorescens*
- 2- *Pseudomonas putida*.
- 3- *Pseudomonas aeruginosa*.
- 4- *Pseudomonas syringae*.
- 5- *Pseudomonas chlororaphis*.
- 6- *Pseudomonas stutzeri*.
- 7- *Pseudomonas pertucinogena*.

1- Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp

Les bactéries du groupe des *P. fluorescens* sont retrouvées abondantes dans la rhizosphère de nombreuses plantes et possèdent une large gamme de fonctions phytobénéfiques avec différents modes d'action sur le végétal (Couillerot et al. 2009; Loper et al. 2012; Almario et al. 2014, Haney et al. 2015).

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents 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).

Durant la colonisation du système racinaire des plantes, 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 (Haaas et Défago, 2005) et des enzymes lytiques des parois des champignons (Dibyet al ., 2005; Siddiqui et al .,2005).

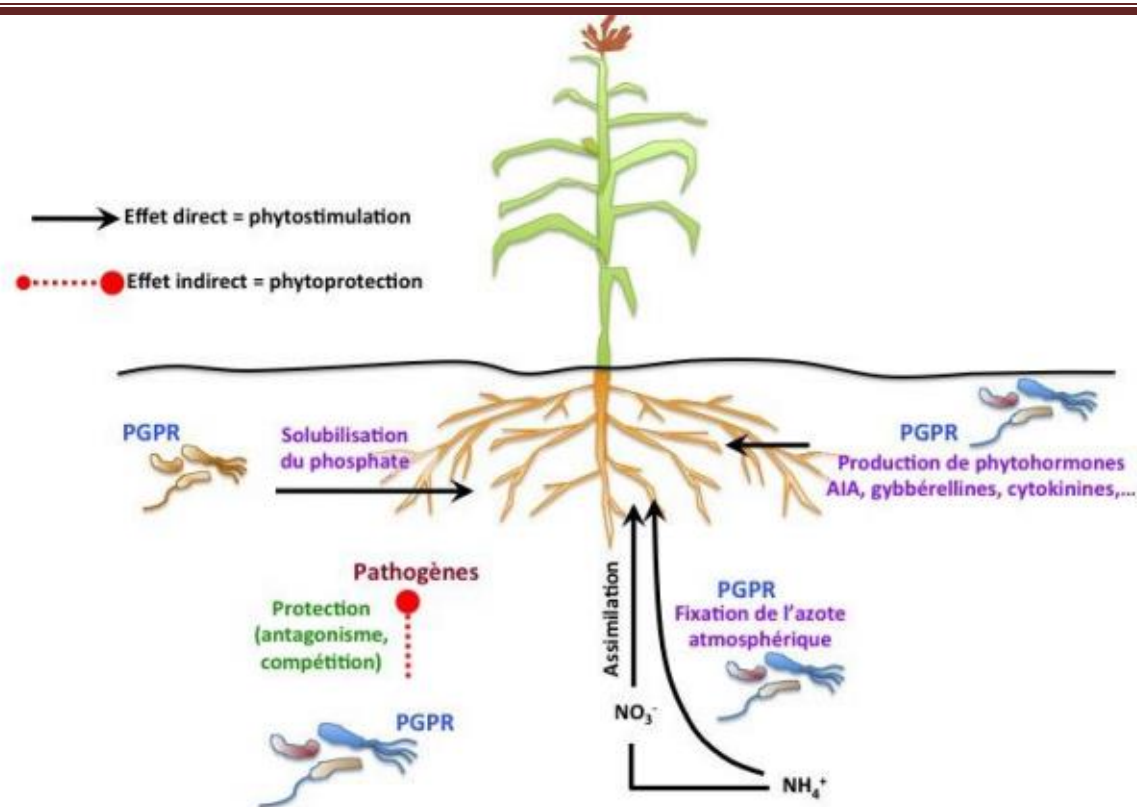


Figure 06: Représentation schématique décrivant les interactions entre plantes et bactéries coopératives (PGPR) dans la rhizosphère (Haas et Défago, 2005).

2-1 Stimulation de la croissance des plantes

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents stimulent et améliorent la germination des graines et la levée des plantes particulièrement dans des conditions environnementales défavorables à la germination (Compant et al., 2005 ; Haas et Defago, 2005). Chez plusieurs espèces végétales particulièrement les espèces herbacées après leur bactérisation, la vitesse de levée a été accrue (Digat et al., 1990 ; Biswas et al, 2000 ;Matiru et Dakora, 2005 ;Sharma et al., 2007 ;Wang et al., 2012).

De même Höfte et al, (1991), ont enregistré une augmentation significative du taux de germination de semence de maïs soumises au froid après inoculation de deux souches de *Pseudomonas fluorescens*. L'une d'entre elle a plus permis de maintenir le pourcentage de germination d'un lot de semences âgé de deux ans au même niveau que celui uniquement âgé d'un an. Ces souches sont appelées «Emergence Promoting Rhizobacteria », (Kloepper et al., 1986). La synthèse de substances stimulant la croissance de la plante a souvent été démontrée in vitro avec des cultures pures de nombreuses bactéries PGPR, mais également lors de l'association avec la plante.

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas spp* Fluorescents

➤ Synthèse de phytohormones

Les hormones végétales sont des substances chimiques de différentes natures agissant à très faible concentration sur la croissance et le développement des plantes (Gobat et *al.*, 2010). Les hormones végétales sont produites à la fois dans des cultures liquides et des conditions naturelles. Les principales hormones produites sont l'acide indolacétique (IAA).

L'acide indole 3-acétique (AIA) est une phytohormone la plus importante du groupe des auxines (Ashrafuzzaman et *al.*, 2009) et quantitativement le plus produit par les PGPR. L'AIA fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes (Ryu et Patten, 2008).

L'AIA joue un rôle très important dans l'élongation des racines, et dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen, 2007), mais aussi dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges, et de nombreux processus mettant en jeu la différenciation cellulaire (Patten et Glick, 2002). Les *Pseudomonas spp Fluorescents* peuvent aussi stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acide indole 3-acétique (AIA) (Patten et Glick, 2002), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes et l'une des principales raisons de l'augmentation du rendement (Khakipour et *al.*, 2008).

Les AIA synthétisés par les PGPR influencent le développement des racines, le taux de respiration, le métabolisme et la prolifération des racines, ce qui a entraîné une meilleure absorption minérale des plantes inoculées (Deepmala, 2016).

Les hormones végétales sont des messagers chimiques affectant la capacité de la plante à réagir à son environnement. Sans compter qu'elles jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques (Spaepen et *al.*, 2007).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

➤ Médiateurs de l'absorption de fer

Les sidérophores sont de petites molécules peptidiques qui possèdent des chaînes latérales et des groupes fonctionnels auxquels les ions ferriques peuvent se lier (Goswami et al. 2016). Ce sont des chélateurs du fer qui servent de transporteurs de fer et ont une grande affinité pour certains ligands. Un assez grand nombre d'entre eux ont été criblés et utilisés à partir de microbes et ils peuvent également être spécifiques à une espèce (Sandy et Butler 2009).

La majorité des espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent des sidérophores. Ainsi un nombre important d'espèces de plantes peuvent assimiler les complexes Fe³⁺/sidérophore bactériens (Becker et Cook, 1988; Loper, 1988; Bitter et al., 1991).

Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent aussi la pseudomonine (un alcaloïde provenant de cultures de *Pseudomonas* fluorescents) comme *P. fluorescens*, *P. stutzeri* et *P. putida* (Lewis et al., 2000; Mossialos et al., 2000; Mercado-Blanco et al., 2001).

➤ 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 la bactéries rhizosphériques, *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent solubiliser le phosphore (Park et al., 2009). Ces effets stimulent la croissance (Zahir et al., 2004) et augmentation du rendement des cultures.

➤ Fixation d'azote

L'azote se trouve fréquemment sous forme gazeuse (N₂), inaccessible aux animaux et aux plantes où aucune espèce végétale n'est capable de fixer l'azote atmosphérique et de l'utiliser directement pour sa croissance (Pujic et Normand, 2009 ; Arora et al., 2012).

La fixation de l'azote dans le sol est un mécanisme important, principalement assuré par des microorganismes menant une vie libres ou des microorganismes vivant en symbiose avec des plantes (Agueniou et Zeggagh, 2017).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

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 (Weyenset *al.*, 2010).

2-2 Biocontrôle et induction de la résistance chez les plantes

Les rhizobactéries peuvent réduire la sévérité d'une maladie à travers la stimulation de mécanisme de défense inductible chez les plantes. L'induction de la résistance d'une plante consiste à activer des mécanismes de défense naturelle présents dans la plante mais qui sont à l'état latent (Latour, 2002). Le traitement des racines par les PGPR induit des effets protecteurs sur les autres parties de la plantes sans migration des bactéries induisant de la résistance systémique induite à travers le système vasculaire de la plante ou travers ses tissus (Bent, 2005).

La résistance systémique induite (RSI) est une forme de résistance stimulée, spécifiquement, par les PGPR. Au cours des années 80, les PGPR ont surtout attiré l'attention en raison de leur capacité à stimuler la croissance végétale. La possibilité que les PGPR puissent aussi induire des effets indirects en sensibilisant la plante à se défendre contre l'attaque microbienne. Ce concept de la résistance systémique induite (RSI) par les PGPR trouvait sa justification au travers de certaines études biochimiques indiquant que la protection des plantes traitées avec des PGPR était associée à des profonds changements métaboliques (Benhamou, 2002).

L'ISR confère un haut niveau de protection qui est contrôlé par un réseau de voies de signalisation coordonnées qui sont dominées et principalement régulées par des hormones végétales partageant des composants de signalisation (Pieterse et *al.* 2014 ; Walters et *al.* 2013).

L'ISR peut être divisée en trois étapes principales qui sont la perception par la plante des molécules bactériennes responsables de l'élicitation de l'ISR (Figure 07); la transmission du signal nécessaire à la systémisation du phénomène chez la plante; la mise en alerte (priming) de la plante au niveau systémique, qui dans la plupart des cas n'est pas accompagnée de grandes modifications de l'activité transcriptionnelle avant l'attaque du pathogène. L'expression du ou des mécanisme (s) de défense sensu stricto induits, permettant

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

de limiter voire d'inhiber la pénétration du pathogène dans les tissus de l'hôte végétal (Ongena&Thonart, 2006 ; Jourdan et *al.*, 2008).

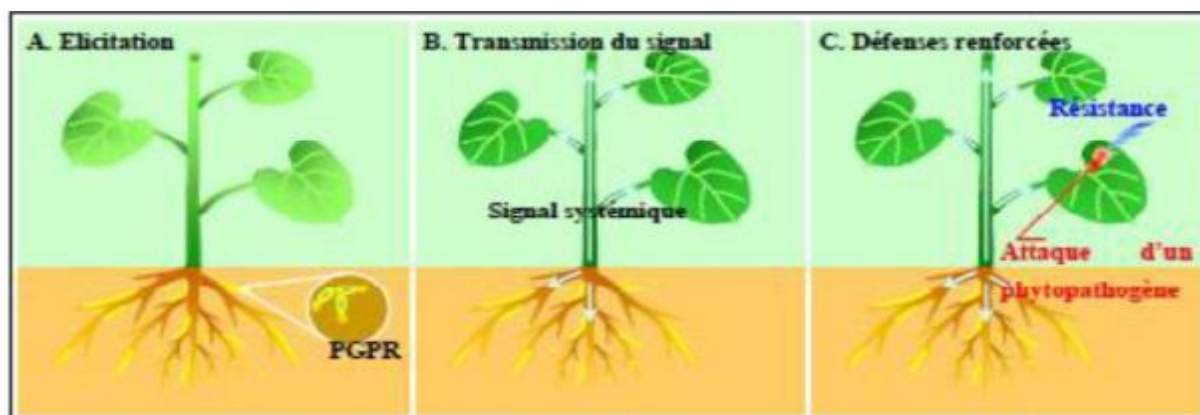


Figure 07: Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries. Les trois étapes principales sont : (A) : L'éllicitation ; (B) : La transmission du signal ; (C) : L'expression du ou des mécanisme (s) de défense (Ongena&Thonart., 2006).

2-2-1 Mécanismes de biocontrôle

Différents mécanismes de biocontrôle ont été répertoriés à ce jour (Olanrewaju et *al.*, 2017). Considérés en fonction de leur mode d'action, ces mécanismes sont la compétition, l'antibiose, la dégradation des parois fongiques par lyse enzymatique et la stimulation des mécanismes de défenses naturelles de la plante (Whipps, 2001; Haas D. &Defago 2005; Siddiqui, 2005; Babalola, 2010).

Le biocontrôle se réfère à utilisation d'un organisme vivant dans le but de limiter la croissance, Le développement et la prolifération d'un autre organisme vivant non désirable (siddiqui, 2005). Il implique des agents de biocontrôle, Souvent des micro-organismes, qui lorsqu'ils sont inoculés dans l'environnement proximal de plantes sont capables de la protéger contre des infections causées par des organismes phytopathogène.

2-2-1-1 Compétition

Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère Dans certains cas, les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et la compétition pour le fer dont la biodisponibilité dans le sol est très faible. (Sebihi, 2016).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

La colonisation des systèmes racinaires par les *Pseudomonas spp. fluorescents* implique un chimiotactisme envers les exsudats, racinaire, 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 des sidérophores. Les *Pseudomonas fluorescens* piègent le fer présent dans le milieu en privant les autres microorganismes et en inhibant leurs pouvoirs de pathogénicité (Meliani, 2012).

➤ Production des sidérophores

L'importance des sidérophores est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crossa et Walsh, 2002) et assure un biocontrôle des agents phytopathogènes et une forme assimilable du fer pour les plantes (Dahdah *et al.*, 2015).

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 microorganismes ont développé des systèmes d'acquisition de fer spécifiques et performants pour assurer leur survie par la sécrétion de sidérophores (Renshaw *et al.*, 2002 ; Fresenborg *et al.*, 2020). Les microbes producteurs de sidérophores peuvent empêcher ou diminuer la prolifération des agents pathogènes en réduisant la quantité de fer disponible pour un agent pathogène (Shen *et al.*, 2013).

Les sidérophores produits par les *Pseudomonas spp* ont été particulièrement étudiés pour leur capacité de biocontrôle, notamment la pyoverdine qui exerce un biocontrôle sur des espèces de *Pythium* et de *Fusarium* (Loper&Buyer, 1991). Une récente publication rapporte l'ensemble des connaissances sur le rôle du fer dans les interactions entre agent pathogène, agent de biocontrôle et plante (Verbon *et al.*, 2017).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

4-2-1-2 Antibiose

Les PGPR sont capables d'interférer dans les réponses des plantes aux contraintes Environnementales de façon directe ou indirecte, et de leur conférer de nouvelles capacités Par l'altération de l'ensemble de la communauté microbienne dans la rhizosphère grâce à la Production de substances diverses (Aouane et Hamani, 2017).

Une gamme très large d'antibiotique produit par les PGPR a été découverte entre autres celle produites par le genre *Pseudomonas* telle que l'amphisine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène(HCN), l'oomycine A, le phénazine, le pyoluteorine, le pyrrolinitrine, la tensine, tropolone, et les lipopepticides cycliques (Chin-A-Woeng et *al.*, 2003).

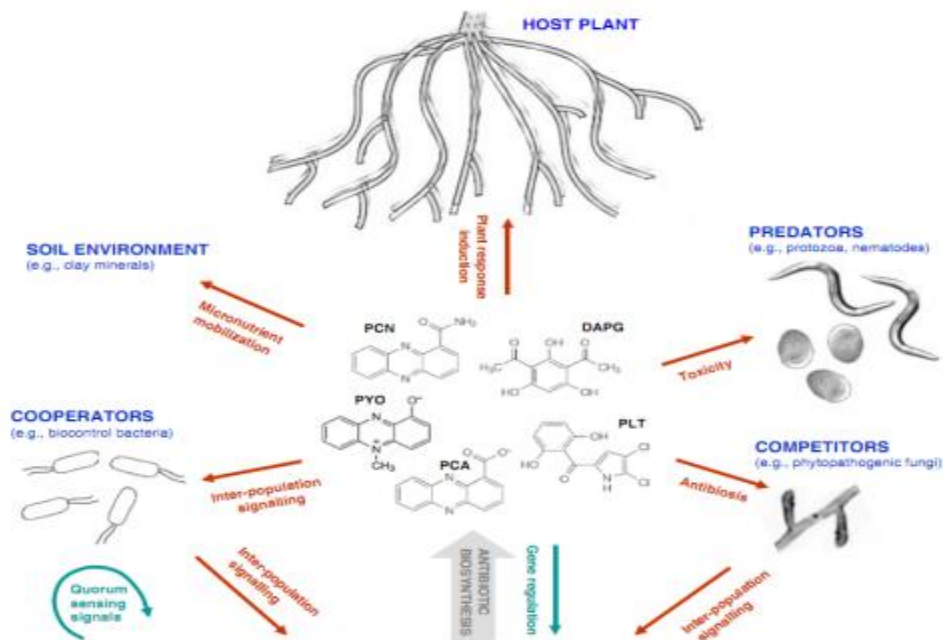


Figure 08: Principaux antibiotiques produits par les souches de *Pseudomonas* de biocontrôle (Dubuis et *al.*, 2007).

➤ Production de Cyanure d'hydrogène(HCN)

L'acide cyanhydrique (HCN) qui est produit par plusieurs *Pseudomonas* sp 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. L'HCN synthase est une flavoprotéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de CO₂ à partir de la glycine (Ramette et *al.* 2003).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

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)



Figure 09: structure du HCN

Des études ont démontré que la glycine est le précurseur métabolique immédiat du HCN chez les protéobactéries, incluant *Pseudomonas* sp. (Blumer & Haas, 2000).

Une fonction écologique de la synthèse de cyanure d'hydrogène a été mise en évidence chez la souche CHAO. Chez cette dernière, la production de HCN compte pour une grande partie du pouvoir inhibiteur envers *Thiethylalopsis basicola*. Au niveau de l'adaptation à la rhizosphère, la production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments. Par exemple, le HCN cause une augmentation de l'exudation de nutriments par les tissus de la plante (Ellis et *al.*, 2000). De plus, en culture in vitro, la production d'HCN peut même inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes via la phase gazeuse (Blummer et *al.*, 2000).

➤ Les phénazines

Les phénazines sont des composés aromatiques azotés concernant des molécules hétérocycliques. Ces dernières ont été les premiers antibiotiques étudiés à démontrer une contribution dans la suppression de maladies végétales. Il est aujourd'hui établi que plus de 50 composés phénaziques naturels connus sont tous dérivés du phénazine-1-carboxylate (PCA) ou de l'acide phénazine-1,6-diacarboxylique (PDC) (figure 10) (McDonald, Marvodi, Thomashow & floss, 2001).

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

Presque la totalité des composés phénaziques possèdent un large spectre d'activités antimicrobiennes à cause de leur habilité à subir une réduction cyclique cellulaire en présence d'oxygène et d'agents réducteurs, et à causer une accumulation de superoxydes toxiques et de peroxydes d'hydrogène (Mavrodi, Blankenfeldt & Thomashow, 2006). Par exemple, le PCA, l'acide 2-hydroxyphénazines-1-carboxylique et la phénazine-1-carboxamide (PCN), produits dans la rhizosphère par *P. fluorescens* et *P. chlororaphis*, causent l'inhibition de croissance d'agents phytopathogènes fongiques (Chin-a-Woeng, Thomas-Oates, Lugtenberg & Bloemberg, 2001) et jouent un rôle dans la suppression naturelle de maladies, tel que celle causée par le champignon *Fusarium oxysporum* (Mazurier, Corberand, Lemanceau & Raajimakers, 2009).

Les espèces productrices de phénazines peuvent être des bactéries Gram positive avec un taux élevé en G-C, mais les *Pseudomonas* spp sont sans doute les organismes producteurs les plus étudiés (Mavrodi et al., 2006). À l'exception de *P. fluorescens* qui produit seulement de PCA, les autres *Pseudomonas* spp producteurs de phénazines synthétisent deux ou plus de deux composés phénaziques (Mavrodi et al., 2006). On peut suggérer que les bactéries productrices de phénazines peuvent être regroupées en bactéries productrices de PCA et bactéries productrices de PCA et PDC (Giddens, Feng & Mahanty, 2002 ; Mavrodi et al., 2010 ; McDonald et al., 2001).

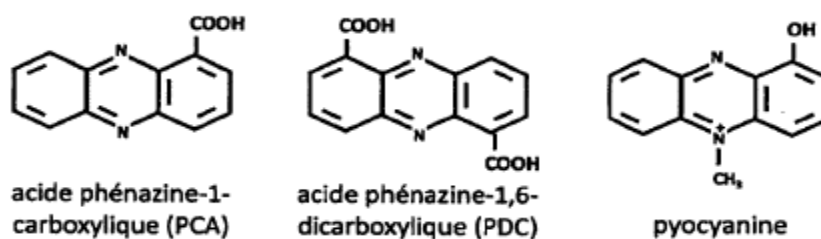


Figure 10: Structure de 3 composés phénazines importants produits Par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, soit l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), l'acide phénazine-1,6-dicarboxylique (PDC) et la pyocyanine.

Chapitre III : Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

2-3- Effets de la salinité sur les *Pseudomonas*

Le métabolisme des *Pseudomonas* des diverses niches écologiques est contrôlé par le degré de salinité et des facteurs environnementaux. Son activité antagoniste est due principalement à la sécrétion des métabolites. Ces bactéries sont également connues par le contrôle des agents phytopathogènes dans les sols salins (Prabhakaran et *al.*, 2014). Dans leur habitat naturel, les *Pseudomonas* sont fréquemment exposés à des variations de pression osmotique du milieu environnant. En effet, la salinité élevée du sol peut interférer avec la croissance et l'activité des *Pseudomonas*. La membrane cytoplasmique de ces bactéries est perméable à l'eau mais constitue une barrière efficace vis-à-vis des solutés du milieu et des métabolites présents dans le cytoplasme. La circulation des molécules d'eau à travers cette bicouche lipidique est accélérée par la présence de canaux dits aqueux (Kempf et Bremer, 1998).

Les PGPR sont capables de s'adapter à des conditions défavorables les rendant aptes à se développer dans une diversité d'écosystèmes (Rangarajan et *al.*, 2001). Par conséquent, les rhizobactéries des sols salins sont capables de croître à des niveaux de salinité variant entre 0 et 5% de NaCl. Les rhizobactéries halotolérantes peuvent développer des mécanismes moléculaires intrinsèques pour survivre et croître en vertu de l'augmentation de la salinité (Tripathi et *al.*, 1998). Les bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Halomonas*, *Chromohalobacter*, *Salinivibrio* sont parmi les PGPR les plus dominantes dans les sols salins (Ahmad et *al.*, 2005).