

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires
Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

**ACTIONS DES RHIZOBACTERIES BENEFIQUES SUR
L'AMELIORATION DE LA STIMULATION DE LA
CROISSANCE DES PLANTES :
IMPORTANCE DE LA COMPETENCE RHIZOSPHERIQUE
CHEZ LES *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTS**

PAR

CHENNAOUI Nabila

Devant le jury composé de :

A. Boutekrabt	Professeur, USD. Blida	Président
Z. Krimi	Maître de conférence, USD. Blida	Examinatrice
A. Aïssat	Maître de conférence, USD. Blida	Examineur
D. Benchabane - Toua	Chargée de cours, USD. Blida	Invitée
M. Benchabane	Maître de conférence, USD. Blida	Promoteur

BLIDA, Avril 2008

RESUME

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de la capacité de souches de *Pseudomonas fluorescens* à générer des effets bénéfiques sur les plantes cultivées. Cette étude a été réalisée en trois parties principales : la première porte sur le pouvoir de ces souches rhizobactériennes à stimuler la croissance de trois espèces végétales : le blé dur, la tomate et le concombre. La deuxième partie porte sur la compétence rhizosphérique des souches de *Pseudomonas fluorescens* en interaction avec des espèces végétales herbacées différentes de leur origine végétale d'isolement; et aussi par rapport aux conditions normales et en déficit en fer. La troisième partie s'intéresse à l'étude de l'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* avec des souches de *Rhizobium* sp. sur la stimulation de la nodulation en association avec des plantules de fève.

La phytostimulation a été perceptible sur les trois espèces végétales étudiées. Ceci dénote, globalement la non spécificité des effets bénéfiques par rapport aux origines des souches bactériennes, de leur origine végétale et aussi par rapport aux différents génotypes végétaux quant au niveau de perception des effets phytostimulateurs. Nous avons noté des gains dépassant parfois le taux de 50 % dans quelques interactions.

En comparant les gains enregistrés, en terme de croissance végétale, il apparaît clairement que les niveaux les plus élevées ont été constatées au stade juvénile des plantes.

La bactérisation des plantules dans les différents microcosmes, a montré que les souches rhizobactériennes appliquées se caractérisent par des compétences rhizosphériques appréciables, avec des seuils de colonisation atteignant 10^{11} CFU / g de sol. En dépit de leur origine végétale initiale, nous avons constaté des seuils de colonisation élevés au niveau des rhizosphères des différentes plantes étudiées.

Dans les essais complémentaires, mettant en évidence le rôle des sidérophores, il a été observé que pour le cas du mutant déficient en synthèse des pyoverdines (pvd⁻), une colonisation appréciable de la rhizosphère, permettant de dire que la sécrétion de pyoverdines n'est pas le seul mécanisme impliqué dans la compétence rhizosphérique.

Dans l'essai de l'interaction des souches *Rhizobium* sp. avec les souches de *Pseudomonas fluorescens*, nous avons observé un effet positif exercé par *Pseudomonas fluorescens*, révélé par des gains de croissance dépassent 28 % pour la souche CHAO, ainsi que des gains appréciable en nombre de nodules atteignant parfois 42 % pour la souche P64, additionné à une importante acquisition en azote (plus de 16 %).

Mots clés : *Pseudomonas spp.* .fluorescents, *Rhizobium*, PGPR, nodulation, phytostimulation.

ABSTRACT

The objective of our work is the demonstration of the ability of *Pseudomonas fluorescens* strains to stimulate plant growth and nodulation. This study was conducted in three main parts: the first covers the ability of strains *Pseudomonas fluorescens* to stimulate growth of three plants species: wheat, tomatoes and cucumbers. The second part focuses on the rhizospheric competence of *Pseudomonas fluorescens* strains in conditions of abundance or deficiency of iron ions and the third part study of the interaction of *Pseudomonas fluorescens* strains with of *Rhizobium* sp. strain on the stimulation of nodulation within the bean plants.

The phytostimulation was significantly on the three plant species studied, indicated, non specific beneficial effects in relation to the origin of bacterial strains, at the plant and also in relation to the various plant genotypes as to the level of their effects phytostimulation perception, we noted 50% with cucumber. Comparison of beneficial effects on experiments strains by comparing the gains in terms of plant growth, it is clear that the highest levels were observed in juvenile plants.

The bacterisation seedlings in the microcosms, showed that strains rhizobacteria applied are characterized by a high level of rhizosphere colonisation, reaching 10^{11} CFU / g of soil, despite their plant origin. Additional tests, highlighting the role of sidérophores, where it was observed that in the case of mutant (CK4) deficient synthesis of pyoverdines (pvd-), an appreciable colonization of the rhizosphere, secretion of pyoverdines is not the only mechanism involved in the rhizospheric competence.

In the experiment of the interaction of strains *Pseudomonas fluorescens* with *Rhizobium* sp. strains, we observed a positive effect exerted, revealed by growth promotion 28% for the CHAO strain, and more than nodulating reaching 42% with P64 strain, additioned with a significant nitrogen acquisition.

Keywords: *Pseudomonas* spp. fluorescents, *Rhizobium*, PGPR, nodulation, phytostimulation.

ملخص

الغرض الأساسي من دراستنا التجريبية هو إبراز فعالية و قدرات بعض عزلات *Pseudomonas fluorescens* في التأثير ايجابيا على نمو النبات. الجزء الأول يتناول قدرة ثلاثة عزلات من *Pseudomonas fluorescens* في تحفيز نمو ثلاثة أنواع نباتية : الطماطم القمح اللين و الخيار. الجزء الثاني يتعلق باستعمال العزلات البكتيرية في أوساط مصطنعة تركيبية (نبات + بكتيريا) وكذلك لإبراز قدرات هذه البكتيريا في تعمير المجموع الجذري و ذلك بوجود أو ندرة ايونات الحديد.

فيما يهدف الجزء الثالث إلى دراسة التعايش بين عزلات *Pseudomonas fluorescens* و عزلات *Rhizobium sp* في تحفيز نبات الفول و التأثير على تشكيل العقد الجذرية المعروفة في تثبيت النيتروجين.

أكدت دراسة ثلاثة أنواع من النبات إن هناك تأثير ايجابي بالرغم من اختلاف أصول العزلات البكتيرية و أيضا فيما يتعلق بمختلف النبات. لاحظنا زيادة في النمو تجاوزت 50 % كما اتضح لنا أن أهم الزيادات سجلت في المراحل الأولى للنمو النباتي.

دراسة مستوى اعمار عزلات *Pseudomonas fluorescens* للتربة اظهر مستويات تجاوزت 10^{11} CFU / غ من التربة و ذلك بالرغم من اختلاف النبات الأصلي لتلك العزلات. لاحظنا أيضا إفراز جاذبات الحديد (sidérophores) ليست الآلية الوحيدة المستعملة للتأثير الايجابي على النبات.

سجل في اختبار التفاعل بين عزلات *Pseudomonas fluorescens* و عزلات *Rhizobium* زيادات معتبرة في النمو تجاوزت 28 % بالإضافة إلى زيادة في تشكيل العقد الجذرية وصلت إلى 42 % مع ارتفاع مستوى تثبيت النيتروجين لدى نبات الفول.

REMERCIEMENTS

L'expression de mon entière gratitude et mes plus vifs remerciements vont d'abord à mon promoteur Monsieur le D^r. Benchabane Messaoud, maître de conférence à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail et de m'avoir dirigé et aidé pour ses précieux conseils qui m'ont jamais fait défaut. Je le remercie pour ses encouragements et la confiance qu'il m'a si gentiment accordée. Je le remercie également pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail et pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit.

C'est avec un grand honneur que j'adresse mes vifs remerciements et mon profond respect aux membres du jury, en dépit de leurs charges, et qui ont bien voulu accepter d'honorer de leur présence et d'examiner mon travail :

- P^r. A. Bouterkrabt.
- D^r. Z. Krimi.
- D^r. A. Aïssat.
- M^{me}. D. Benchabane - Toua

Je voudrais également remercier les membres du laboratoire de Microbiologie, où j'ai effectué mes travaux pour leur aide et leur encouragement.

Un merci particulier à Samia, Djamila et Amina pour leurs aides, leur sympathie et leur gentillesse.

Un merci tout spécial aussi à ma famille et mes amies en particulier mes chers parents qui m'ont donné la force et le courage de continuer sur ce chemin.

Enfin, que toutes les personnes, qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de ma gratitude et de ma sympathie.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	9
1. GENERALITES SUR LES RHIZOBACTERIE.....	12
1.1 Activité microbienne rhizosphérique.....	12
1.2 Effet rhizosphère.....	14
1.3 Importance des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	17
1.4 Association symbiotique légumineuses – rhizobium.....	26
1.5 Processus de nodulation.....	30
1.6 Rôle des exopolysaccharides dans la formation des nodules.....	37
1.7 Quorum sensing et régulation de l’activité microbienne.....	38
2. MATERIELS ET METHODES.....	42
2.1 Le sol.....	42
2.2 Souches bactériennes.....	42
2.3 Phytostimulation de la croissance.....	44
2.4 Etude de la compétence rhizosphérique.....	47
2.5 La stimulation de la nodulation.....	53
3. RESULTATS ET DISCUSSION.....	58
3.1 La phytostimulation.....	58
3.2 La compétence rhizosphérique.....	77
3.3 La stimulation de la nodulation.....	88
3.4 Discussion générale.....	103
CONCLUSION.....	106
APPENDICE	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	127

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Illustration schématique de la rhizosphère adaptée de Vega	14
Figure 1.2	structure schématique des pyoverdines	23
Figure 1.3	Assimilation du fer chez les microorganismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs	25
Figure 1.4	Les différentes formes des nodules chez les légumineuses	30
Figure 1.5	Structure du facteur Nod chez la souche <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv <i>viciae</i> et la souche <i>Sinorhizobium meliloti</i>	33
Figure 1.6	Echange moléculaire ente rhizobium et les légumineuses dans le Processus de nodulation	35
Figure 1.7	Etape du développement du nodule d'après Djordjevic	37
Figure 1.8	Structure générale de l'acyl-homoserine lactones	39
Figure 2.9	Dispositif expérimental de l'essai de la promotion de la croissance végétale	45
Figure 2.10	Les différents constituants du microcosme	49
Figure 2.11	Dispositif expérimental de la dynamique bactérienne	50
Figure 2.12	Dispositif expérimental de l'essai sur l'effet des pyoverdines	52
Figure 2.13	Dispositif expérimental de l'essai de nodulation	56
Figure 2.14	Evolution du taux de levée (%) en fonction du temps	59
Figure 2.15	Plants de blé après 16 jours de la bactérisation.	60
Figure 3.16	Plants de blé après 31 jours de la bactérisation	60
Figure 3.17	Plants de tomate après 16 jours de la bactérisation	64
Figure 3.18	Plants de tomate après 40 jours de bactérisation	64
Figure 3.19	Plants de concombre après 38 jours de la bactérisation	68
Figure 3.20	Gains (%) en taux de levée chez le blé tendre	70
Figure 3.21	Gains (%) en taux de levée chez le concombre.	71
Figure 3.22	Gains (%) par rapport au témoin chez la tomate	72
Figure 3.23	Gains (%) par rapport au témoin chez le blé tendre	72
Figure 3.24	Gains (%) par rapport au témoin chez le concombre	73
Figure 3.25	Boite présentant des colonies bactériennes	78
Figure 3.26	Développement des plantes dans les microcosmes	79
Figure 3.27	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps	80
Figure 3.28	dans les microcosmes des trois plantes	81
Figure 3.29	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps Microcosmes de Plantules de tomate après 15 jours du semis et de la bactérisation	82
Figure 3.30	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps	83
Figure 3.31	Microcosmes de Plantules de tomate après 32 jours du semis et de la bactérisation	83
Figure 3.32	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps	84
Figure 3.33	L'aspect macromorphologique des colonies de <i>Rhizobium</i>	88
Figure 3.34	Hauteur de la partie aérienne du traitement bactérisé avec deux rhizobactéries (a) et le témoin (b)	91
Figure 3.35	Nodules sur les racines de la fève	94
Figure 3.36	Fragments des racines de fève bactérisés après 72 d'incubation	95

Figure 3.37	Les gains obtenus dans l'interaction des souches CHAO et P64 avec la souche de <i>Rhizobium</i> R1	95
Figure 3.38	Les gains obtenus dans l'interaction des souches CHAO et P64 avec la souche de <i>Rhizobium</i> R2.	96
Figure 3.39	Les gains obtenus dans l'interaction des souches CHAO et P64 avec la souche de <i>Rhizobium</i> R3.	96
Figure 3.40	Gains obtenue des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R1	98
Figure 3.41	Gains obtenue des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R2.	98
Figure 3.42	Gains obtenue des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R3.	98
Figure 3.43	Observation microscopique d'un fragment de racines	102
Tableau 1.1	Composés libérés par les racines en solution nutritive	16
Tableau 1.2	Classification des rhizobactéries symbiotique fixatrices d'azote	28
Tableau 1.3	classification des nouvelles rhizobactéries symbiotiques fixatrices d'azote	29
Tableau 1.4	Caractéristiques de quelques flavonoïdes et autres substances produites par <i>Rhizobium</i>	32
Tableau 1.5	Caractéristiques de quelques molécules d'acyl homosérine lactone appartenant au genre <i>Rhizobium</i>	39
Tableau 2.6	Souches bactériennes	43
Tableau 3.7	Longueur moyenne de la première feuille (cm) chez le blé tendre	61
Tableau 3.8	Hauteur de la tige (cm) chez le blé tendre	62
Tableau 3.9	Poids frais et poids sec de la partie aérienne (g) chez le blé rendre	63
Tableau 3.10	Longueur des racines (cm) chez le blé tendre	63
Tableau 3.11	Hauteur de la tige (cm) chez la tomate	65
Tableau 3.12	Poids frais et poids sec (g) chez la tomate	66
Tableau 3.13	Longueur des racines (cm) chez la tomate	67
Tableau 3.14	L'évolution du taux de levée (%) du concombre	68
Tableau 3.15	Hauteur de la tige (cm) chez le concombre	69
Tableau 3.16	Poids frais et poids sec (g) de la partie aérienne	69
Tableau 3.17	Surface foliaire (cm ²) chez le concombre	70
Tableau 3.18	Poids frais en gramme (g) de la partie aérienne	89
Tableau 3.19	Poids sec en gramme (g) de la partie aérienne	90
Tableau 3.20	Hauteur en centimètre (cm) de la partie aérienne	91
Tableau 3.21	Poids frais en gramme (g) de la partie racinaire	92
Tableau 3.22	Poids sec en gramme (g) de la partie racinaire	92
Tableau 3.23	Longueur racinaire en centimètre (cm)	93
Tableau 3.24	Nombre de nodules	94

INTRODUCTION

Le sol est considéré comme un immense réservoir d'espèces microbiennes, qui par leurs diversités et leurs activités, représentent sans doute le maillon central de l'écosystème sol. En effet les interactions qui existent entre les rhizobactéries et les plantes sont diverses, fréquentes et complexes et elles ne sont pas un événement rare ou accidentel, que ce soit d'une manière saprophyte, symbiotique ou parasitaire. Ces interactions multiples créent des espaces rhizosphériques, conduisant à la structuration de niches écologiques telluriques particulières.

La colonisation racinaire, rhizosphérique, est conditionnée par la nature des microorganismes et le type de plantes. En effet, la composition des rhizodépôts influence la qualité et la quantité des espèces microbiennes évoluant dans ces espaces [1]. Parmi les bactéries colonisatrices de la rhizosphère, certaines améliorent la croissance des plantes, sans entretenir une véritable symbiose avec les racines. Ces bactéries sont groupées sous le nom de PGPR « plant growth promoting rhizobacteria », incluant le groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents non symbiotique[2]

L'interaction plantes - PGPR constitue probablement un modèle original, différent et complémentaire des modèles d'interaction plantes - microorganismes les plus étudiés, tels que le parasitisme et la symbiose. Parmi ces rhizobactéries, certaines catégories peuvent procurer des effets bénéfiques pour les plantes par divers mécanismes. Il a été rapporté des effets de phytostimulation, résultant de l'amélioration des prélèvements nutritionnels ou par la production de composés activateurs de la phytostimulation et de la croissance, similaires aux phytohormones [3,4].

Les effets bénéfiques peuvent être le résultat d'un biocontrôle des agents phytopathogènes telluriques, par leur compétition trophique et par le phénomène d'antibiose. En plus des actions du biocontrôle, considérées comme spécifiques à des catégories de pathogènes ciblées, ces rhizobactéries peuvent induire des résistances systémiques générales, participant activement dans le système de défense chez les plantes [5,6, 7,8,9].

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents représentent une fraction importante des populations bactériennes colonisant différentes rhizosphères, de plantes herbacées et ligneuses. Dans le cas des légumineuses, l'interaction de ces rhizobactéries non symbiotique, a été explorée dans le sens de l'interaction avec les bactéries symbiotiques et son impact sur le processus de nodulation et de fixation de l'azote [10].

Dans le contexte de la gestion durable des écosystèmes, largement souhaitée, l'exploitation des potentialités microbiennes constitue un enjeu agro - écologique important, grâce à la compréhension des aspects fondamentaux de leur écologie qui représente une perspective dans la gestion des interactions biotiques et abiotiques, permettant ainsi d'améliorer les rendements tout en limitant le recours excessif aux intrants chimiques (engrais et pesticides).

Même si la masse des travaux de recherche, dédiée à ces rhizobactéries, est de plus en plus importante, la compréhension des mécanismes impliqués réellement dans le sol reste encore à élucider, chose indispensable pour le passage à la pratique réelle à grande échelle.

Dans nos contributions précédents, il a été démontré des effets bénéfiques diversifiés chez une collection de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces études ont concerné des expérimentations de la phytostimulation de diverses espèces végétales [11,12,13,14] et des effets de biocontrôle vis à vis de champignons phytopathogènes d'origine tellurique [11,12,13,14,15,16,17]. Dans d'autres travaux il a été mis en évidence les effets d'induction de la résistance systémique (ISR) [18, 19].

Dans le présent travail, nous proposons d'étudier, en plus de l'aspect de la phytostimulation, un autre aspect de ces rhizobactéries relatif à leur association avec des rhizobactéries symbiotiques (*Rhizobium* sp.). Les effets sur la stimulation de la croissance et la nodulation ont été étudiés à travers trois parties expérimentales :

- La première partie vise à mettre en évidence les effets bénéfiques de trois souches de *Pseudomonas fluorescens* sur la biostimulation de la croissance de trois espèces végétales : la tomate, le blé tendre et le concombre.

- La deuxième partie consiste à mettre en évidence le pouvoir colonisateur des souches de *Pseudomonas fluorescens*, faite dans des microcosmes, dans le but de montrer la compétence rhizosphérique de ces souches en association avec des plantules de tomate, de blé dur et de lin. Dans cette partie, nous avons aussi étudié l'effet de disponibilité des ions ferriques sur le pouvoir colonisateur de ces souches bactériennes.
- La troisième partie porte sur l'étude de l'impact de l'interaction de souches de *Pseudomonas fluorescens* avec des souches de *Rhizobium* sp. sur le processus de nodulation chez la fève.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES RHIZOBACTERIES

1.1 Activité microbienne rhizosphérique

Le sol est un milieu vivant siège de multiples transformations, son bon fonctionnement fait intervenir plusieurs paramètres d'ordre physiques, chimiques et biologiques qui agissent en interaction pour l'établissement d'un réseau trophique [20]. La diversité et la complexité des populations d'organismes vivants présents dans le milieu tellurique fait que chaque sol agricole, forêt, prairie, sol nu ou pâturage possède son propre réseau trophique avec un ensemble particulier d'organismes du sol, tels que les vers de terre, les insectes et de multiples autres invertébrés, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries [21].

De nombreux micro-organismes du sol sont des hétérotrophes pour le carbone et l'azote et toute une fraction de la microflore est stimulée au voisinage des racines des plantes, qui représentent un composant essentiel des écosystèmes telluriques, et qui occupent 50 à 70% de la phytomasse [22,23].

En effet si la composition végétale à la surface du sol diffère d'un endroit à un autre, il y va de même pour les organismes du sol, qui se diversifient selon la région, le climat, la succession végétative et la structure du sol. Les pâturages et les sols agricoles ont généralement un réseau trophique dans lequel prédominent les bactéries alors que les forêts ont généralement des sols dominés par les champignons. Les sols agricoles fertiles et productifs tendent à avoir des masses à peu près équivalentes de bactéries et de champignons, exprimant un certain équilibre biologique en faveur de la croissance des plantes [24].

Même s'il est admis que les microorganismes telluriques sont une partie déterminante dans la structuration des sols, leurs contributions sont capitales dans le bon fonctionnement du réseau trophique du sol. L'action microbienne recouvre les

processus de minéralisation et de transformation de la matière organique et dans la disponibilité de divers éléments minéraux nutritifs. Leurs implications sont principalement au niveau de la fourniture d'azote minéral, mais également de soufre, phosphore, potassium, magnésium, calcium, etc. [20].

La décomposition de la matière organique est effectuée principalement par les bactéries et les champignons lesquels accumulent et immobilisent les nutriments provenant de la matière organique, réduisant du même coup le lessivage, à l'exemple du calcium qui est très fortement retenu par les hyphes fongiques dans le sol [24].

D'autres organismes du sol participent également de manière plus directe au recyclage des nutriments. Les bactéries fixatrices d'azote, à l'exemple des *Rhizobium*, qui colonisent les racines des légumineuses et transforment l'azote de l'air en une forme utile et assimilable par les plantes [20].

L'implication des microorganismes dans le transfert des éléments nutritifs vers les plantes concerne aussi les champignons mycorhiziens, appelées selon le cas ectomycorhizes ou endomycorizes avec la plupart des plantes ligneuses ou herbacées [25]. Ces champignons interviennent dans le transfert des éléments peu mobiles tels que le phosphore et les oligo-éléments ; leurs rôles est particulièrement important dans les sols pauvres ou affectés par la sécheresse [26].

De plus, la présence des microorganismes dans le sol contribue à l'amélioration de la structure du sol ainsi que la dynamique de l'air et de l'eau. En effet, à mesure que les populations de bactéries augmentent, elles sécrètent des matières agglutinantes qui fixent les particules de sable, de limon, et d'argile dans des micros-agrégats (micronoyaux). Les champignons, qui peuvent couvrir des milliers d'hectares dans les forêts, lient les micros-agrégats pour former des macros-agrégats et du même coup créer des canaux pour la circulation de l'air et l'eau. Les petits canaux et pores, issu de l'activité des microorganismes, se transforment en une série de réservoirs et un réseau de transport d'air, d'eau, de nutriments, de racines et d'organismes [24].

1.2 Effet rhizosphère

La mobilisation de l'eau et d'éléments minéraux par la plante entraîne des modifications importantes des caractéristiques physicochimiques du sol. Les échanges ioniques et gazeux entre les racines des végétaux et le sol contribue à modifier de façon notable le pH, par conséquent, la biodisponibilité de nombreux éléments minéraux et nutritifs dont la solubilité varie avec le pH, comme le phosphore, ou des minéraux comme le zinc, le fer ou l'aluminium [27]. La zone du sol qui entoure les racines et qui est soumise à cette intense activité est désignée sous le nom de rhizosphère, caractérisée par un taux élevé de populations microbiennes [27,28,29,30].

Plusieurs études ont montré que la rhizosphère se compose de trois régions différentes : l'endorhizosphère qui compose le tissu de la racine, le rhizoplan qui est la surface occupée par le système racinaire et l'ectorhizosphère, qui représente le sol adjacent [29,31]. Kloepper *et al* [32] ont proposé d'écarter le terme endorhizosphère parce qu'il pourrait déterminer une zone de la niche écologique et pas exactement une zone à l'intérieur de la plante. Récemment, rhizoplan et rhizosphère sont les termes utilisés pour désigner les niches successives entourant les racines [33] (Figure 1.1).

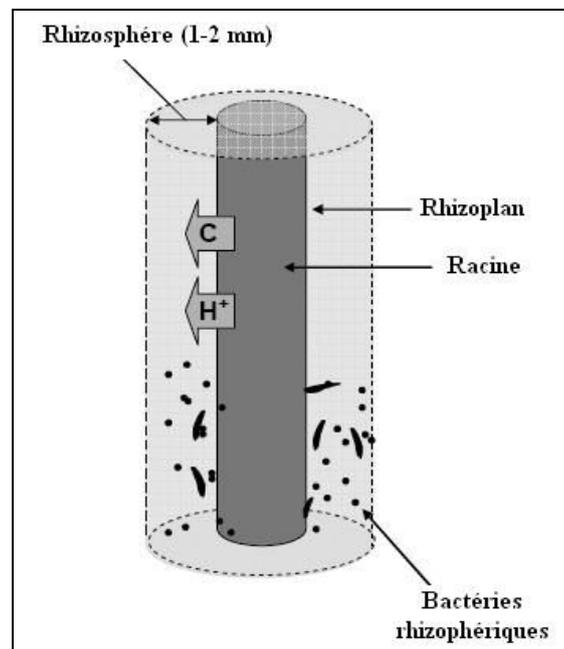


Figure 1.1 : illustration schématique de la rhizosphère adaptée de Vega [34].

C : molécule de carbone.

H⁺ : ions hydrogène.

Les systèmes racinaires modifient en effet leur environnement abiotique et biotique en libérant dans la rhizosphère des composés de diverses natures qui servent de substrats énergétiques aux communautés bactériennes [1]. La libération de composés organiques est dénommée rhizodéposition [35].

La quantité de carbone libéré dans le sol par un système racinaire n'est pas négligeable, Degenhardt *et al* [36] ont montré que 40 % des substances issues de la photosynthèse (photosynthétat) sont relâchées dans la rhizosphère.

La quantité et la qualité de la matière organique exsudée varient en fonction des espèces végétales considérées et dépendent en partie des racines (durée de vie, anatomie, morphologie, composition chimique...)[37,29,38,39,40].

Les exudats racinaires, appelés rhizodépôts, sont de nature variée (Tableau 1.1), ils favorisent la prolifération des microorganismes tout en modifiant les équilibres entre les différentes populations microbiennes [41,42,43,44,45]. Ils peuvent modifier la biogéochimie des éléments minéraux [46,47], les transferts d'eau vers les racines [48,49], la stabilité des agrégats du sol [50,51] et la colonisation d'autres espèces végétales [52].

Tableau 1.1 : Composés libérés par les racines en solution nutritive [53,54,55,56].

Famille biochimique	Composés
Hydrates de carbone	Arabinose, fructose, galactose, glucose, maltose, raffinose, rhamnose, ribose, saccharose, xylose
Acides aminés	Les 20 essentiels, acide aminobutyrique, homosérine, cystathionine
Acides aliphatiques	Acides acétique, butyrique, citrique, glycolique, malique, malonique, oxalique, propionique, succinique, tartrique, valérique
Acides aromatiques	P-hydroxybenzoïque, caféique, p-coumarique, ferulique, gentistique, protocatéchuique, salicylique, sinapique, syringique, vanillique
Acides gras	Linoléique, linolénique, oléique, palmitique, stéarique, phospholipides
Stérols	Campestrol, cholestérol, sitostérol, stigmastérol
Enzymes	Amylase, désoxyribonucléase, invertase, peroxydase, phosphatase, ribonucléase
Divers	Vitamines, hormones de croissance, auxines, cytokinines, gibbérellines

L'effet rhizosphère peut intervenir sur la morphologie, la physiologie et la composition taxonomique des communautés microbiennes, néanmoins les bactéries Gram négatives représentent une partie importante des bactéries de la rhizosphère [33], grâce à leur rapidité de croissance, leur capacité à utiliser les différents acides aminés et les glucides dissous dans l'eau ainsi leur résistance à certains antibiotiques [57].

Généralement les *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, et *Agrobacterium* et *Rhizobium* sont assez communs dans la rhizosphère [57]. Cependant la polyvalence nutritionnelle des *Pseudomonas* a été rapportée dans de nombreux travaux [58,59], leur permettant de compenser leur handicap lié à l'absence de formes de conservation développées par d'autres groupes bactériens tel que *Bacillus*. Un meilleur développement a été constaté dans la rhizosphère que dans le sol nu [60].

Benizri *et al* [61] ont montré que les exsudats de la rhizosphère du maïs peuvent influencer la production de l'acide indole acétique par la souche de

Pseudomonas fluorescens. De plus l'effet de la rhizosphère sur les *Pseudomonas* a été détecté après 20 jours dans le cycle de la croissance des graines de soja [33].

Toutefois leur capacité à produire différents métabolites secondaires leur confère une meilleure colonisation rhizosphérique [62]. Mazzola *et al* [63] ont indiqué que les phenazines produites par les *Pseudomonas* spp fluorescents contribuent à la survie et la concurrence de la souche 2-79 de *Pseudomonas fluorescens* et la souche 30-84 de *Pseudomonas aureofaciens*.

1.3 Importance des *Pseudomonas* spp. fluorescents

Parmi les bactéries rhizosphériques, on trouve les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) [2]. Ces bactéries sont considérées comme promotrices de la croissance des plantes, grâce à leur position stratégique à l'interface sol – racines [9].

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents appartiennent aux rhizobactéries à oxydase positif [64], incluant diverses espèces principalement *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens* qui représentent une partie importante du genre *Pseudomonas* dans la rhizosphère [65,66], *Pseudomonas chlororaphis* [67,68] et des espèces décrites ultérieurement comme par exemple *Pseudomonas jassenii* [69] ou *Pseudomonas lini* [70].

Plusieurs études ont montré la capacité des *Pseudomonas* spp. fluorescents à améliorer la croissance et le développement des végétaux, d'une façon directe, par la phytostimulation [71,72,73,74,75] ou indirectement par le biocontrôle d'agents parasites de maladies d'origine tellurique [8, 72,66,76].

Même si le mécanisme basal est prérequis pour le développement d'une activité microbienne rhizosphérique, les actions bénéfiques de ces bactéries sont souvent le résultat d'un métabolisme secondaire. Les métabolites secondaires impliqués chez ces bactéries sont divers et dépendent des caractéristiques intrinsèques des souches bactériennes et leurs interactions avec les conditions environnementales à l'exemple des sidérophores, les antibiotiques, les substances de croissance et les phénazines [8].

1.3.1 Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents

1.3.1.1 Stimulation de la croissance végétale

De nombreux travaux effectués sur plusieurs espèces végétales font état d'une stimulation de la croissance après leur bactérisation avec des souches de *Pseudomonas* spp fluorescents [77,78,79,80]. La mise en évidence de cette stimulation a été rapportée dans différentes conditions expérimentales et à divers stades phénologiques des plantes : sur le développement de vitroplants, pendant la rhizogénèse, sur la faculté germinative [81,82,83,84,85], sur la levée et l'élongation des tiges et sur l'accroissement de la phytomasse de plantes herbacées et ligneuses [86].

Les mécanismes qui induisent ces gains de croissance sont souvent la conséquence d'une production ou d'un changement dans la concentration de certaines métabolites secondaires, tels que l'acide indolacétique (AIA) [87], l'acide gibbérellique [88], l'éthylène [89,90] l'acide succinique [91] et certaines vitamines [92].

En effet l'éthylène est un élément important dans la croissance des plantes ; où il assure la médiation d'un large éventail de réponses différentes chez les plantes [89]. La présence de cet élément dans la plante peut être stimulante ou inhibitrice selon sa concentration, la nature du processus physiologique et la phase de la croissance des plantes. Tout facteur de stimulation qui provoque un changement dans le niveau endogène de l'éthylène dans les tissus d'une plante peut modifier sa croissance et son développement [89]. Le changement de concentration de l'éthylène s'effectue par hydrolyse du 1-aminocyclopropane-1- Acide carboxylique (ACC), qui est le précurseur immédiat de l'éthylène sur les plantes, l'enzyme catalysant cette réaction (ACC deaminase) s'hydrolyse en α -ketobutyrate et en ammoniac [90].

Les *Pseudomonas* spp fluorescent contribuent à l'amélioration de l'alimentation minérale des plantes essentiellement pour le fer, le phosphore, l'azote et le manganèse [8,72,73,74].

La sécrétion des sidérophores par ces rhizobactéries est l'un des mécanismes spécifique à l'acquisition d'éléments minéraux [8]. En effet Le complexe fer - sidérophores ainsi formé représente une source de fer pour les plantes qui peuvent l'assimiler facilement [93]. Demage *et al* [94] ont montré grâce à l'utilisation du Fe^{55} que la plante peut assimiler le complexe fer - sidérophores. Briat et vert [95] ont observé que la tomate assimile les ions ferriques de façon plus efficace en présence de ce type de bactéries.

Certains *Pseudomonas* seraient capables de solubiliser le phosphore organique du sol, qui est abondant mais sous une forme inutilisable par les végétaux [96,97,98,99]. L'acquisition de cet élément se fait soit par minéralisation des phosphores organiques grâce à des phosphatases, soit par une solubilisation des phosphates organiques associées à la libération d'acides organiques et inorganiques, et l'excrétion de protons qui accompagne l'assimilation du NH_4^+ [100,101,102,34].

Les *Pseudomonas* spp fluorescent solubilisent le manganèse grâce à des agents chélateurs, tels que les composées phénoliques et les acides organiques qui forment avec le manganèse un complexe soluble, qui évite sa précipitation [102]. La réduction du manganèse pourrait avoir des effets bénéfiques non seulement sur la nutrition des plantes, mais aussi sur le biocontrôle des pathogènes d'origine telluriques [102,103].

En outre, certaines souches de *Pseudomonas* spp fluorescent stimulent la nodulation chez les légumineuses associées aux rhizobiums [104], qui ont été appelées « Nodulating promoting rhizobacteria » (NPR).

1.3.1.2 Induction systémique de la résistance des plantes

Chez les plantes, les réactions de défense sont variables et réagissent de façon spécifique selon la nature du bioagresseur et l'état physiologique de la plante. Divers mécanismes de défense sont connus chez les végétaux [8,105,5].

Les études réalisées par Van Loon *et al* [5], ont démontré que certaines rhizobactéries peuvent induire l'expression des capacités défensives chez certaines plantes. Ce mécanisme décrit comme l'induction de la résistance systémique (ISR) a fait l'objet d'autres études [105,106,107], en mettant en évidence le renforcement des systèmes de défenses chez plusieurs plantes, tels que le radis, le tabac, l'haricot et le concombre [108,109,110,111].

La souche bactérienne CHAO appartenant à ce groupe provoque une augmentation du système racinaire du tabac en lui procurant une résistance naturelle vis à vis de *Thielaviopsis basicola* [112].

Par ailleurs Défago *et al* [113] suggèrent que la production d'HCN (acide cyanhydrique) par cette souche provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et de sa résistance naturelle.

Il a été démontré également que les *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent jouer le rôle d'éliciteurs pour l'activation des gènes de défense des plantes [114]. La caractérisation des produits des gènes de défense chez les plantes a permis de montrer l'existence de deux catégories majeures de modifications systématiquement retrouvées : il s'agit d'une modification structurale de la paroi cellulaire et des changements physiologiques et biochimiques [115,116]. Lors d'une inoculation par une rhizobactérie, la paroi cellulaire des végétaux pouvait être renforcée par des dépôts de composés phénoliques [117,118], de polysaccharides et par l'accumulation rapide de la lignine [119]. Chez les plantes inoculées par des rhizobactéries, il a été noté une très intense stimulation des voies métaboliques secondaires conduisant notamment à l'accumulation des protéines PR "Pathogenesis related proteins" (Chitinases, β -1,3 glucanases) [120,121,122,123,124], la synthèse de phytoalexines [105,122,123,124], de

Peroxydases [124], de phenylalanine ammonialyase (PAL) [12] et de Chalcone synthase [122].

1.3.1.3 Protection des plantes contre les maladies d'origines telluriques

L'utilisation de bactéries du groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques [65,125,126,7,90,5,127].

Certaines souches de ce groupe exercent une activité antagoniste contre divers microorganismes pathogènes et délétères, contribuant à la réduction de leur croissance, diminuant ainsi la fréquence des infections racinaires et des plantes malades [128,129]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont considérés comme agents potentiels de biocontrôle des maladies d'origine tellurique. Plusieurs études ont démontré leur efficacité en tant qu'inoculats microbiens [130,131,132,129,133,134,72]. Ces souches bénéfiques peuvent coloniser la graine et la surface des racines aux mêmes positions que les mycètes phytopathogènes qu'ils contrôlent [75,135].

Des résultats intéressants en matière de biocontrôle ont été obtenus dans le cas du piétin échaudage des céréales [136], les fontes de semis du concombre et du blé [137,138,139], la pourriture racinaires de la pomme de terre due à *Erwinia Carotovora* [140], quelques maladies fongique des agrumes [141] et les fusarioses vasculaires provoquées par divers formes spécifiques de *Fusarium oxysporum* [142,143,16,12].

La suppression des maladies d'origine tellurique par ces rhizobactéries implique l'implication de plusieurs mécanismes et modes d'action spécifiques [8]. Cependant aucun de ces mécanismes n'est exclusif, certains agents de biocontrôle utilisent une combinaison de plusieurs mécanismes [72].

1.3.1.4 Antibiose

L'antibiose exercée par certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents à d'abord été mise en évidence *in vitro* [8]. Ainsi, plusieurs antibiotiques

ont été isolés : la tropolane [144], la pyoluteorine et la pyrrolnitrine [145,146], l'acide phénazine-1-carboxylique [130], et le 2-4 diacetylphloroglucinol [147,148].

Certaines études ont conclu que les phénazines et les phloroglucinols inhibent l'agent pathogène *in vitro* et *in situ* [130,149].

Ces métabolites manifestent des propriétés antagonistes à l'encontre de différents genres fongiques : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Diyaploia*, *Helminthosporium*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* [8, 150, 151,152, 153,154].

Toutefois, d'autres molécules ont été identifiées appartenant à la classe des lipopeptides cycliques [5], telles que la viscosinamide [156] qui empêche l'infection de la betterave sucrière par *Pythium ultimum* [157] et la tensine [157], ainsi que l'amphisine et l'oomycine A [72].

Récemment, Kaur *et al* [158] suggèrent que l'acide D-gluconique est le plus important antifongique produit par la souche AN5 de *Pseudomonas* spp. agent de biocontrôle du piétin-échaudage des céréales.

La régulation et la synthèse des antibiotiques impliquent l'intervention d'un nombre important de gènes [159,160,5,161].

Il est à noter que la synthèse des antibiotiques est étroitement liée au métabolisme cellulaire, qui est à son tour liée à la disponibilité des éléments nutritifs ainsi que d'autres stimuli environnementaux [162], tels que les différents minéraux, les sources de carbone, le pH, la température ainsi que d'autres paramètres de l'environnement [163,164,165,166,167,168,169].

En effet certains oligoéléments, particulièrement le zinc, et le carbone influencent la stabilité génétique des bactéries qui affecte par la suite l'aptitude de ces dernières à synthétiser ces métabolites secondaires [140].

1.3.1.5 La synthèse des sidérophores

La production de sidérophores est un mécanisme hautement spécifique développé par la plupart des micro-organismes [171]. Le terme sidérophores vient du grec « sideros » qui signifie « porteur de fer ». Ces métabolites sont de faible poids moléculaire (500 - 1500 Daltons), chélatrices des ions ferriques et servant à les transporter à l'intérieur de la cellule microbienne [126].

La synthèse de sidérophores n'a lieu qu'en situation de carence en fer [172], puisque dans les conditions d'aérobie et de pH neutre, le fer se trouve sous des formes oxydées et polymérisées d'hydroxyde de fer $Fe(OH)_3$ totalement insoluble, ce qui rend son assimilation difficile pour les bactéries [173].

La synthèse de sidérophores par les *Pseudomonas spp.* fluorescents a été rapportée tôt par Maurer *et al* [174], depuis plusieurs études ont décrit la structure de ces sidérophores [175,176,177,178,179].

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents produisent des sidérophores appelés pyoverdine [180] ou pseudobactine [175]. Cette dernière est constituée d'une chaîne peptidique d'acides aminés, liée à un chromophore fluorescent responsable de la fluorescence jaune-vert caractéristique de ces souches [181] (Figure 1.2).

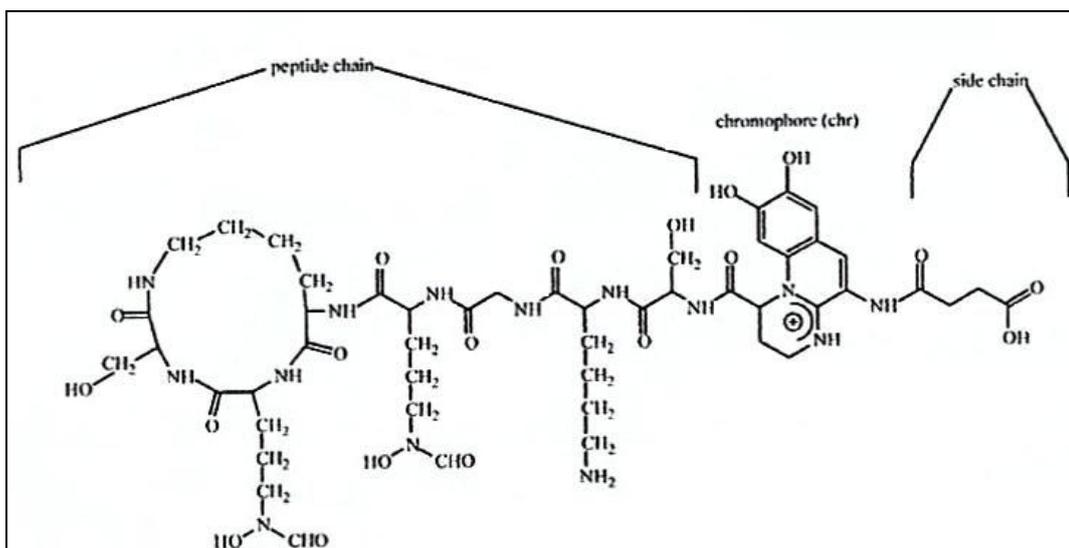


Figure 1.2 : structure schématique des pyoverdines [182,183].

Certaines souches produisent un composé appelé ferribactine qui pourrait être un produit de dégradation ou un précurseur de la pyoverdine [184].

Un autre sidérophore dérivé de l'acide salicylique, le pseudomonine, produit par les souches de *Pseudomonas fluorescens* [185,186].

Toutefois, certaines souches de *Pseudomonas* spp produisent un autre sidérophore non fluorescent qui est la pyocheline avec une affinité inférieure pour le fer [187], il s'est avéré que ce dernier est produit par la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens* [170].

Il est noter que *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens* ont une capacité remarquable d'utiliser un large spectre de pyoverdines secrétés par d'autres micro-organismes, tandis que leurs pyoverdines ne peuvent pas être utilisés par ces derniers [188,189,190,191].

La production de sidérophores dans la rhizosphère par les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* est très dépendante des facteurs environnementaux à savoir, la température, le pH du sol, le carbone, l'azote, le phosphore et la concentration en micro-éléments y compris les ions ferriques [192,193,194,170].

En plus des différents éléments cités, le zinc et le cadmium semblent stimuler la production des pyoverdines [195,196,193], tandis que le vanadium se présente comme un facteur qui diminue la production des pyoverdines ainsi que l'augmentation du fer dans le milieu [197,198].

La production de pyoverdines n'est pas dépendante seulement de la présence ou l'absence du fer, elle est régulée par la production d'autres métabolites secondaires [170,199,200].

Moore *et al* [201] ont identifié les gènes codant pour la biosynthèse des pseudobactines montrant ainsi la complexité de cette procédure (Figure 1.3).

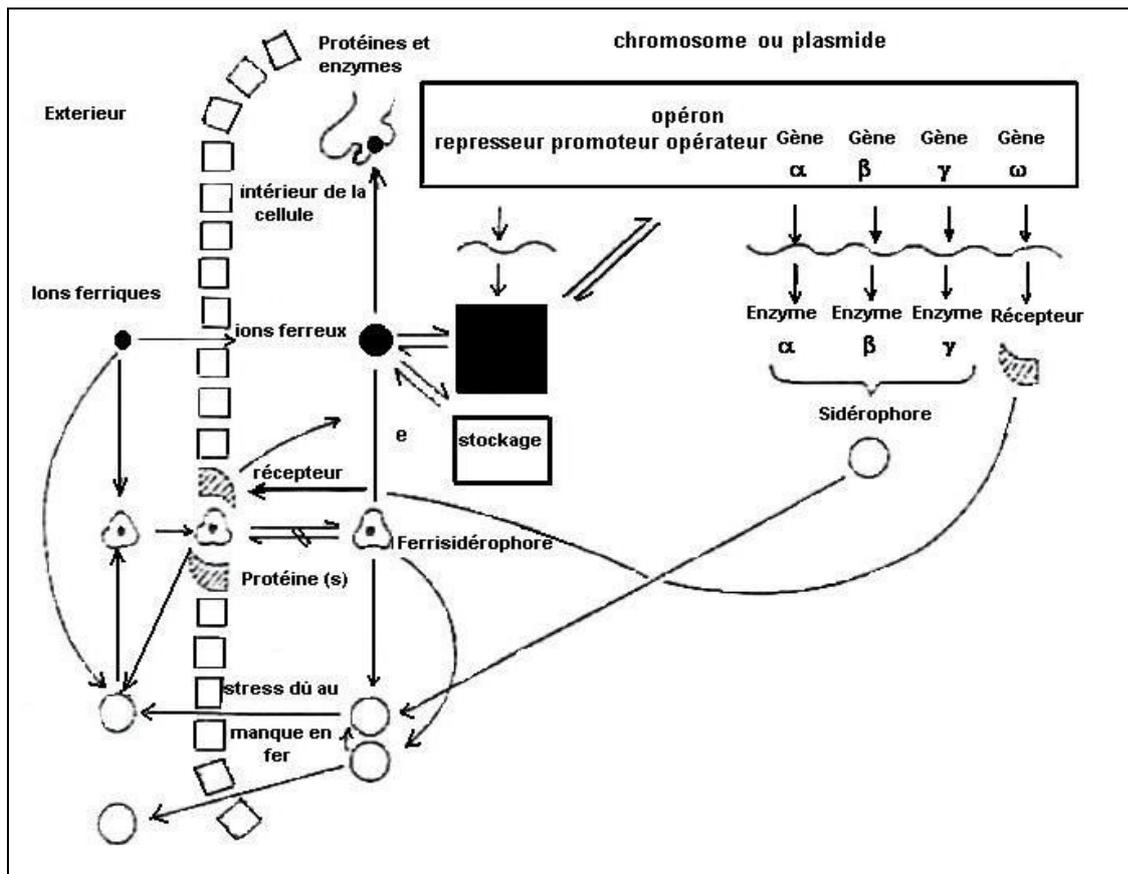


Figure 1.3 : Assimilation du fer chez les microorganismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs [202].

1.3.1.6 Compétition trophique

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont l'aptitude d'utiliser une large gamme de composés organiques, leur conférant une capacité d'adaptation remarquable à des environnements variés [203,204,60]. Cette capacité d'assimilation constitue un avantage compétitif particulier [60].

La concurrence pour les éléments nutritifs est un mécanisme fondamental dans le biocontrôle des maladies telluriques [205]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent atteindre la surface des racines par une mobilité active, facilitée par la présence de flagelles, et guidée par le chimiotactisme [172,3,206,207,208,209].

La compétition trophique instaurée par les *Pseudomonas* spp. fluorescents porte particulièrement sur la compétition pour le fer [210,126,211], par la synthèse des sidérophores et de protéines membranaires réceptrices[124].

En plus les *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent une capacité à utiliser le mucilage excrété par le système racinaires des plantes comme source de carbone [212].

1.4 Association symbiotique légumineuses – *Rhizobium*

Les interactions entre les rhizobactéries et les plantes sont diverses, complexes et fréquentes et elles ne sont pas un événement rare ou accidentel [213]. Ces interactions sont conditionnées par les rhizodépôts des plantes qui vont influencer la qualité et la quantité des microorganismes. En effet, selon les possibilités métaboliques de ces rhizobactéries, ils vont s'adapter au milieu et en être dépendants [1].

Selon la nature de cette dépendance, on peut distinguer deux grandes catégories de microorganismes chimioorganotrophes, les microorganismes saprophytes et symbiotiques [214].

L'association symbiotique entre les légumineuses et les rhizobactéries est l'une des associations les plus étudiées, du fait de son importance agro-économique. Cette association fut décrite par Boussingault en 1838 [215].

De nombreuses espèces appartenant à plus de 90 genres bactériens ont été considérés comme diazotrophes, c'est-à-dire capable de réduire l'azote moléculaire en ammonium avec une efficacité plus ou moins grande, ont été dénombrés [215].

Le nombre des légumineuses est estimé entre 17000 ou 19000 espèces [216], alors que le nombre de bactéries nodulatrices identifiées est faible [217]. A ce jour, 62 espèces de rhizobactéries nodulatrices appartenant à douze genres ont été recensées. La plupart des espèces font partie du genre *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et, *Sinorhizobium* récemment rebaptisée *Ensifer* [218,217] (Tableau 1.2). Il est à noter que plusieurs espèces de rhizobactéries nodulatrices des légumineuses ont été nouvellement identifiées (Tableau 1.3).

Les rhizobactéries nodulatrices sont actuellement classés dans le phylum des Protéobactéries, en majorité dans la classe Alphaprotéobactéries, qui contient six familles de rhizobactéries nodulatrices dans le même ordre (Rhizobiales), telles qu'il est énuméré dans la hiérarchie ci-dessous [219,217].

Rhizobiales

Rhizobiaceae

Rhizobium

Ensifer (Sinorhizobium)

Brucellaceae

Ochrobactrum

Phyllobacteriaceae

Phyllobacterium

Mesorhizobium

Bradyrhizobiaceae

Bradyrhizobium

Hyphomicrobiaceae

Azorhizobium

Devosia

Methylobacteriaceae

Methylobacterium

Il y a aussi trois rhizobactéries nodulatrice appartenant aux deux familles de Betaproteobactéries, qui sont tous dans l'ordre *Burkholderiales*, comme indiqué ci-dessous [219,217].

Burkholderiales

Burkholderiaceae

Burkholderia

Cupriavidus

Oxalobacteraceae

Herbaspirillum

Bien que cela reste à confirmer, il est possible que certains Gammaproteobactéries puissent provoquer des nodules chez les légumineuses [220,217].

Tableau 1.2 : classification des rhizobactéries symbiotique fixatrices d'azote [217].

Espèces et références	Espèces et références
<p><i>Rhizobium daejeonense</i> [221] <i>Rhizobium etli</i> [222] <i>Rhizobium galegae</i> [223] <i>Rhizobium gallicum</i> [224] <i>Rhizobium giardinii</i> [224] <i>Rhizobium hainanense</i> [225] <i>Rhizobium huautlense</i> [226] <i>Rhizobium indigoferae</i> [227] <i>Rhizobium leguminosarum</i> [228,229*] <i>Rhizobium loessense</i> [230] <i>Rhizobium mongolense</i> [231] <i>Rhizobium sullae</i> [232] <i>Rhizobium tropici</i> [233] <i>Rhizobium undicola</i> [234,235*] <i>Rhizobium yanglingense</i> [236]</p>	<p><i>Ensifer abri</i> [237] <i>Ensifer adhaerens</i> [235,218*] <i>Ensifer americanum</i> [239] <i>Ensifer arboris</i> [240, 218*] <i>Ensifer fredii</i> [241, 218*] <i>Ensifer indiaense</i> [237] <i>Ensifer kostiensis</i> [240, 218*] <i>Ensifer kummerowiae</i>[227, 218*] <i>Ensifer medicae</i>[242, 218*] <i>Ensifer meliloti</i> [243, 218*] <i>Ensifer sahelii</i> [244, 218*] <i>Ensifer terangae</i> [244, 218*] <i>Ensifer xinjiangense</i> [245, 218*]</p>
<p><i>Mesorhizobium amorphae</i> [246] <i>Mesorhizobium chacoense</i> [247] <i>Mesorhizobium ciceri</i> [248,249*] <i>Mesorhizobium huakuii</i> [250, 249*] <i>Mesorhizobium loti</i> [251, 249*] <i>Mesorhizobium mediterraneum</i> [252, 249*] <i>Mesorhizobium plurifarum</i> [253] <i>Mesorhizobium septentrionale</i> [254] <i>Mesorhizobium temperatum</i> [254] <i>Mesorhizobium tianshanense</i> [255, 249*]</p>	<p><i>Bradyrhizobium canariense</i> [256] <i>Bradyrhizobium elkanii</i> [257] <i>Bradyrhizobium japonicum</i> [258,259*] <i>Bradyrhizobium liaoningense</i> [260] <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> [261]</p>
<p><i>Burkholderia caribensis</i> [262] <i>Burkholderia cepacia</i> [262] <i>Burkholderia phymatum</i> [262] <i>Burkholderia tuberum</i> [262]</p>	<p><i>Azorhizobium caulinodans</i>[263] <i>Azorhizobium doebereineriae</i> [264]</p>
<p><i>Cupriavidus taiwanensis</i> [265,266*]</p>	<p><i>Devosia neptuniae</i> [267]</p>
<p><i>Herbaspirillum lusitanum</i> [268]</p>	<p><i>Phyllobacterium trifolii</i> [268]</p>
<p><i>Methylobacterium nodulans</i> [269]</p>	<p><i>Ochrobactrum lupini</i> [270]</p>

* : indique la publication originale, suivant la référence de reclassement ultérieur.

Tableau 1.3 : classification des nouvelles rhizobactéries symbiotiques fixatrices d'azote.

Espèces	Références
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i> <i>Rhizobium lusitanum</i>	[271] [272]
<i>Ensifer mexicanus</i>	[273]
<i>Mesorhizobium albiziae</i> <i>Mesorhizobium thiogangeticum</i>	[274] [275]
<i>Burkholderia nodosa</i> <i>Burkholderia mimosarum</i>	[276] [277]
<i>Ochrobactrum cytisi</i>	[278]

Ces rhizobactéries peuvent fixés l'azote atmosphérique (N₂) et le réduire en ammoniacque (NH₄OH) assimilable par la plante. Grâce à cette symbiose, les plantes sont capables d'utiliser l'azote atmosphérique et de l'intégrer dans la structure des protéines, ainsi pouvoir survivre dans des sols pauvres en azote. Une estimation globale indique que 90. 10⁶ tonnes d'azote par an sont fixées biologiquement à partir de l'air [279]. De même les bactéries profitent de cette interaction par l'acquisition de molécules carbonées produites par la plante par voie de photosynthèse [215].

La mise en place de cette association symbiotique implique une reconnaissance spécifique entre les deux organismes à savoir la plante hôte et la bactérie. En effet, chaque espèce de *Rhizobium* possède un spectre d'hôte bien définie [215]. Ce spectre peut être très étroit, comme dans le cas de *Sinorhizobium meliloti*, qui n'est capable de noduler que des légumineuses des genres *Medicago*, *Melilotus* ou *Trigonella*, ou plus large, comme pour la souche de *Rhizobium* sp. NGR234, qui nodule plus de 70 genres de légumineuses différents, ainsi que des plantes non légumineuses de la famille des Ulmacées, du genre *Parasponia* [215].

1.5 Processus de nodulation

L'association *Rhizobium*-légumineuse génère la formation d'organes nouveaux fortement différenciés appelé nodules, ce développement est sous le contrôle génétique des deux organismes ou en compte plus de 40 gènes végétaux et 50 gènes bactériens impliqués dans cette organogenèse [280].

Le nodule comporte des structures hyperplasiques et hypertrophiques dérivées des tissus du cortex racinaire, à la suite d'échanges de signaux moléculaires entre ces bactéries et leurs plantes hôtes [281,282,283,284,285,286,287].

L'organogenèse peut donner deux types de nodosités, l'une est dite de type déterminé avec une forme sphérique rencontrée chez le soja, le haricot et la fève ; et l'autre est de type indéterminé, avec une forme allongée trouvée sur luzerne, le pois et le trèfle. Ces nodules ont la particularité d'avoir un méristème persistant qui provoque continuellement la division de nouvelle cellule (Figure 1.4) [215,287].

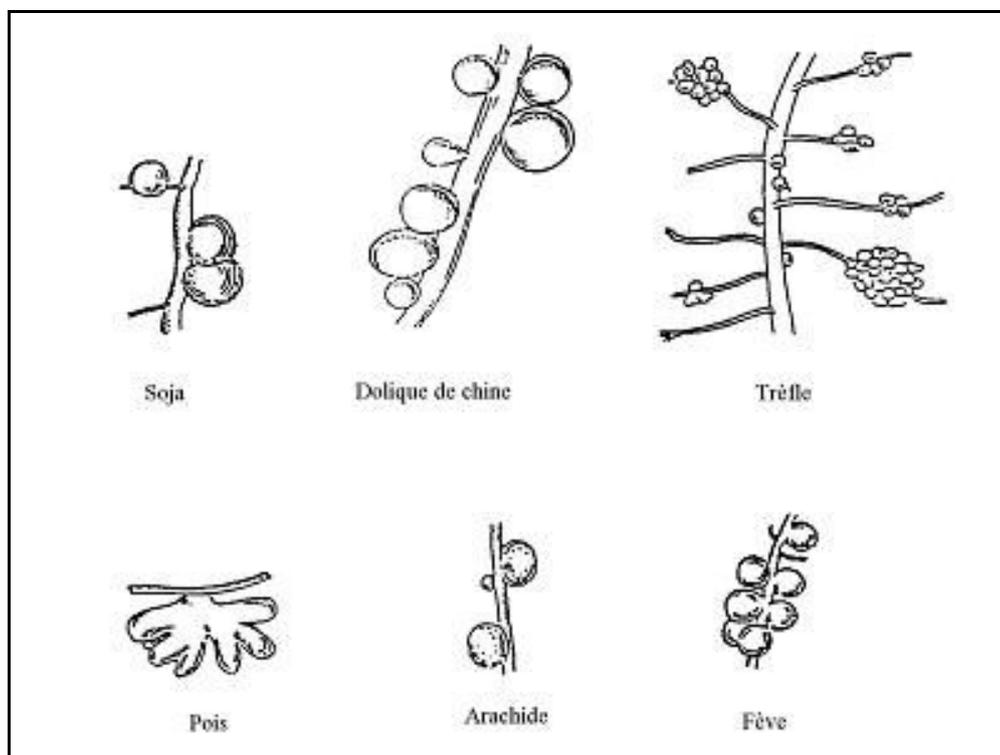


Figure 1.4 : Les différentes formes des nodules chez les légumineuses [288].

1.5.1 Structure et Rôle des flavonoïdes

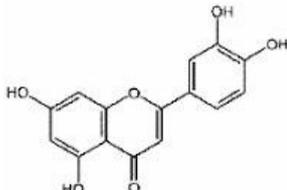
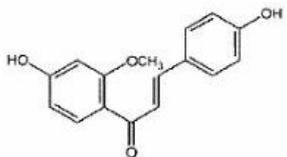
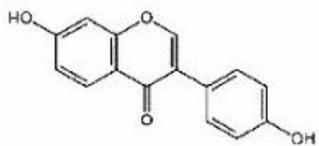
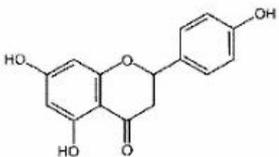
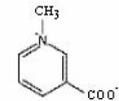
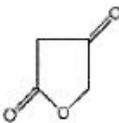
La symbiose fixatrice d'azote entre les bactéries du sol du genre *Rhizobium* et les légumineuses est établie par une signalisation réciproque entre les deux partenaires, aboutissant à une cascade d'événements d'ordre morphologiques et biochimiques [287].

Parmi les exsudats racinaires on trouve diverses substances telles que le CO₂, des glucides, des acides aminés, des acides organiques, des hormones, des vitamines, les bêtaïnes et des substances phénoliques telles que les flavonoïdes (Tableau 1.4).

1.5.2 Structure et synthèse du facteur Nod

Les flavonoïdes et les bêtaïnes issues des exsudats racinaires des plantes, induisent chez les souches de *Rhizobium* l'activation de certains gènes appelé gènes *nod* responsable de la production d'une substance appelé lipochitooligosaccharides (LCO_s) [289,290], communément appelé facteurs Nod, qui a été déterminé initialement par Lerouge *et al* en 1990 [291] (Figure 1.5) (Tableau 1.4).

Tableau 1.4 : Caractéristiques de quelques flavonoïdes et autres substances produites par *Rhizobium* [292].

Catégorie	Nom/activité	Structure spécifique/ou formule chimique
Flavone	Luteolin Flavone synthétisé par <i>Medicago</i> spp. Active sur <i>Sinorhizobium meliloti</i>	
Chalcone	4,4'-Dihydroxy-2'-methoxychalcone chalcon synthétisé par <i>Medicago</i> spp.	
Isoflavone	Daidzein isoflavone active sur <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	
	Génistein isoflavone synthétisé par <i>Glycine max</i> et <i>Glycine soja</i> Active sur <i>Ensifer fredii</i>	5,7,4'-Trihydroxyisoflavone
Flavanone	Naringenin Flavanone active sur <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv <i>vicia</i>	
	Apigenin Flavanone synthétisé par <i>Vicia fabea</i> et <i>Pisium sativa</i> active sur <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv <i>vicia</i>	5,7,3',4'-TetrahydroxyFlavanone
Flavonol	Flavonol synthétisé par Légumineuses tropicales <i>Parasponia</i> spp. <i>Rhizobium</i> sp.NGR234	5,7,3'-Trihydroxy-flavonol
Substance non Flavonoïdes	Trigonilline (betaïne)	
	Acide tetronique(acide aldonique)	

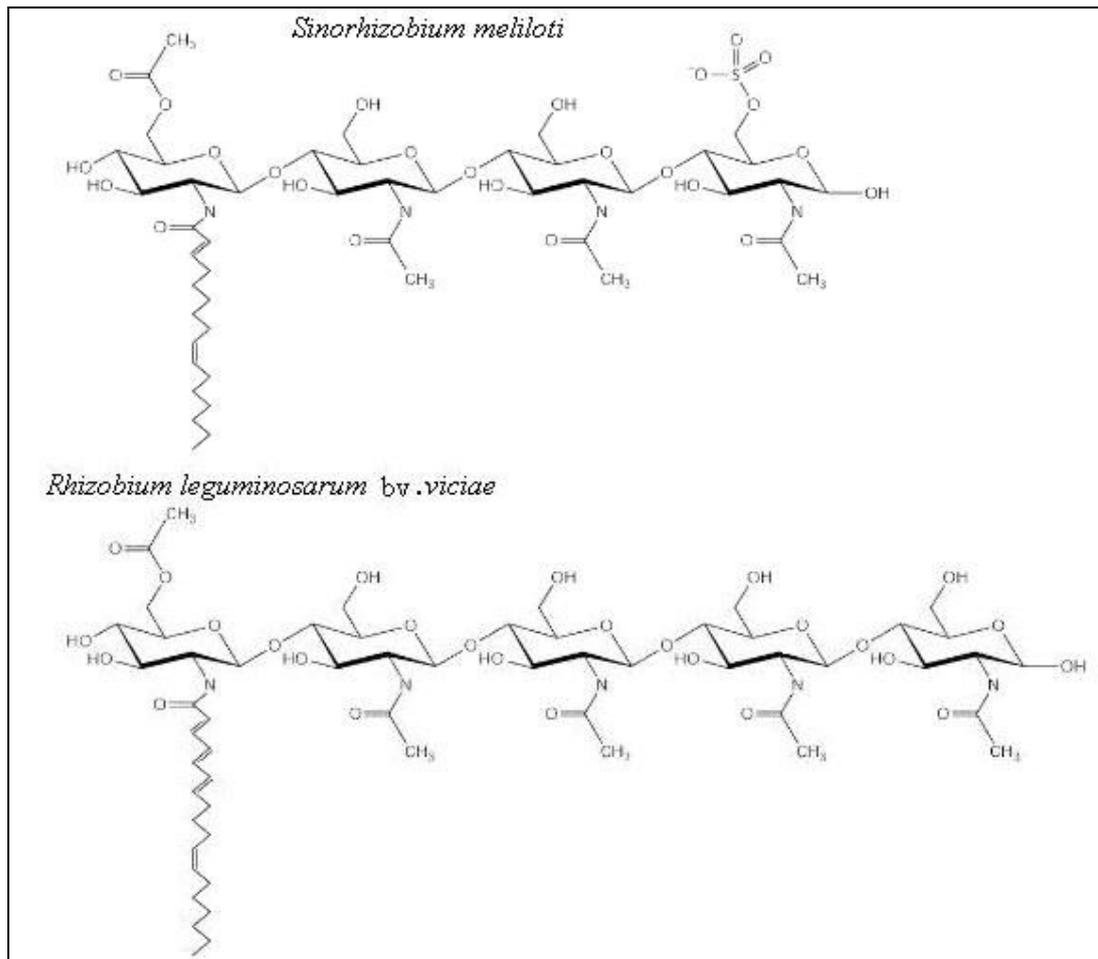


Figure 1.5 : Structure du facteur Nod chez la souche *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* et la souche *Sinorhizobium meliloti* [293].

L'analyse génétique de diverses espèces de rhizobium a montré que les gènes responsable de la synthèse des facteurs Nod se situe sur le plasmide sym [294]. Ces gènes sont organisés en opéron [295], qui regroupe trois catégories de gènes :

- les gènes régulateurs (*nod D*) : codent pour la synthèse des protéines constituant le facteur de transcription, ces protéines ont la capacité de se lier aux flavonoïdes spécifiques secrétées par la plante hôte [296]. Chez les Rhizobiums, ces gènes s'expriment de manières constitutives. Les facteurs de transcription sont donc continuellement synthétisés, qu'elle soit la bactérie en symbiose ou non [297, 298,299,300,301,302,303].

- Les gènes communs (*nod A, B, C*) : ces gènes sont présents chez tous les Rhizobiums, codant pour des enzymes catalysant la synthèse de la structure de base communes à tous les facteurs Nod (synthèse du squelette de la molécule) [297,308, 309], Ces gènes *nodABC* jouent un rôle absolument essentiel dans la formation des nodosités. Une mutation dans l'un de ces gènes rend la bactérie incapable d'établir une relation symbiotique.
- Les gènes spécifiques : on rencontre différents gènes spécifiques chez différents genres de bactéries, leur rôle étant de coder pour des enzymes catalysant la synthèse du facteur de nodulation (modification du squelette de la molécule) [310,311]. Ces gènes sont responsables de la spécificité qui existe entre les souches de Rhizobium et leur plante hôte, on dénombre plusieurs gènes spécifiques responsable de ces modifications à savoir [284] :
 - Acides gras et 6-O Glycosylation (*nodEF*).
 - Arabinosylation (*noeC*).
 - Fucosylation (*nodZ, nolK*).
 - Sulfation (*nodH, noeE*).
 - Acétylation (*nodL, nodX, nolL*).
 - N méthylation et carbamoylation (*nodS, nodU, nolO*).
 - 2-O méthylation (*noeI*).

Par exemple les facteurs Nod produits par *Sinorhizobium meliloti* sont modifiés par un groupement sulfate qui est incorporé par la sulfotransférase bactérienne NodH [310,312] Ce groupement sulfate est absolument nécessaire à la reconnaissance par la luzerne, qui est l'hôte naturel de *Sinorhizobium meliloti*. En effet, en absence du groupement sulfate, les facteurs Nod de *Sinorhizobium meliloti* sont inactifs sur la luzerne, alors que, de façon étonnante, ils deviennent partiellement actifs sur des plantes normalement non hôtes telles que la vesce [310]. Ce phénomène est, en fait, dû à la ressemblance existant entre les facteurs Nod non sulfatés de *Sinorhizobium meliloti* et les facteurs Nod produits naturellement par

Rhizobium leguminosarum bv. *viciae*, dont la vesce est la plante-hôte (Figure 1.5).

La présence de flavonoïdes dans la rhizosphère provoque, à des concentrations extrêmement faibles de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-12} M, des modifications morphologiques de la racine permettant aux Rhizobiums de la coloniser [291,309,310,311,312, 313,314] (Figure 1.6).

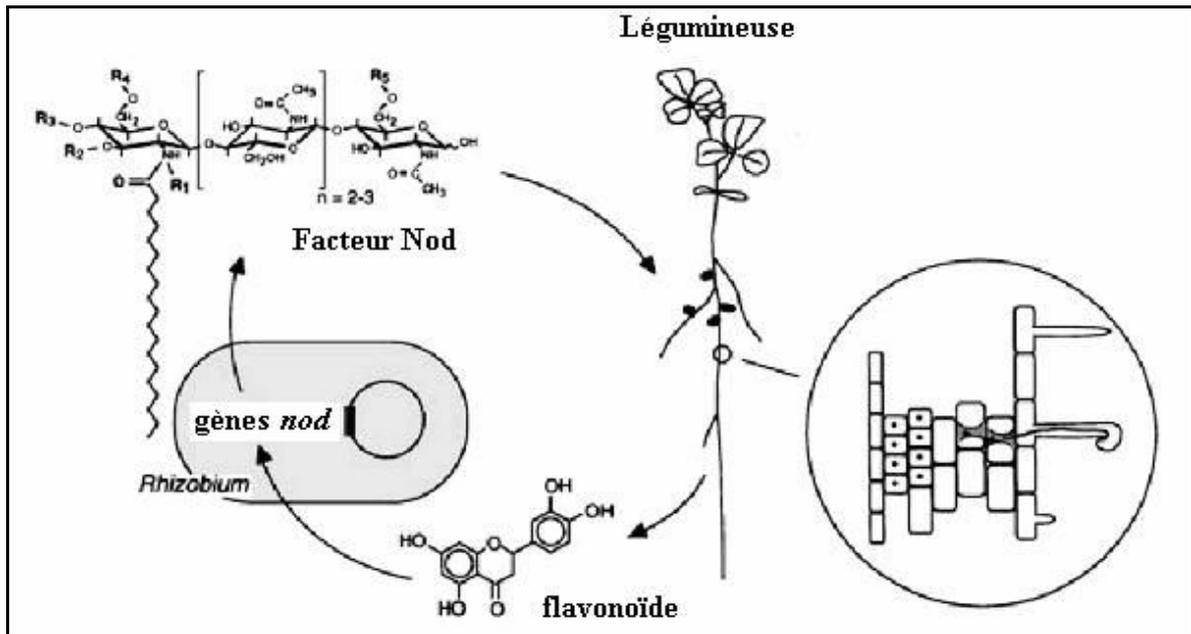


Figure 1.6 : Echange moléculaire entre rhizobium et les légumineuses dans le Processus de nodulation [315].

1.5.3 Etapes du développement du nodule

D'après Djordjevic [316] le développement des nodules se fait en 4 étapes bien distinctes (Figure 1.7).

La première étape survient après 24 heures de l'infection où le poil absorbant se courbe ; seuls les jeunes poils absorbants peuvent être courbés pour entourer les cellules bactériennes ; les Rhizobiums commencent la colonisation en sécrétant le facteur Nod, qui induit à la fois la courbure du poil absorbant et une division des cellules corticales de la racine [314,317,318]. L'invagination de la paroi du poil

absorbant donne naissance à un cordon d'infection ; c'est une structure tubulaire dans laquelle les Rhizobiums sont alignées.

La deuxième étape, après 48 heures de l'infection, les bactéries se multiplient et progressent vers les cellules végétales en division.

La troisième étape, débute après 72 heures de l'infection, où le cordon d'infection rejoint les cellules en division en traversant trois à six couches de cellules corticales. On constate au fond des ramifications du cordon la différenciation de certaines cellules corticales qui se transforment en un méristème nodulaire formant ainsi le nodule primaire.

La quatrième étape, environ 7 jours après l'infection, un nodule mature est produit et divisé en plusieurs zones :

- Une zone méristématique du nodule où se trouve des cellules végétales qui se multiplient.

- Une zone d'infection qui contient des bactéries qui ne sont pas fixatrices d'azote et qui forment le cordon d'infection.

- Une zone de fixation de l'azote qui contient des bactéroïdes fixatrices d'azote atmosphérique (N_2) en ammoniaque (NH_4OH), ces bactéries sont issues de la division et la différenciation des rhizobium, constituant ainsi la majorité des bactéries du nodule.

- Une zone de sénescence où se trouvent des bactéries en fin de vie qui ne sont plus capables de fixer l'azote.

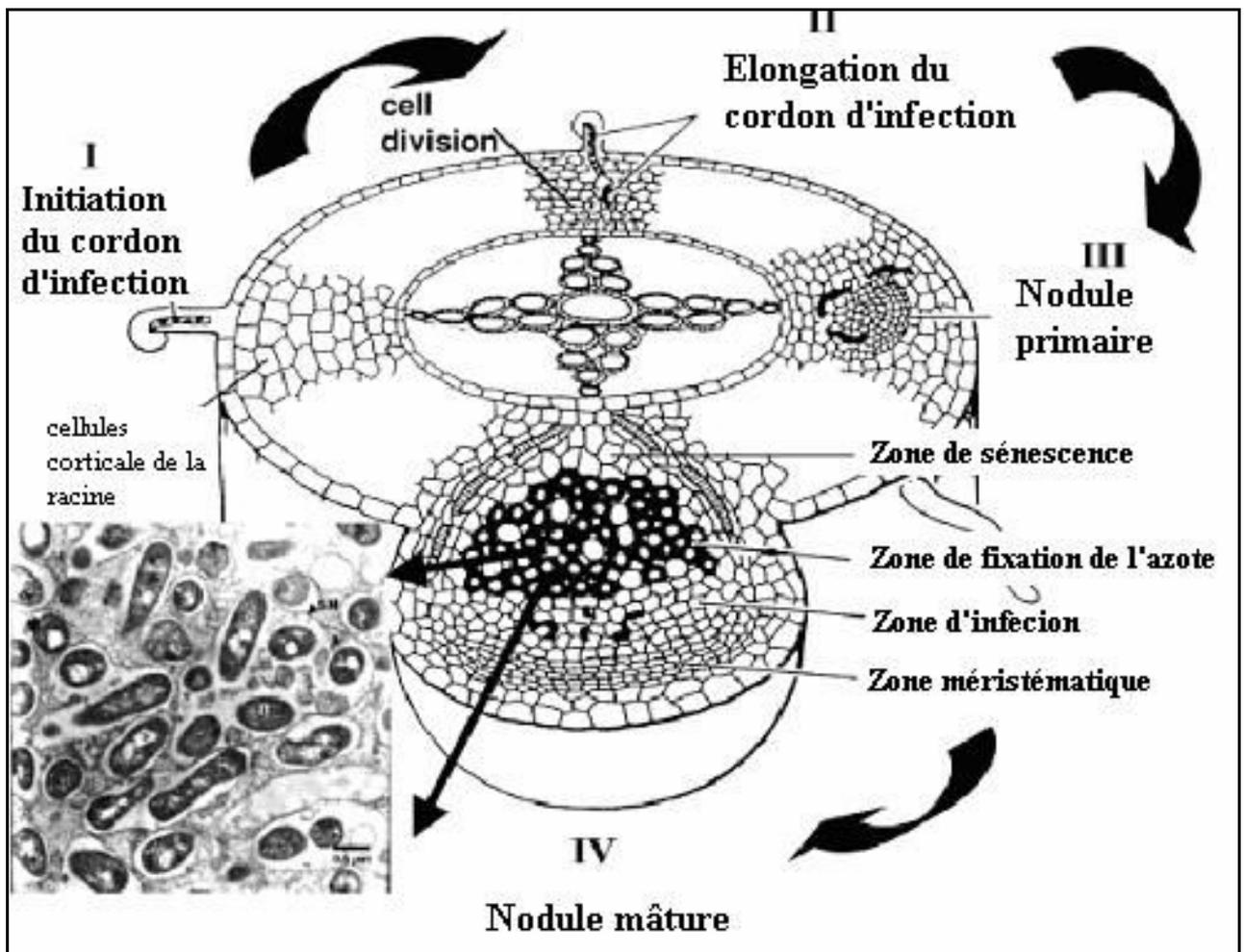


Figure 1.7 : étape du développement du nodule d'après Djordjevic [316].

1.6 Rôle des exopolysaccharides dans la formation des nodules

La formation des nodules et la spécificité entre les souches de *Rhizobium* et leur plante hôte ne dépendent pas seulement de la présence du facteur Nod, la production d'exopolysaccharides (EPS) spécifiques par ces bactéries est crucial pour cette organogenèse [319], il a été dénombré trois type d'exopolysaccharides produits par *Rhizobium* à savoir : EPS II, Succinoglycane et glucane neutre cyclique [320]. Leur production dépend de la concentration du phosphate, qui est détecté par les bactéries pendant le processus de nodulation [321,322], ce mécanisme reste encore inconnu [320].

Après que les bactéries s'installent dans les poils absorbants, elles commencent à se déplacer le long du cordon d'infection vers le nodule en développement. Le déclenchement et la prolongation du cordon d'infection dépend de la production d'exopolysaccharides (EPS) [323,324].

Plusieurs données expérimentales ont démontré que la production d'EPS par *Rhizobium* est indispensable dans le cas de la formation des nodules indéterminés telles que *Medicago*, *Pisum* ou *Trifolium*, car ils induisent la courbure du poil absorbant [325,326,327].

1.7 Quorum sensing et régulation de l'activité microbienne

Depuis de nombreuses années, les chercheurs ont pensé que des bactéries, qui sont unicellulaires conçues pour proliférer dans diverses conditions et milieu, sont incapables d'interagir les une avec les autres et répondre à des stimuli environnementaux, comme il est typique chez les organismes multicellulaires. Cependant une étonnante découverte a été faite par Nealson *et al* [328] sur une bactérie symbiotique marine *Vibrio fischeri*, montrant la capacité de ces bactéries à réguler leur bioluminescence [329].

Ces bactéries ont montré une coordination de leur comportement, via la sécrétion de molécules de signalisation spécifique au sein d'une population. Au cours de la croissance les bactéries sécrètent ces molécules, qui s'accumulent dans l'environnement et comme la densité de population augmente jusqu'à un seuil critique la concentration est atteinte, ce qui va déclencher l'expression de certaines catégories de Gènes. Ce type de communication cellulaire a été appelé « Quorum sensing » afin de souligner le fait qu'un nombre suffisant de bactéries, est nécessaires pour induire ou réprimer l'expression des gènes cibles [330, 331,332, 333,334,335,336,337].

Le mécanisme du quorum sensing est basée chez les bactéries Gram négatif sur la sécrétion d'une molécule appelée acyl-homoserine lactones (AHL) [330,338,334, 335,336,337]. La production d'acyl-homoserine lactones diffère d'une bactérie à une autre au niveau du groupement acyl associé au cycle lactone (nombre de carbones, insaturation...) [340] (Figure 1.8) (Tableau 1.5).

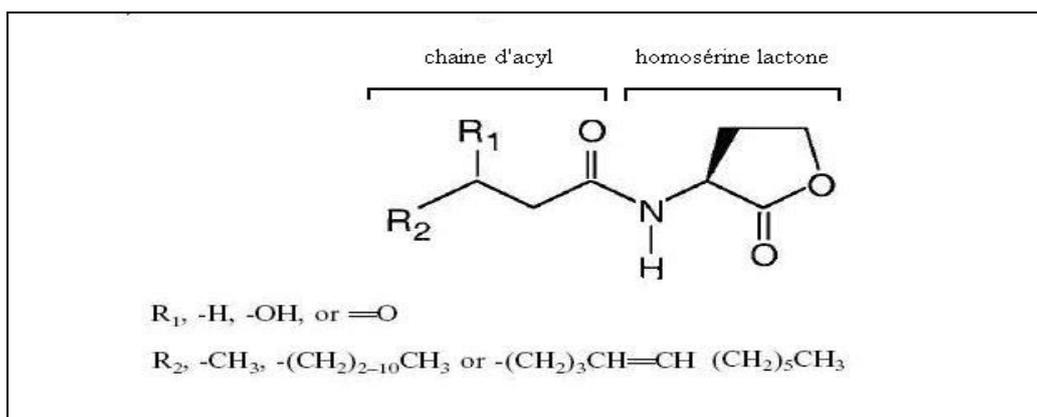


Figure 1.8 : Structure générale de l'acyl-homosérine lactones [341].

Tableau 1.5 : Caractéristiques de quelques molécules d'acyl homosérine lactone appartenant au genre *Rhizobium* [340].

Structure	Organismes représentatifs
<p>3-oxo-C₈-HSL</p>	<i>Rhizobium</i> sp. Strain NGR234 <i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>Sinorhizobium meliloti</i> <i>Rhizobium etli</i> CFN42
<p>3-OH-C₈-HSL</p>	<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>Sinorhizobium meliloti</i> <i>Rhizobium etli</i> CFN42
<p>C₈-HSL</p>	<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>Sinorhizobium meliloti</i>
<p>3-OH-C_{14:1}-HSL</p>	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<p>C_{16:1}-HSL</p>	<i>Sinorhizobium meliloti</i>

Il est noté que la plupart des organismes produisent plusieurs types d'AHL, et un même AHL est synthétisé par plusieurs organismes [342]. Par conséquent, il existe un certain chevauchement dans la production et la reconnaissance des AHL par différents organismes bactériens [340].

La synthèse des AHL est assurée par un gène de type « I », lorsque la concentration cellulaire de ces derniers atteint un seuil critique, ils forment un complexe actif avec un activateur transcriptionnel intracellulaire de type « R », qui va engendrer l'expression de l'opéron spécifique au quorum sensing [340,343].

La concentration des AHL est étroitement liée à la densité microbienne, plus le nombre de bactérie augmente, plus la concentration de cette molécule est importante. Cependant d'autres facteurs peuvent influencer cette concentration tels que la formation de biofilms et l'agrégation bactérienne [344]. De plus un pH élevé et une dégradation enzymatique peuvent diminuer la concentration de ce signal moléculaire [340].

La communication chimique qui existe chez les rhizobactéries conditionne leur interaction dans la rhizosphère par l'expression de différentes fonctions métaboliques et physiologiques, en effet ces rhizobactéries utilisent le quorum sensing pour réguler la production des métabolites secondaires active dans le sol [345]. Les bactéries du genre *Pseudomonas* qui utilisent le quorum sensing comme un système de détection et réglementation de certaines caractéristiques qui peuvent affecter leur persistance et leurs viabilité dans le sol [346,347], la production des phénazines, ainsi que d'autres métabolites secondaires antifongiques, sont entièrement régulées par le quorum sensing [348,349,350,351].

De plus les relations symbiotiques formées entre les *Rhizobiums* et les légumineuses sont le résultat d'un réseaux de signalisation complexe entre l'hôte et le symbiote, où le quorum sensing joue un rôle clé dans cette symbiose [352,353,354,355].

Finalement il n'est pas surprenant que la symbiose, la pathogenèse et le quorum sensing soient liés d'une manière complexe, étant donné qu'il existe un ou plusieurs gènes homologues entre les différents organismes qu'il soit pathogène, symbiotique ou organismes hôte. Par ailleurs, la possibilité a été évoquée que dans les habitats naturels, les différentes espèces de bactéries communiquent les uns avec les autres afin de coordonner leur comportement [356,337].

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1 Le sol

Le sol utilisé dans nos expérimentations a été prélevé au niveau de la station expérimentale du département d'agronomie de (Université de Blida), à partir d'une parcelle nue non cultivée. Les caractéristiques physicochimiques du sol ont été étudiées durant l'année 2006 au niveau du laboratoire de pédologie du département d'Agronomie de l'Université de Blida [19] (Appendice B).

Après séchage et tamisage (4 millimètres de diamètre) afin d'éliminer les éléments grossiers. Le sol a été désinfecté par autoclavage (deux autoclavages à 120°C pendant 30 minutes séparés de 24 heures d'intervalle).

2.2 Souches bactériennes

Six souches de *Pseudomonas fluorescens* ont été utilisées dans nos expérimentations (Tableau 2.6), il s'agit des souches CHAO, S20, D1, D2, CK4 et P64.

Les souches S20 et P64 ont été isolées, respectivement, de la rhizosphère du palmier dattier dans la région de Ghardaïa [357] et la rhizosphère de l'abricotier (Mitidja) [10].

La souche D1 de *Pseudomonas fluorescens* et la souche D2 de *Pseudomonas putida* originaires de France sont utilisées dans de nombreux travaux expérimentaux se caractérisent par une aptitude de biocontrôle et de colonisation rhizosphérique [8].

Les souches CHAO et CK4 sont des souches de références, utilisées dans de nombreux travaux de recherche et d'expérimentations [8,66,168,171,358,359]. La souche CHAO se caractérise par sa forte capacité de colonisation rhizosphérique et de la production de divers métabolites secondaires, notamment les pyoverdines,

l'HCN et les phénazines. La souche CK4 est un mutant de CHAO déficient en synthèse de pyoverdines (pvd⁻), qui utilisé spécialement, à titre comparatif, pour étudier l'effet de la synthèse des pyoverdines sur leurs mécanismes d'actions.

Tableau 2.6 : Souches bactériennes.

Souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rhizosphère	provenance	Origine
CHAO et CK4	Tabac	suisse	Envoi du P. Keel (laboratoire de phytomédecine, Zurich) suisse
D1	Tomate	France	Collection du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
D2	Lin	France	Collection du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
S20	Palmier dattier	Algérie	Collection du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
P64	Abricotier	Algérie	Collection du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida

La pureté des souches a été vérifiée sur le milieu B de King (KB) [360] (Appendice C), en réalisant plusieurs repiquages successives. Les souches purifiées ont été conservées à 4° C.

2.3 Phytostimulation de la croissance

2.3.1 Matériel végétal

Les essais de phytostimulation ont été réalisés avec trois espèces végétales :

- La tomate (*Lycopersicon esculentum* mill, variété Marmande).
- Le blé tendre (*Triticum aestivum*, variété Heinza).
- Le concombre (*Cucumis sativus*, variété Supermarketer)

Les graines de ces trois espèces végétales tomate, de concombre et de blé tendre ont été désinfectées par trempage dans l'eau javellisée à 6° (20 minutes), suivi de trois rinçages successifs dans l'eau distillée stériles (3 minutes) et séchée sur papier filtre stérile.

2.3.2 inoculation bactérienne

Les souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* utilisées dans cette partie sont les souches CHAO, S20 et P64 (Tableau 2.6).

Les suspensions bactériennes des trois souches (CHAO, P64 et S20) ont été préparées dans de l'eau distillée stérile à partir de cultures âgées de 24 heures cultivées sur milieu B de King. La détermination de la concentration a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu), à la longueur d'onde $\lambda = 580$ nm et en l'ajustant à 10^8 CFU / ml.

2.3.3 Dispositifs expérimental

Pour chaque espèce végétale étudiée (tomate, blé tendre et concombre) quatre traitements ont été appliqués correspondant aux applications des trois souches bactériennes et le traitement témoin.

Les différents traitements étudiés ont été repartis en quatre blocs aléatoires complets avec 6 répétitions pour chaque traitement (Figures 2.9).

Les traitements sont :

T1, T2 et T3 : plants de tomate bacterisés respectivement avec les souches CHAO, P64 et S20.

T4 : plants de tomate témoin non bacterisés.

T5, T6 et T7 : plants de blé tendre bacterisés respectivement avec les souches CHAO, P64 et S20.

T8 : plants de blé tendre témoin non bactérisés.

T9, T10 et T11 : plants de concombre bacterisés respectivement avec les souches CHAO, P64 et S20.

T12 : plants de concombre témoin non bacterisés.



Figure 2.9 : Dispositif expérimental de l'essai de la promotion de la croissance végétale :

- a : chez la tomate.
- b : chez le concombre.
- c : chez le blé tendre.

2.3.4 Evaluation de la phytostimulation

Les effets de la bactérisation ont été évalués en mesurant quelques paramètres révélateurs de la croissance végétale selon la morphologie de chaque espèce étudiée.

2.3.4.1 Taux de levée

L'estimation du taux de levée des plants consiste à effectuer le comptage du nombre des plantules levées, au niveau de chaque traitement. Le suivi de la levée a été effectué 24 heures après la bactérisation.

Les paramètres de croissances ont été évalués à deux périodes différentes, qui sont respectivement pour la tomate et le blé tendre.

- Première période : après 16 jours de la bactérisation.
- Deuxième période : après 31 jours de la bactérisation pour le blé tendre et 40 jours pour la tomate.

Pour le concombre une seule date a été retenue après 38 jours.

2.3.4.2. Hauteur de la tige

La hauteur finale des tiges a été mesurée avec un mètre ruban du collet jusqu' à l'extrémité apicale.

2.3.4.3 Longueur des racines

Pour les deux périodes, les plants ont été dépotés et secoués pour éliminer la masse adhérente du substrat et après un rinçage les racines sont étalées et mesurées.

2.3.4.4 longueur de la première feuille

Ce paramètre a été évalué uniquement pour le blé tendre, il s'agit de mesurer la longueur du pétiole jusqu'à l'extrémité de la feuille.

2.3.4.5 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Après dépotage, les plants sont immédiatement coupés au niveau du collet, pour peser le poids frais de cette partie. Le poids sec a été déterminé après passage de cette même partie aérienne à la température de 105°C pendant 24 heures.

2.3.4.6 Surface foliaire

Ce paramètre a été évalué uniquement pour le concombre. La surface foliaire a été mesurée à partir de deux échantillons de chaque traitement des plants de concombre.

Des unités préliminaires de 3 à 5 carrées foliaires de 4 cm² ont été pesées pour déterminer leur poids frais (g), une extrapolation à partir des différentes répétition nous a permis de déduire l'équivalent en poids (1g) par rapport à la surface foliaire.

L'analyse statique des résultats a été effectuée par l'analyse de la variance. Dans le cas où cette dernière est significative, la comparaison des traitements a été effectuée sur la base des moyennes obtenues selon la plus petite amplitude significative (PPAS) de test de Newman-Keuls au risque d'erreurs ($\alpha = 5\%$).

2.4 Etude de la compétence rhizosphérique

L'étude de la compétence rhizosphérique vise à évaluer les potentialités d'adaptation et de colonisation des souches bactériennes au niveau de la rhizosphère. A cet effet, deux essais ont été réalisés en interaction avec des plantes herbacées.

- Le premier essai porte sur la mise en évidence de l'effet de la plante sur les aptitudes de trois souches bactérienne à coloniser la rhizosphère. Cette interaction a été réalisée avec trois espèces végétales, la tomate (*Lycopersicum esculentum* variété Heinz 1370), le blé dur (*Triticum durum* variété waha) et le lin (*Linum usitassinum* variété opaline), en appliquant les trois souches bactériennes D1, D2 et S20 (Tableau 2.7).
- L'objectif du deuxième essai est la mise en évidence de l'effet de la synthèse des pyoverdines sur la compétence rhizosphérique des souches CHAO, S20 et CK4 (Tableau 2.6) en interaction avec des plants de tomate (*Lycopersicum esculentum* variété Heinz 1370).

Concernant le deuxième essai le sol, contenu dans le dispositif, a subi un changement dans la concentration du fer, Certains microcosmes ont été carencés en fer par addition d'un chélateur de fer l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA) à une concentration de 0.01g / ml, et d'autres ont subi un enrichissement en fer par addition de FeCl₃ à raison de 0.01 g / ml.

2.4.1 Préparation du végétal

Les espèces végétale utilisées dans les essais relatives à la compétence rhizosphérique, à savoir la tomate, le lin et le blé dur, ont subi une désinfection par trempage dans l'eau javellisée à 6° pendant 20 minutes, suivi de trois rinçages successifs, de 3 minutes chacun, dans de l'eau distillé stérile et séchées sur papier filtre stérile.

2.4.2 Microcosme

Les essais ont été conduits dans des microcosmes conçus selon la description de Latour *et al* [361] (Figure 2.10).

Le microcosme se compose de trois parties (Figure 2.10).

- Un tube à essai d'une dimension de 150mm x 25mm, contenant 20 ml d'eau stérile.
- Une seringue stérile d'un volume de 5 ml
- Une bande de tissu stérile absorbant mesurant 8 cm de long sur 2 Cm de large, insérée partiellement, environ 1 cm, à la base de la seringue, qui est remplie avec 9 g de sol désinfecté, et placée dans le tube à essai.

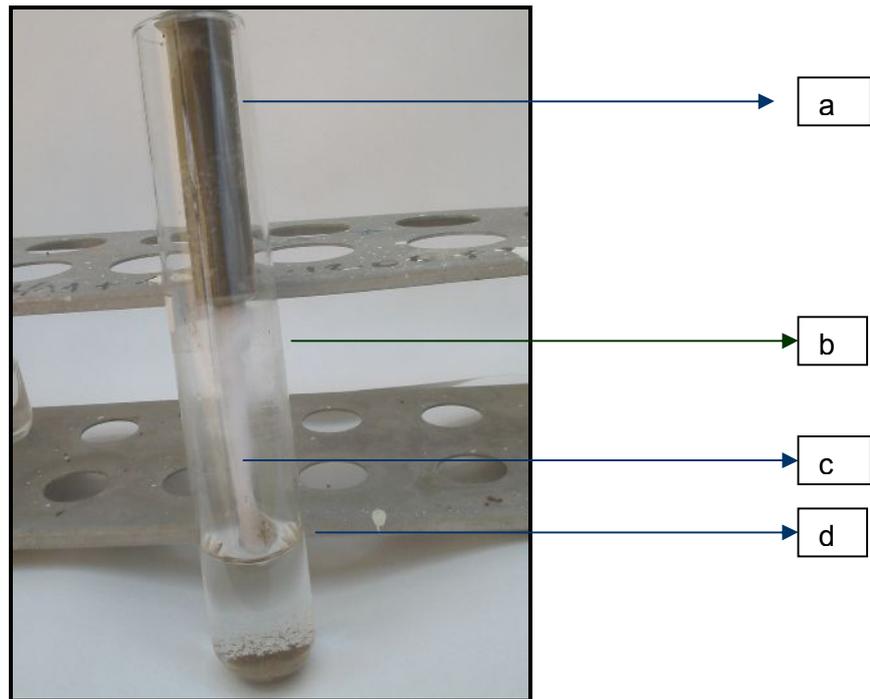


Figure 2.10: les différents constituants du microcosme.

- (a) : seringue stérile contenant 10 g de sol.
- (b) : tube à essai d'une dimension de 150mm x 25 mm.
- (c) : bande de tissu mesurant 8 cm x 2 cm.
- (d) : niveau d'eau.

2.4.3 Bactérisation des microcosmes

Les graines de tomate désinfectées ont été déposées dans le tube contenant 9 g de sol et recouvertes immédiatement par 1g de sol, pour avoir 10 g de sol dans chaque microcosme.

La suspension bactérienne a été obtenue à partir d'une culture bactérienne âgée de 24 heures, prélevée sur milieu King B. La concentration de la suspension bactérienne a été évaluée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 580 nm. La suspension bactérienne a été apportée dans les microcosmes à raison de 10^8 CFU/ g de sol.

2.4.4 Dispositif expérimental

2.4.4.1 Essai de la dynamique des populations bactériennes

Cet essai a été réalisé selon un dispositif expérimental en randomisation totale avec 12 répétitions pour chaque traitement (Figure 2.11). Comparant l'interaction de deux facteurs

Facteur 1 : trois espèces végétales Lin, Tomate et Blé dur.

Facteur 2 : trois souches bactériennes D1, D2 et S20.

L'étude a été réalisée en deux périodes après 15 et 30 jours de la bactérisation. Les 9 traitements issus de cette l'interaction sont :

T1, T2, T3 : Plants du lin bactérisés respectivement par les souches D1, D2 et S20.

T4, T5 et T6 : Plants du blé bactérisés respectivement par les souches D1, D2 et S20.

T7, T8 et T9 : Plants de tomate bactérisés respectivement par les souches D1, D2 et S20.

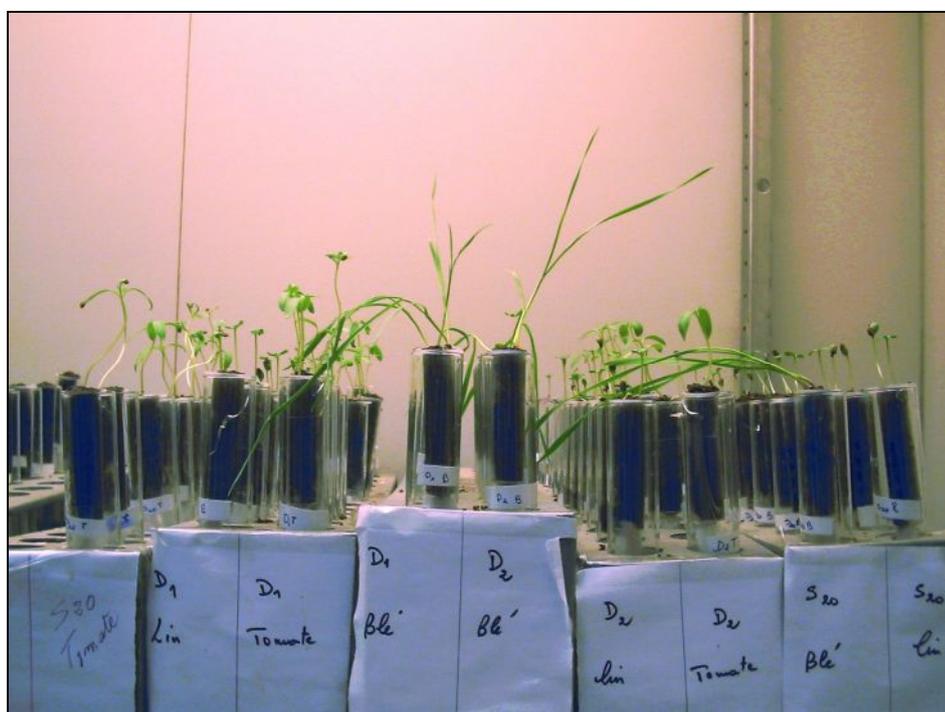


Figure 2.11 : Dispositif expérimental de la dynamique bactérienne.

2.4.4.2 Essai de l'effet de synthèse des pyoverdines

Cet essai a été conduit selon un dispositif expérimental en randomisation totale (Figure 2.12). Nous avons étudié l'effet de deux facteurs et de leur interaction sur la dynamique des populations bactériennes.

- Le premier facteur concerne la bactérisation représentée par trois niveaux correspondants aux trois souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents : S20, CHAO et CK4.
- Le deuxième facteur concerne les additifs apportés aux microcosmes selon deux niveaux : apport en FeCl_3 et apport en EDTA.

Au total, nous avons étudié 9 traitements dont 6 traitements bactérisés et amendés et trois traitements témoins avec 12 répétitions par traitement. Ces traitements sont :

T1, T2 et T3 : microcosme amendé par FeCl_3 et bactérisé respectivement par les souches CHAO, CK4 et S20.

T4, T5 et T6 : microcosme amendé par EDTA et bactérisé respectivement par les souches CHAO, CK4 et S20.

A titre de comparaison, les témoins ont été représentés par des microcosmes bactérisés sans l'addition du FeCl_3 ou de l'EDTA), comportant trois traitements :

T7 : microcosme bactérisé par la souche CHAO.

T8 : microcosme bactérisé par la souche CK4.

T9 : microcosme bactérisé par la souche S20.

Les microcosmes ont été déposés dans un phytotron pendant 30 jours avec une photopériode de 16 heures à 25 °C.

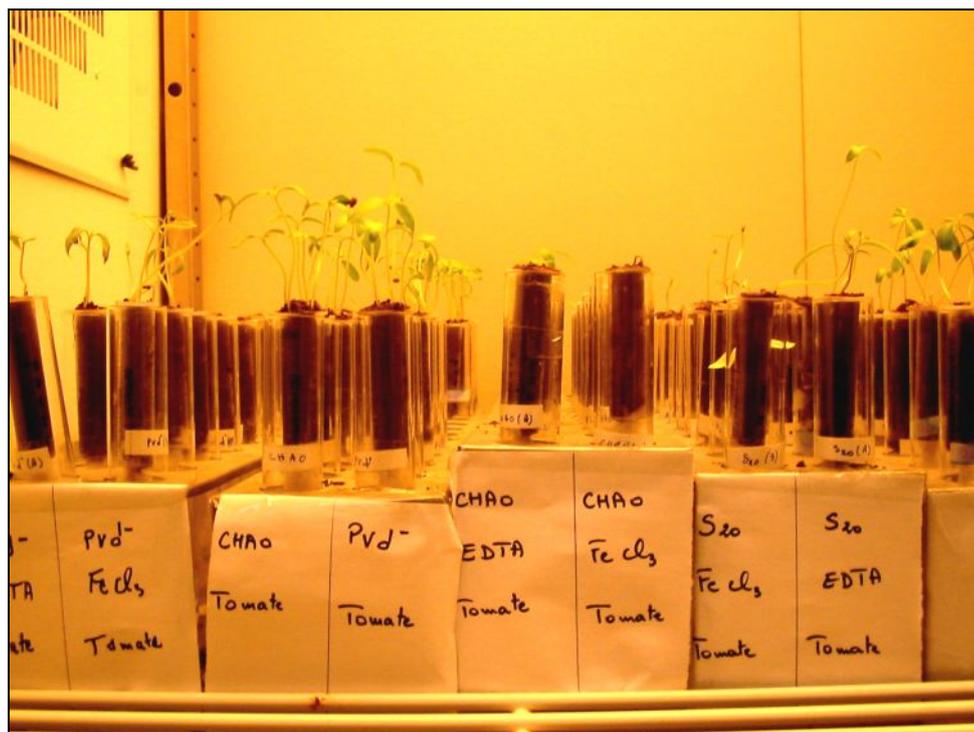


Figure 2.12 : Dispositif expérimental de l'essai sur l'effet des pyoverdines

2.4.5 Dénombrement bactérien

Pour les deux essais, nous avons adopté la même procédure de dénombrement.

Après avoir découpé les parties aériennes, au raz du sol, avec un scalpel désinfecté, le contenu de la seringue, a été récupéré et mis en suspension dans un Erlen Meyer contenant 90 ml d'eau distillé stérile. Après homogénéisation la suspension obtenue est mixée (mixeur Blender) pendant 5 minutes. 1ml de la mixture est déposée dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile. A partir de cette dilution, une série de dilutions de 10 en 10 a été préparée jusqu'à la dilution 10^{-8} .

Les opérations d'isolement pour le dénombrement ont été effectuées avec les dilutions 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8} avec 3 répétitions pour chaque dilution.

L'ensemencement a été effectué avec 0.1 ml de chaque dilution, étalé à l'aide de billes en verre, (Ø2 mm), sur la surface de la boîte de Pétri contenant le milieu King B. L'incubation a été réalisée à 25 °C pendant 24 à 48 heures.

Selon le protocole de dénombrement établi au laboratoire d'écologie microbienne et pathologie des sols (UMR-INRA-Dijon-France), seul les boîtes présentant entre 30 et 600 colonies ont été retenues. Le calcul de la concentration bactérienne de la solution mère se fait selon la formule suivante :

$$\text{Concentration de la solution mère} = \text{Nombre de colonies} / (\text{Volume} \times \text{dilution})$$

Les résultats obtenus ont subi une analyse de la variance et la comparaison des traitements a été effectuée selon le test Newman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5% pour déterminer les amplitudes significatives, permettant de se prononcer sur les significations des traitements étudiées [362].

2.5 Essai de nodulation

2.5.1 Matériel biologique

2.5.1.1 Matériel végétal

La légumineuse utilisée dans notre expérimentation est la fève (*Vicia faba* L., variété Histal). Les graines ont été désinfectées par trempage dans de l'eau javellisée à 6° pendant 20 minutes, suivi de trois rinçages successifs (3 minutes chacun) dans de l'eau distillé stérile et déposées sur du papier filtre stérile Imbibé durant 6 heures.

2.5.1.2 Souche de *Pseudomonas fluorescens*

Deux souches de *Pseudomonas fluorescens* ont été utilisées dans l'essai de nodulation, il s'agit des souches CHAO et P64 (Tableau 2.6).

2.5.1.3 Isolement et identification des souches de *Rhizobium* sp.

Les souches de *Rhizobium* sp. ont été obtenues par isolement à partir de nodules de la fève cultivée dans la région de Cherchell.

La procédure d'isolement a été réalisée selon la méthode adoptée de Grainger [363]. Les racines de la fève présentant des nodules ont été découpés et rincés à l'eau courante. Une désinfection superficielle a été réalisé par le passage dans l'eau javellisée à 6° pendant deux minutes. Suivi d'une désinfection (de deux minutes) à l'alcool (97°), puis trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile de trois minutes chacun.

Le nodule est pris avec une pince et avec un scalpel stérile et incisé avant de le déposer dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDAE (potato dextrose agar + extrait de levure) (appendice C). L'incubation a été effectuée pendant 4 jours à la température de 27°C.

2.5.2.3 Identification des bactéries

En l'absence de critères biochimiques absolus, le seul critère d'appartenance au genre *Rhizobium* est la capacité des souches isolées de provoquer la formation de nodosités observables sur les racines de la légumineuse d'origine (la fève) en environnement stérile après reinoculation [364]. Selon les orientations de cet auteur, la présélection des souches assimilées à *Rhizobium* sp s'est basée, notamment sur les caractéristiques macromorphologiques et micromorphologique et la coloration de Gram.

L'identification de souche, qui peuvent être assimilées au genre *Rhizobium* se base sur l'apparence et l'élasticité de la colonie bactérienne, ainsi que les paramètres morphologiques incluant la forme, le diamètre, l'élévation et la couleur, ainsi que le test de coloration de gram [365,366]. En plus des ces caractères la coloration de Gram a été effectuée selon la technique décrite (appendice D) [367].

2.5.2.4 Reinoculation des souches de *Rhizobium* sp.

Afin d'étudier l'efficacité des souches isolées à provoquer la formation de nodules, des plants de fève (*Vicia faba*) on été semies dans un sol stérile, et bactérisés avec une suspension préparé à partir des souches bactériennes isolées au préalable.

Cet examen est réalisé avec deux répétitions par souche bactérienne isolée, avec un témoin non bactérisé, pendant une période de 30 jours.

2.5.3 Inoculation des bactéries

L'essai de nodulation a été réalisé avec les deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et P64) en interaction avec trois souches bactériennes de *Rhizobium* sp.(R1, R2 et R3).

La bactérisation des pots avec les souches de *Pseudomonas fluorescens* a été effectuée le jour du semis, avec une suspension bactérienne, d'une concentration de 10^8 CFU / g de sol, préparée à partir d'une crème bactérienne âgée de 24 heures, et évaluée par spectrophotomètre à la longueur d'onde de 580 nm.

Après trois jours du semis, les pots sont bactérisés avec une suspension bactérienne de souches de *Rhizobium* sp., d'une concentration de 10^8 CFU / g de sol, préparée à partir d'une culture âgée de 4 jours, et évalué par spectrophotomètre à la longueur d'onde de 600 nm (Appendice E).

2.5.4 Dispositif expérimental

L'essai a été conduit selon un dispositif expérimental en blocs aléatoire complets avec 3 répétitions (Figure 2.13). Dans chaque bloc figure les 12 traitements étudiés avec 10 plants par interaction et 5 plants par témoin.

Les traitements sont :

T 1 : plants bactérisés par les souches CHAO et R1.

T 2 : plants bactérisés par les souches CHAO et R2.

T3 : plants bactérisés par les souches CHAO et R3.

T 4 : plants bactérisés par les souches P64 et R1.

T 5 : plants bactérisés par les souches P64 et R2.

T 6 : plants bactérisés par les souches P64 et R3.

T 7 : plants bactérisés par la souche CHAO.

T 8 : plants bactérisés par la souche P64.

T 9 : plants bacterisés par la souche R1.

T 10 : plants bactérisés par la souche R2.

T 11 : plants bactérisés par la souche R3.

T 12 : témoin, plant non bactérisés.



Figure 2.13 : Dispositif expérimental de l'essai de nodulation.

2.5.5 Paramètres étudiés

2.5.5.1 Paramètres de croissance

Au terme de notre expérimentation, soit 40 jours, les plants sont dépotés, les racines sont lavées pour les débarrasser du substrat adhérent afin de mesurer leur longueur. Le poids frais et le poids sec de la biomasse aérienne et racinaire de chaque plant sont ensuite déterminés.

2.5.5.2 Nombre de nodule

Après dépotage des pots, la partie racinaire est soigneusement lavée afin de dénombrer les nodules développés sur les racines de chaque plant.

2.5.5.3 Détermination des matières azotées totales (MAT%)

L'azote a été dosé par la méthode de KJELDAHL [368].

2.5.5.3.1 Minéralisation

L'opération s'effectue sur un échantillon de 1 g, qu'on introduit dans un matras de 250 ml, en ajoutant 2 g du catalyseur (Appendice F).

Le matras est porté sur un support d'attaque et chauffé jusqu'à décoloration du liquide vert stable. Après refroidissement, on ajoute peu à peu, avec précaution, 200 ml d'eau distillée en agitant et en refroidissant sous un courant d'eau.

2.5.5.3.2 Distillation

50 ml du contenu du matras sont transférés dans l'appareil distillateur (Buchi 315). Dans un bécher destiné à recueillir le distillat, on met 20 ml d'indicateur (Appendice F).

50 ml de lessive de soude ($d = 1.33$) sont versés dans l'appareil distillateur, l'attaque doit se faire jusqu'à l'obtention d'au moins 100 ml de distillat, titré en retour par l'acide sulfurique (N/20) jusqu'à l'obtention de la couleur initiale de l'indicateur.

1 ml d' H_2SO_4 (1N) \longrightarrow 0.014 g (d'N)

1 ml d' H_2SO_4 (N/20) \longrightarrow 0.0007 g(d'N)

$$N \text{ (g)} = X \times 0.0007 \times 100/y \times 200 / A$$

X: descente de la burette (en ml)

Y : poids de l'échantillon de départ.

A : Volume de la prise d'essai

$$\text{MAT (\%MS)} = N \text{ (G)} \times 6.25$$

2.5.5.4 Colonisation rhizosphérique

Dans le but d'évaluer le pouvoir colonisateur des souches de *Pseudomonas fluorescens* utilisées dans l'essai de nodulation, une vérification de l'installation de ces souches au niveau de la rhizosphère a été effectuée. A cet effet un fragment de racine est prélevé au niveau de chaque traitement et de chaque bloc, suivi d'un rinçage avec de l'eau distillée stérile et séchés séparément sur papier filtre. Chaque fragment a été déposé aseptiquement sur le milieu King B dans 2 boîtes de Pétri. Les observations ont été effectuées 24 h à 72 h après incubation à 27°C.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 La phytostimulation

3.1.1 Phytostimulation du blé tendre

3.1.1.1 Taux de levée

La levée du blé tendre n'a démarré qu'après le troisième jour du semis pour les différents traitements, où nous constatons une légère supériorité des traitements bactérisés avec les souches CHAO, P64 et S20 par rapport au témoin (Figure 3.14). Nous constatant l'existence de trois groupe homogènes, classés selon le test de Newman-Keuls ($\alpha = 5\%$), en trois groupes homogènes (a) renfermant les traitements S20 et P64 avec 88 % de taux de levée, le groupe homogène (b) représenté par le traitement CHAO avec un taux de levée de 85 %, tandis que le taux de levée du témoin n'est que de 81 % (groupe homogène (c)) (Figure 3.14).

Après le cinquième jour du semi, l'évolution reste plus notable chez les plants bactérisés avec la souche S20, qui a enregistré un taux de levée de 94 %, alors que le témoin atteint seulement un taux de levée de 86 % (Figure 3.14).

Le taux de levée des différents traitements bactérisés et le témoin ont évolué après le cinquième jour pour se stabiliser aux dixième jours, atteignant un maximum de 96% pour les plants bactérisé avec la souche S20, qui représente le groupe homogène (a). Le groupe homogène (b) qui renferme les traitements bactérisés avec la souche CHAO et P64, affiche respectivement un taux de levée de 93 % et de 92%, tandis que le témoin a atteint un taux de levée final de 89% (Figure 3.14).

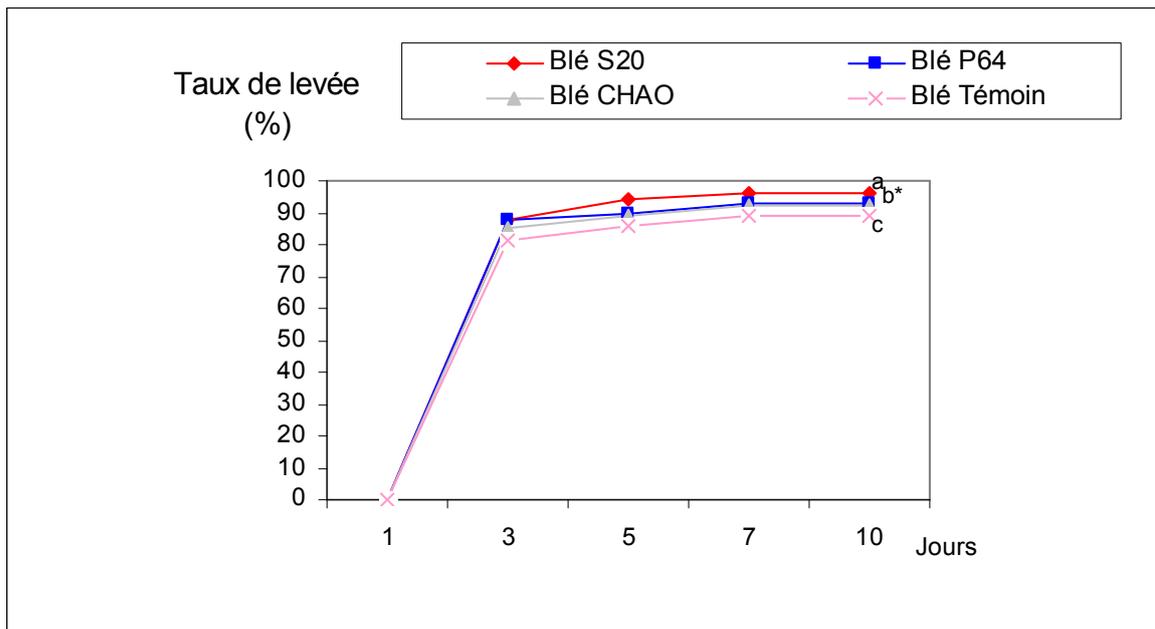


Figure 3.14 : Evolution du taux de levée (%) en fonction du temps.

* : Les traitements avec la même lettre ne présentent pas une différence au seuil $\alpha=5\%$ selon le test de Newman-Keuls.

3.1.2 Paramètres de croissance

Il est à noter que les paramètres de croissance ont été mesurés à deux périodes différentes, correspondant respectivement, aux mensurations réalisées après 16 jours (Figure 3.15) (période 1) et après 31 jours (Figure 3.16) de la bactérisation (période 2).



Figure 3.15 : Plants de blé après 16 jours de la bactérisation.

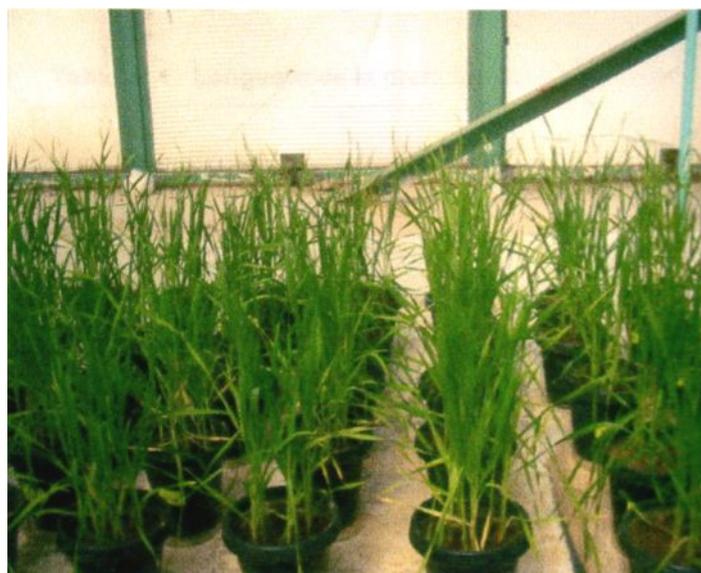


Figure 3.16 : Plants de blé après 31 jours de la bactérisation.

3.1.2.1 Longueur de la première feuille

Pour les deux périodes, après 16 et 31 jours, les résultats ont montré qu'il n'existe pas une différence significative entre les traitements bactérisés et le témoin non bactérisé ($p > 0.05$).

Les mensurations des premières feuilles chez les plants bactérisés ou chez les témoins n'ont pas permis de déceler des variations significatives (Tableau 3.7).

Tableau 3.7 : Longueur moyenne de la première feuille (cm) chez le blé tendre.

Traitement	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)
Blé S20	9.71	9.70
Blé CHAO	9.41	9.87
Blé P64	9.41	9.73
Blé Témoin	9.13	9.68

3.1.2.2 Hauteur de la tige

Les mesures de la hauteur des tiges ont montré qu'il existe une différence significative entre les traitements étudiés ($p > 0.05$). Dans les deux périodes, les plants bactérisés ont montré des longueurs de tige supérieures à celle des plants non bactérisés (Tableau 3.9). A la première période, les souches P64 et CHAO ont provoqué les effets les plus notables, alors que durant la deuxième période, une performance similaire a été enregistrée chez tous les plants bactérisés (Tableau 3.9).

Durant la première période, les traitements ont été classés, selon le test de Newman-Keuls ($\alpha = 5\%$), en trois groupes homogènes, alors que durant la deuxième période, ils sont classés en deux groupes homogènes, toujours mentionnant la supériorité des traitements bactérisés par rapport aux traitements non bactérisés (Tableau 3.8).

Tableau 3.8 : Hauteur de la tige (cm) chez le blé tendre.

Traitements	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)
Blé P64	7.47 (a)*	25.53 (a)*
Blé CHAO	7.42 (a)	24.51 (b)
Blé S20	7.13 (b)	25.38 (a)
Blé Témoin	6.13 (c)	23.70 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.2.3 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Les résultats obtenus en poids frais et en poids sec, de la partie aérienne, ont montré qu'il existe une différence significative dans les deux périodes ($p > 0.05$).

Pour la première période, l'efficacité de la bactérisation a été enregistrée chez les traitements bactérisés avec les souches S20 et CHAO, où nous constatons un même poids frais de 0.60 g. Le traitement bactérisé avec la souche P64 a montré un poids de 0.56 g, alors que chez le témoin le poids frais est de 0.51 g.

Durant la deuxième période, nous n'avons pas pu distinguer des effets différentiels entre les trois souches testées. En effet le test de Newman –Keuls ($\alpha = 5\%$) classe les trois traitements bactérisés dans le même groupe homogène (a), tandis que le témoin appartient au groupe homogène (b) avec 1.47 g (Tableau 3.8).

En ce qui concerne le poids sec, les plants bactérisés avec la souche S20 ont enregistré une valeur maximale de 0.059 g dans la première période, en formant un groupe homogène avec les traitements bactérisés avec les souches P64 et CHAO, par rapport au témoin (b) avec un poids sec de 0.049.

En deuxième période, la meilleure performance a été obtenue chez les plants bactérisés par la souche P64. Les autres traitements sont classés dans le même groupe homogène avec le témoin (Tableau 3.9).

Tableau 3.9 : Poids frais et poids sec de la partie aérienne (g) chez le blé tendre

Traitements	Poids frais		Poids sec	
	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)	Période 1 (après 16 ours)	Période 2 (après 31 jours)
Blé S20	0.60 (a)*	1.50 (a)*	0.059 (a)*	0.25 (b)*
Blé CHAO	0.60 (a)	1.50 (a)	0.056 (ab)	0.25 (b)
Blé P64	0.56 (b)	1.52 (a)	0.054 (a)	0.26 (a)
Blé Témoin	0.51 (c)	1.47 (b)	0.049 (b)	0.25 (b)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.2.4 Longueur des racines

Les différentes mesures des longueurs des racines ont montré une différence significative durant les deux périodes. Le traitement bactérisé avec la souche S20 a montré une meilleure performance durant la première période (a) avec une valeur de 26.47 cm, par rapport aux traitements bactérisés et au témoin (Tableau 3.10).

Durant la deuxième période, les plants bactérisés avec la souche CHAO représentent le groupe homogène (a) avec une longueur de 29.35 cm, par rapport aux témoins et aux deux autres traitements bactérisés (b) (Tableau 3.10).

Tableau 3.10 : Longueur des racines (cm) chez le blé tendre.

Traitements	Période 1	Période 2
Blé S20	26.47 (a)*	24.46 (b)*
Blé P64	24.53 (c)	25.95 (b)
Blé CHAO	25.79 (b)	29.35 (a)
Blé Témoin	22.85 (b)	25.88 (b)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.2 Phytostimulation de la tomate

Les paramètres de croissance étudiés, sur la tomate, ont été évalués aussi dans deux périodes différentes, qui sont respectivement la 1^{ère} période (après 16 jours de la bactérisation) (Figure 3.17) et la 2^{ème} période (après 40 jours de la bactérisation) (Figure 3.18).

Les analyses de la variance, effectuées sur l'ensemble des paramètres de croissance, dans les deux périodes, montrent que les différences sont significatives entre les différents traitements étudiés ($P < 0.05$).



Figure 3.17 : Plants de tomate après 16 jours de la bactérisation.



Figure 3.18 : Plants de tomate après 40 jours de bactérisation

3.1.2.1 Hauteur de la tige

Les plants bactérisés par les souches CHAO et P64 enregistrent, durant la 1^{ère} période, la meilleure performance avec une hauteur respective de 8.22 cm et 8.12 cm formant ainsi le groupe homogène (a), comparativement au traitement bactérisé par la souche S20 (b) et le témoin (c) (Tableau 3.11).

Les traitements bactérisés avec la souche CHAO, dans la deuxième période, classés dans le groupe homogène (a) avec une valeur maximale de 18.23 cm, tandis que les traitements bactérisés avec la souche S20 sont groupés avec le témoin dans le groupe homogène (c).

Tableau 3.11 : Hauteur de la tige (cm) chez la tomate

Traitements	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)
Tomate CHAO	8.22 (a)*	18.23 (a)*
Tomate P64	8.12 (a)	17.51 (b)
Tomate S20	7.75 (b)	16.63 (c)
Tomate Témoin	6.37 (c)	16.56 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.2.2 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

L'estimation des poids frais et sec de la partie aérienne, des plants de tomate, a révélé des effets de phytostimulation notables après bactérisation. Le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$) nous a permis de classer les différents traitement dans des groupes homogènes.

Dans le cas du poids frais, nous constatons l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c, d) durant la première période. Il est a noter que la meilleure performance a été enregistrée chez les traitements bactérisés avec la souche S20 avec 0.99 g, par rapport au témoin (0.65) (Tableau 3.12).

Durant la deuxième période nous avons noté une meilleure phytostimulation dans le cas de la souche CHAO avec 5.03g en poids frais, comparativement au témoin et aux autres traitements (Tableau 3.12).

Concernant le poids sec, durant la première période la stimulation est significative dans le cas de la bactérisation avec la souche CHAO classée seule en groupe homogène (a) avec une valeur de 0.084 g, tandis que les traitements bactérisés avec la souche S20 et le témoin sont groupés dans le groupe homogène (c)(Tableau 3.12).

L'effet stimulateur le plus notable, durant la deuxième période, est enregistré chez les traitements bactérisés avec la souche P64, comparativement au témoin (Tableau 3.12).

Tableau 3.12 : Poids frais et poids sec (g) chez la tomate.

Traitement	Poids frais		Poids sec	
	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)	Période1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)
Tomate S20	0.99 (a)*	4.85 (b)*	0.058 (c)*	0.69 (c)*
Tomate CHAO	0.86 (b)	5.03 (a)	0.084 (a)	0.77 (b)
Tomate P64	0.79 (c)	4.70 (b)	0.066 (b)	0.81 (a)
Tomate Témoin	0.65 (d)	4.36 (c)	0.056 (c)	0.61 (d)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.2.3 Longueurs des racines

Les plants bactérisés avec les souches P64 et CHAO ont montré les longueurs racinaires les plus importantes durant la première période (groupe homogène (a)) par rapport au témoin. Durant la 2^{ème} période, l'effet le plus notable a été enregistré chez les plants bactérisés avec la souche CHAO avec une valeur de 27.95 cm comparativement au témoin (Tableau 3.13).

Tableau 3.13 : Longueur des racines (cm) chez la tomate.

Traitements	Période 1 (après 16 jours)	Période 2 (après 31 jours)
Tomate CHAO	11.46 (a)*	27.95 (a)*
Tomate P64	11.68 (a)	25.86 (b)
Tomate S20	10.73 (b)	24.90 (b)
Tomate Témoin	9.23 (c)	24.32 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.3 Phytostimulation du concombre

3.1.3.1 Taux de levée

Les résultats obtenus, après une période de 23 jours du semis, montrent l'existence d'une différence significative entre les différents traitements étudiés.

La levée du concombre a démarré dès le deuxième jour du semis, pour les traitements bactérisés avec la souche CHAO, suivi par les traitements S20 et P64 au troisième jour, alors que le démarrage de la levée n'a lieu qu'au 5^{ème} jour pour le témoin (Tableau 3.14).

Une évolution des taux de levée est constatée après le cinquième jour, jusqu'au 10^{ème} jour, où nous constatons une stabilité de l'évolution du taux de levée du témoin avec 62 % par rapport aux traitements bactérisés. Les traitements bactérisés avec les souches P64 et CHAO atteignent une valeur maximale de 75 % vers le 17^{ème} jours (Tableau 3.14).

Tableau 3.14 : L'évolution du taux de levée (%) du concombre.

Traitements	Jours										
	1	2	3	5	6	7	8	9	10	12	17
S20	0	0	4	8.33	29	29	37	37	41	50	58
P64	0	0	4	8.33	25	41	41	45	50	62	75
CHAO	0	4	4	20	41	41	58	58	58	62	75
Témoin	0	0	0	16	45	50	58	58	62	62	62

Les paramètres de croissance des plants du concombre ont été évalués après une période de 38 jours de la bactérisation (Figure 3.19).

**Figure 3.19** : Plants de concombre après 38 jours de la bactérisation.

3.1.3.2 Hauteur de la tige

L'analyse de la variance, concernant la hauteur des tiges, a révélé des différences non significatives entre les traitements bactérisés et le témoin, où nous avons enregistré une valeur maximale de 20.3 cm chez les plants bactérisés par la souche CHAO, tandis que le témoin affiche une valeur de 18.55 cm (Tableau 3.15).

Tableau 3.15 : Hauteur de la tige (cm) chez le concombre.

Traitements	Longueur de la tige
Concombre CHAO	20.3
Concombre S20	19.11
Concombre P64	18.75
Concombre Témoin	18.55

3.1.3.3 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Selon les valeurs obtenues pour les deux paramètres, la différence est significative entre les traitements étudiés ($p < 0.05$).

Pour le poids frais et le poids sec, la meilleure performance a été enregistrée chez les plants bactérisés avec la souche CHAO. Pour les autres traitements, les valeurs sont légèrement supérieures au témoin qui est classé dans le groupe (c) selon le test de Newman-Keuls ($\alpha = 5\%$) (Tableau 3.16, Figure 3.19).

Tableau 3.16 : Poids frais et poids sec (g) de la partie aérienne

Traitements	Poids frais	Poids sec
Concombre CHAO	8.25 (a)*	1.10 (a)*
Concombre P64	7.44 (b)	0.97 (b)
Concombre S20	7.26 (c)	0.99 (b)
Concombre Témoin	7.11 (c)	0.90 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.3.4 Surface foliaire

L'évaluation de la surface foliaire a permis de montrer que la différence est significative ($p < 0.05$). Une meilleure surface foliaire a été obtenue chez les plants bactérisés par la souche CHAO, suivi par ceux bactérisés par les souches S20 et P64 (Tableau 3.17, Figure 3.21).

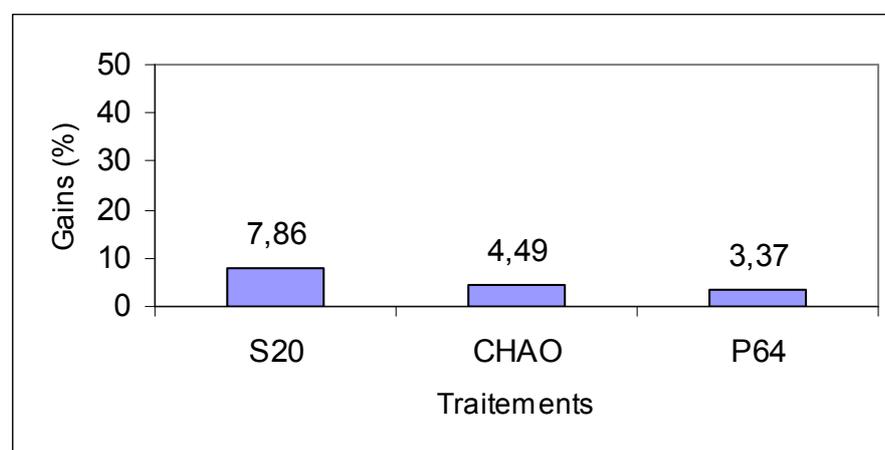
Tableau 3.17 : Surface foliaire (cm²) chez le concombre.

Traitements	Surface foliaire
Concombre CHAO	125.52 (a)*
Concombre S20	116.99 (b)
Concombre P64	114.9 (c)
Concombre Témoin	111.85 (d)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.1.4 Estimation des gains en croissance

Les effets de biostimulation enregistrés sur le concombre présente un gain de la levée de 20.96%, et la vitesse de germination est plus rapide chez les plants bactérisés par rapport aux témoins. Toutefois, ce gain en taux de levée est nettement inférieur chez les plants de blé tendre bactérisés où nous avons obtenu que 7.86% (Figure 3.20, 3.21).

**Figure 3.20** : Gains (%) en taux de levée chez le blé tendre.

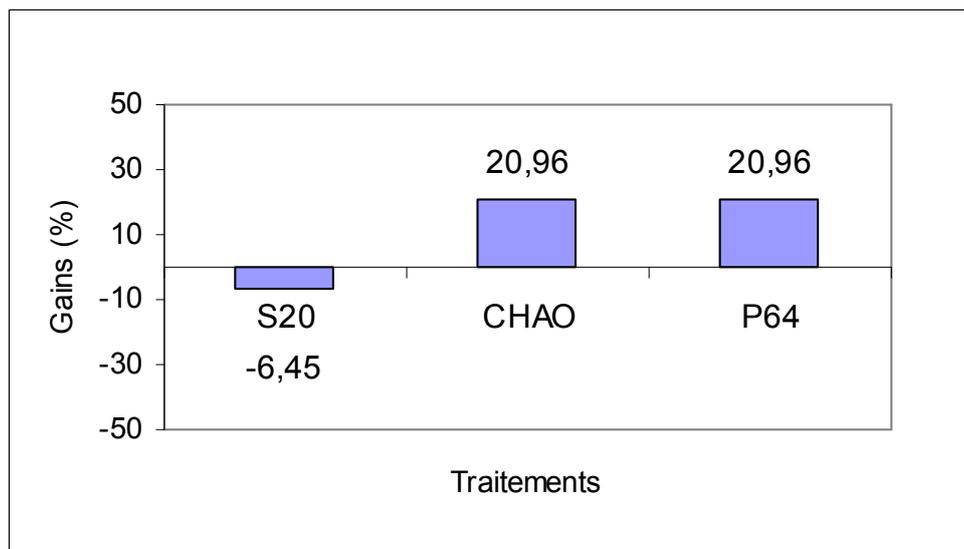


Figure 3.21 : Gains (%) en taux de levée chez le concombre.

Une certaine fluctuation de l'effet de biostimulation a été enregistrée dans les interactions étudiés, notamment la souche S20 qui a induit un gains du taux de levée estimé a 7.86% chez le blé tendre, tandis qu'elle a enregistré un taux d'inhibition de -6.45% en interaction avec le concombre (Figure 3.20, 3.21).

Dans le même sens, la souche CHAO, a induit la valeur maximale en poids frais chez la tomate (32.30%), alors que chez le concombre et le blé tendre elle a enregistré des taux faibles en poids frais qui sont respectivement de 16.03% et de 17.64% (Figure 3.22, 3.23, 3.24).

Pour la souche P64 ces effets bénéfiques, enregistrés au niveau de la longueur des racines, sont meilleurs chez la tomate 26.54% que chez le blé tendre 7.35% (Figure 3.22, 3.23).

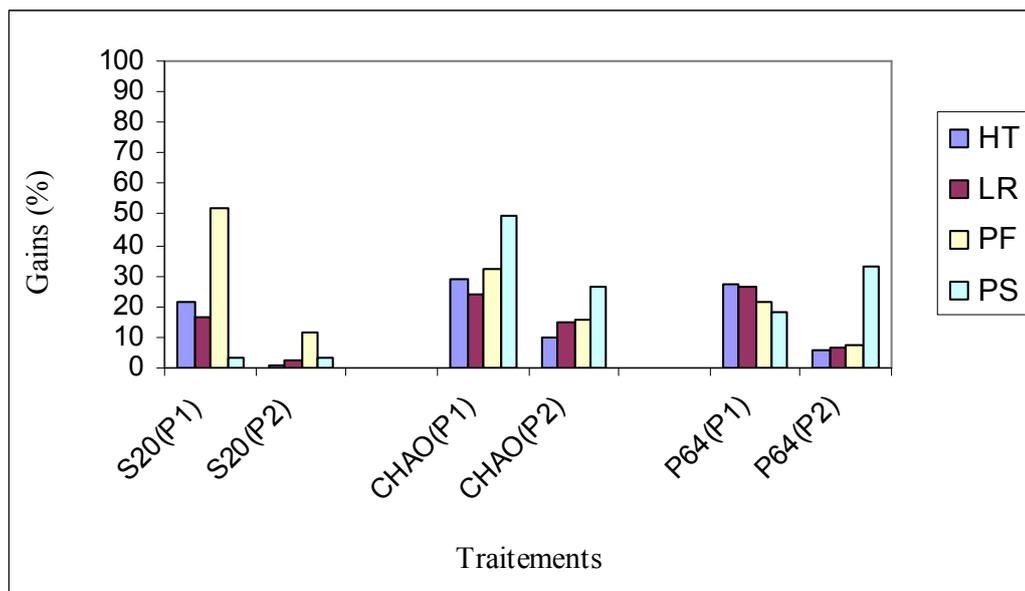


Figure 3.22 : Gains (%) par rapport au témoin chez la tomate.

P1 : Période 1 (après 16 jours de la bactérisation).
 P2 : Période 2 (après 31 jours de la bactérisation).
 HT : Hauteur tige.

LR : Longueur racinaire.
 PF : Poids frais.
 PS : Poids sec.

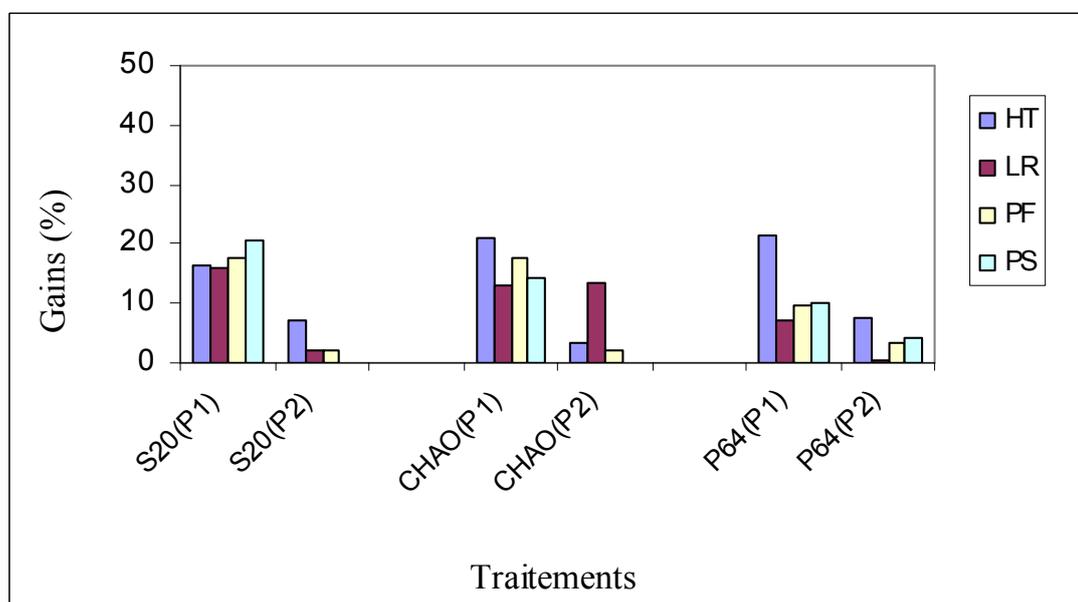


Figure 3.23 : Gains (%) par rapport au témoin chez le blé tendre.

P1 : Période 1 (après 16 jours de la bactérisation).
 P2 : Période 2 (après 31 jours de la bactérisation).
 HT : Hauteur tige.

LR : Longueur racinaire.
 PF : Poids frais.
 PS : Poids sec.

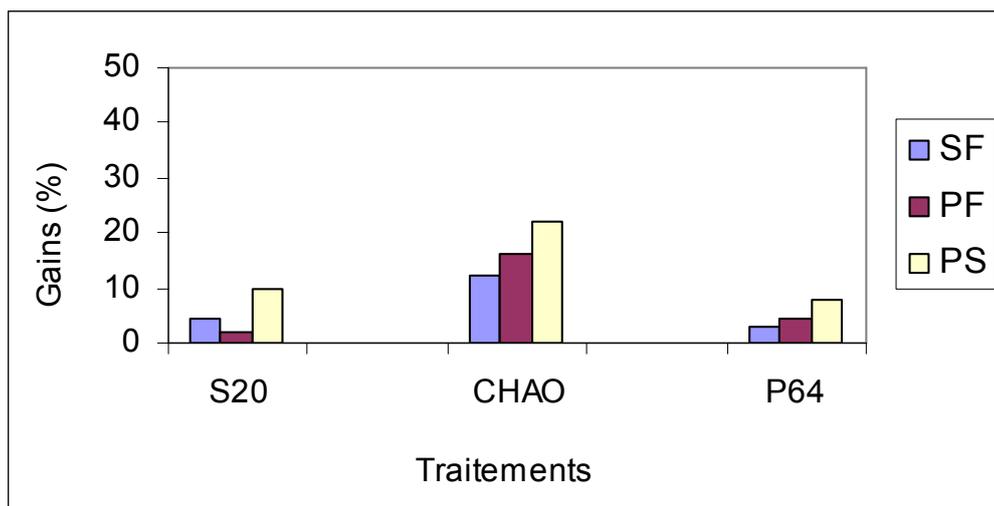


Figure 3.24 : Gains (%) par rapport au témoin chez le concombre.

P1 : Période 1 (après 16 jours de la bactérisation).
 P2 : Période 2 (après 31 jours de la bactérisation).
 HT : Hauteur tige.

LR : Longueur racinaire.
 PF : Poids frais.
 PS : Poids sec.

3.1.5 Discussion partielle

Nos essais ont mis en évidence des effets notables de phytostimulation sur les trois espèces végétales étudiées (blé tendre, tomate, et concombre) par rapport au témoin.

D'une manière générale, les traitements bactérisés associés aux trois souches, P64, CHAO et S20 ont montré des gains appréciables en croissance végétale. La biostimulation de la croissance végétale des trois espèces étudiées, n'apparaît pas de façon spécifique. En effet nous n'avons pas noté des effets de phytostimulation préférentielle des souches bactériennes utilisées avec les plantules de tomate, de concombre ou de blé tendre.

Les variabilités constatées entre les espèces s'expliquent par la nature de croissance de chaque type végétal, déterminé par ses caractéristiques botaniques et selon leur mode de croissance et de développement [271].

La biostimulation de la levée peut s'expliquer par une amélioration des potentialités physiologiques des semences en les prédisposant à une meilleure adaptation et en induisant une germination rapide. L'activité bactérienne autour des

semences peu créer des conditions favorables à la germination, et cela par la synthèse de l'éthylène qui favorise la sortie de la dormance des semences [272].

Les actions bénéfiques procurées par les trois souches de *Pseudomonas fluorescens* apparaissent de façon aléatoire avec les espèces végétales étudiées. Nous avons constaté des effets bénéfiques en levée des plantules et de même pour les principaux paramètres de croissance évalués.

Notons que, les performances de la souche locale P64 apparaissent surtout sur la hauteur de la tige la longueur racinaire chez la tomate et le blé tendre. Plusieurs auteurs [372,373,374,85] ont signalé que l'origine écologique (géographique et plante hôte) sont souvent déterminants et ont une influence sur la performance et la stabilité de l'expression des effets bénéfiques. D'un autre côté, certaines souches bactériennes, peuvent présenter une aptitude compétitrice supérieure à d'autres [374,130,163].

Dans le cas de nos essais il est difficile de se prononcer sur l'effet de l'origine géographique (région et plante hôte) par rapport à ces actions bénéfiques. La souche P64, isolée à partir de la rhizosphère d'abricotier, a montré le même profil aléatoire comparativement aux souches S20 et CHAO ; sachant que ces souches proviennent respectivement, de la rhizosphère du palmier dattier (Algérie) et la rhizosphère du tabac (Suisse).

Il est important de signaler que les différents essais ont été conduits dans des conditions contrôlées notamment le sol qui a été désinfectée permettant ainsi l'annulation et/ou l'inhibition de l'activité des microorganismes. Ces conditions procurent une certaine facilité pour l'installation de nos souches sans leur imposer une compétition pour l'espace et pour les nutriments disponibles dans ce sol.

Dans nos essais, les gains les plus élevées sont obtenus en poids frais et en poids sec de la partie aérienne. Cette amélioration a été constatée chez les trois espèces végétales étudiées, avec un taux maximum de 52.307% chez la tomate (Figures 3.22, 3.23 , 3.24).

Des variabilités relatives, selon l'espèce végétale, ont été rapportées par de nombreux auteurs [376,377]. Domey et Lippman [376] en cultivant le blé dans des conditions contrôlées, ont obtenu une augmentation significative de 8% en rendement de la partie aérienne. Un gain de 7 à 9% a été obtenu par Chabot [377] sur l'élongation des plants de maïs en plein champ, après 60 jours de croissance.

Les gains obtenus en poids frais et en surface foliaire suite à la bactérisation des plantules permettent de déduire que les actions bénéfiques apparaissent de façon plus notable sur l'activité physiologique de la plante et non pas sur la structure végétale. Ce constat a été démontré clairement dans les travaux de Van Peer *et al* [105] sur des cultures herbacées.

De nombreux travaux ont souligné la stimulation de la croissance de diverses espèces végétales par ces rhizobactéries. Cette stimulation traduite sur la biomasse aérienne et une augmentation des rendements, notamment en conditions axéniques [2,3].

Dans nos travaux, les effets de la biostimulation sont mieux perceptibles avec la souche CHAO, issue de la rhizosphère du tabac (Suisse), en interaction avec le concombre, au niveau des poids frais, poids sec, et la surface foliaire (Figure 3.24).

Les effets bénéfiques des PGPR apparaissent précocement sur la croissance du système racinaire [371]. Pour le cas des deux espèces végétales, la tomate et le blé tendre, étudiées dans nos expérimentations, les effets de biostimulation sont constatés au début de la croissance.

Plusieurs études démontrent la contribution des *Pseudomonas* spp fluorescent dans l'amélioration de l'alimentation minérale des plantes essentiellement pour le fer, le phosphore, l'azote et le manganèse [8,71,72,75].

Des expériences de double marquage à l'aide de Fe⁵⁹ et de C¹⁴- sidérophore ont permis de montrer que le complexe fer – sidérophore était transporté dans la cellule végétale [378,95]. Cette stratégie d'acquisition du fer, en condition de carence, était mise en évidence chez les graminées [379,95]. De plus la molécule de sidérophore secrété par la souche de *Pseudomonas putida* WCS358 accroît

l'acquisition des ions ferrique et stimule la synthèse chlorophyllienne de l'orge [380,381].

Certains *Pseudomonas* seraient capables de solubiliser le phosphore organique du sol [96,97,98], une partie de des phosphates est alors reprise par le système racinaire des plantes [85].

Le manganèse est également solubilisé par les *Pseudomonas* spp fluorescent, grâce à des agents chélateurs qui forme un complexe soluble accessible aux végétaux [102,103].

Avec un autre nécessaire, l'azote ; l'étude réalisée par Lifshitz *et al* [382] montre que l'amélioration de la croissance du colza est due à l'amélioration de son alimentation en cet élément, suite à sa fixation par quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

Les mécanismes qui induisent ces gains de croissance peuvent être la conséquence d'une production ou d'un changement dans la concentration de certaines phytohormones tels que l'acide indolacétique (AIA), l'acide gibbérellique [87,88,4].

L'étude de Joo *et al.*, [383] montre que l'augmentation de la colonisation rhizosphérique accroît la probabilité d'une augmentation de l'absorption racinaire des gibbérellines sécrétée par ces rhizobactéries.

A l'exception du poids sec de la partie aérienne chez la tomate, l'estimation des gains en promotion de la croissance montre que les effets sont significatifs particulièrement lors de la première coupe, correspondant à 16 jours après la bactérisation, ce qui explique d'avantage l'hypothèse émise par Lemanceau [8], que l'action des rhizobactéries bénéfiques est exercée plus dans les stades juvéniles des plantes. Ces actions de phytostimulation tendent à disparaître en cours de la culture [384,385,386].

Latour *et al* [361], démontrent que la distribution des populations de *Pseudomonas* spp. fluorescents est influencé d'une façon sélective par la plante. Cette distribution est nettement plus importante dans un sol rhizosphérique que dans

le sol nu [387,388]. Les essais de [389], montrent que l'expression de l'ensemble de ces effets bénéfiques est d'autant plus intense que la densité bactérienne est élevée.

D'autres travaux, ont mis en évidence la liaison étroite entre le pouvoir de colonisation des rhizobactéries avec l'expression des potentialités responsables des effets bénéfiques chez quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents [148,390,213,208,391,392].

Il est à noter aussi que la qualité et la quantité des rhizodépôts favorisent la prolifération des rhizobactéries tout en conditionnant la nature des activités bactériennes [43,44,45,192].

Il a été démontré que le chémiotactisme exercé par la souche bactérienne WCS356 envers quelques acides aminés, présent dans les exsudats racinaires de la tomate jouent un rôle important durant la colonisation racinaire [208].

Le maintien et le développement de la souche bactérienne introduite sont conditionnés par la capacité d'accueil de la rhizosphère [164,129].

Les mécanismes par lesquels les *Pseudomonas* spp. fluorescents promouvent la croissance végétale sont mal élucidés, cela est dû à la variation ainsi que la complexité des métabolites déterminant la phytostimulation, ce qui a incité plusieurs chercheurs à étudier de façon approfondie les mécanismes responsables des effets bénéfiques [391,392,383].

3.2 La compétence rhizosphérique

En suivant le protocole de dénombrement établi au laboratoire d'écologie microbienne et pathologie des sols (UMR-INRA-Dijon-France), nous avons sélectionné les boîtes présentant entre 30 à 600 colonies (Figure 3.25).

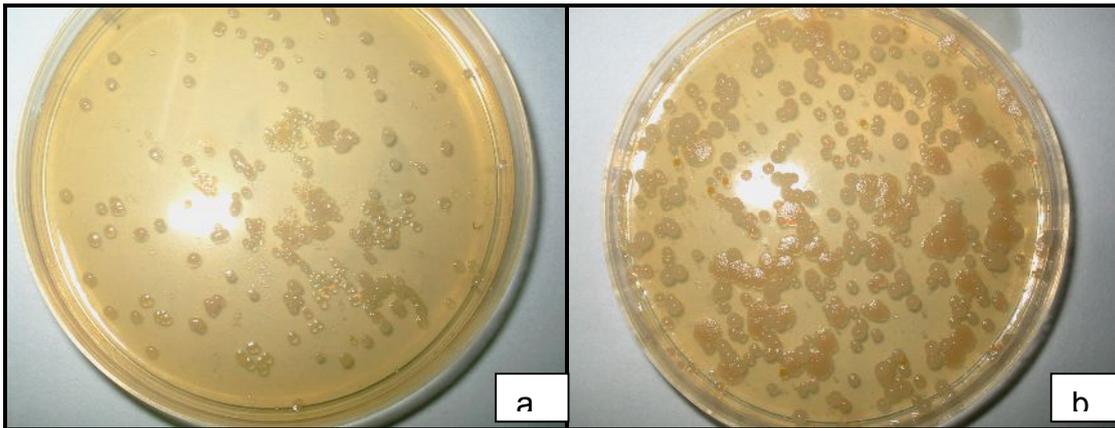
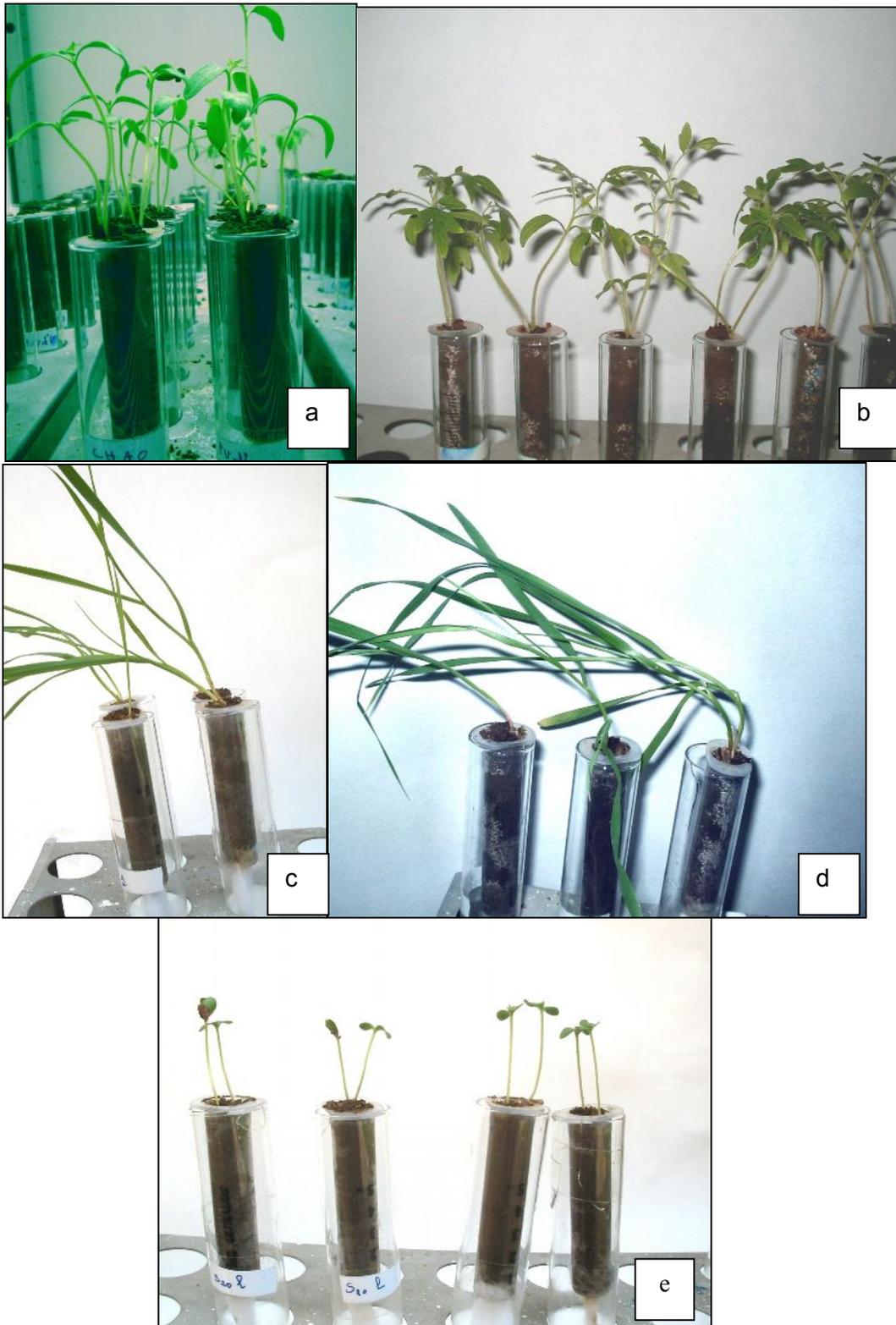


Figure 3.25 : Boîte présentant des colonies bactériennes.

- a: boîte contenant plus de 30 colonies,
- b :boîte contenant moins de 600 colonies sur le milieu KB après 24 heures d'incubation.

Les dénombrements ont été réalisés à deux périodes différentes, après 15 et 30 jours du semi, ainsi les résultats obtenus dans les différents microcosmes, toutes espèces végétales confondues (blé, lin et tomate) (Figure 3.26) (Appendice G), révèlent une nette évolution des populations bactériennes par rapport aux apports initiaux (10^8 CFU/ g de sol). En effet après 15 jours (P1), les densités enregistrées étaient très notables de l'ordre de 10^9 à 10^{11} CFU/ g de sol pour les trois souches bactériennes testées (Figure 3.26).

Toutefois les densités obtenues après 30 jours du semis, montrent une légère diminution par rapport aux densités enregistrées dans la première période (après 15 jours), toutefois elles restent plus importantes comparativement où l'apport initial (Figure 3.27).



Microcosmes de tomate après 15 jours (a) et 30 jours (b) du semis et de la bactérisation.

Microcosmes de blé après 15 jours (c) et 30 jours (d) du semis et de la bactérisation.

Microcosmes du lin après 15 jours (e) du semis et de la bactérisation

Figure 3.26 : Développement des plantes dans les microcosmes.

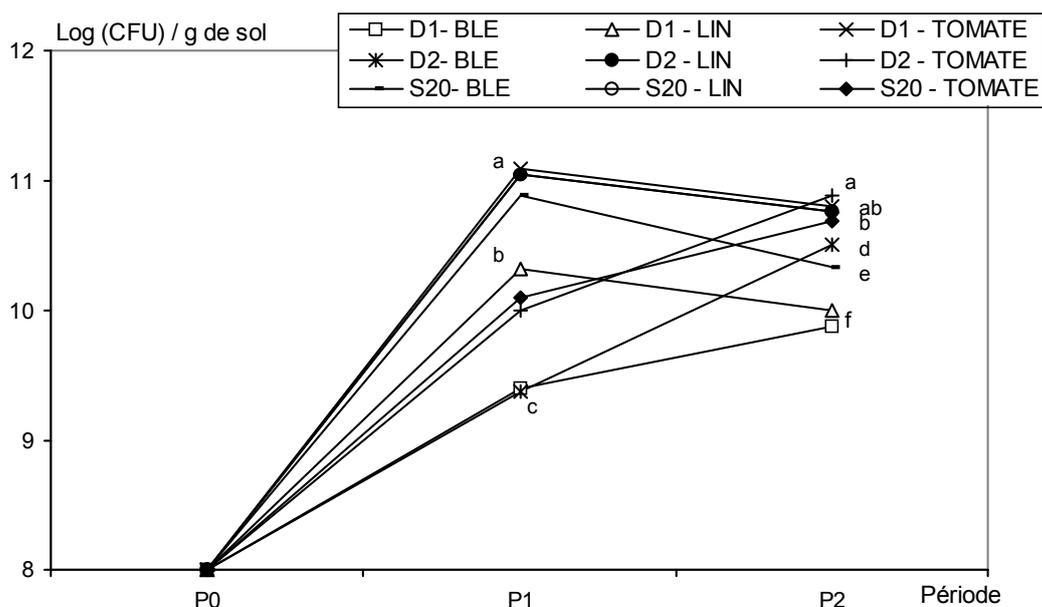


Figure 3.27 : Evolution des populations bactériennes en fonction du temps dans les microcosmes des trois plantes.

Les dénombrements effectués après 15 jours de la bactérisation (P1) révèlent une évolution des populations bactériennes classées en trois groupes homogènes (a, b, c) selon le test de Newman-Keuls au seuil du risque $\alpha = 5\%$. Les interactions D1- tomate, D2 – lin, S20 – blé et S20 – lin, formant le groupe (a), ont montré les niveaux de colonisation les plus élevés, dont la concentration est au alentour de 10^{11} CFU/ g de sol.

Le groupe homogène (b), regroupe les traitements D1 - lin, D2 - tomate et S20 – tomate la concentration bactérienne enregistrée avoisine 10^{10} CFU/ g de sol.

Le dernier groupe homogène (c), avec une concentration proche de 10^9 CFU / g de sol, regroupe les traitements D1 en interaction avec le blé et D2 en interaction avec le blé. On constate après 30 jours (P2) de la bactérisation des microcosmes, une légère diminution des concentrations bactérienne par rapport à la première période qui englobe la totalité des interactions étudiées.

De faibles diminutions dans les populations bactériennes ont été observées dans le cas des souches D1 en interaction avec la tomate et la souche D2 en interaction avec le lin. Ainsi les concentrations respectives ont passé de $1.32 \cdot 10^{11}$ à $6.27 \cdot 10^{10}$ CFU/g de sol et de $1 \cdot 10^{10}$ à $5.73 \cdot 10^{10}$ CFU/g de sol (Figures 3.28).

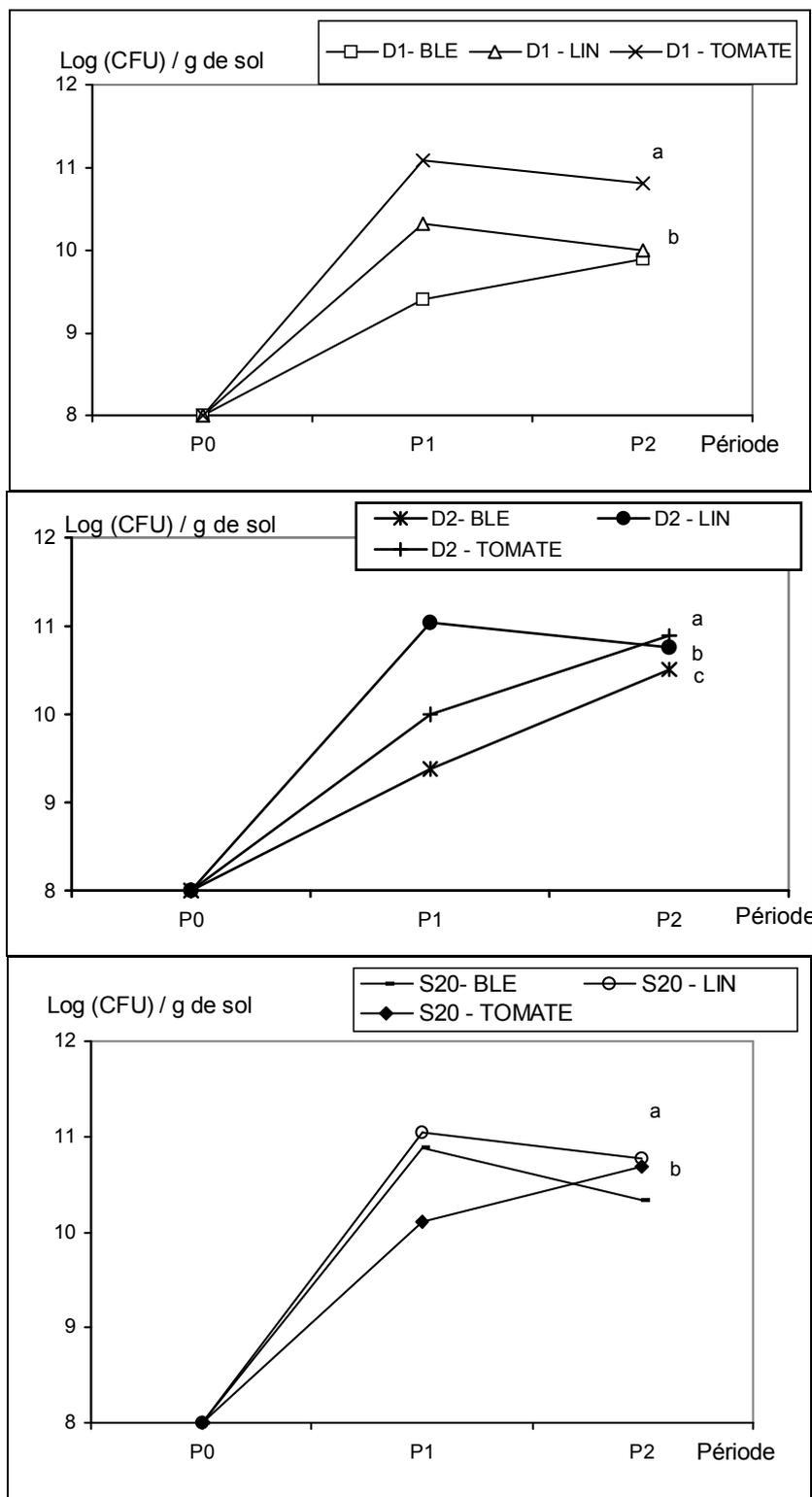


Figure 3.28 : Evolution des populations bactériennes en fonction du temps.

P0 : Au moment de l'inoculation des microcosmes.

P1 : Première période 15 jours après l'inoculation des microcosmes.

P2 : Deuxième période 30 jours après l'inoculation des microcosmes.

D1, D2 et S20 : souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

Le dénombrement effectué sur les microcosmes ayant subi un changement dans la concentration en fer (appendices 4, 5, 6), révèle que la densité bactérienne des souches étudiées a, plus ou moins, évolué dans le temps dans les différents traitements par rapport au témoin.

Après 15 jours de la bactérisation (Figure 3.29), les isolements effectués ont révélé une augmentation assez importante des populations bactériennes par rapport aux densités bactériennes initiales apportées (Figure 3.30). Il est à noter que la plus forte progression a été enregistrée avec les plantules bactérisées par la souche CHAO et les traitements $T_{\text{CHAO-Fe}}$, $T_{\text{CHAO-EDTA}}$ et T_{CHAO} qui constituent un groupe homogène (a) avec une densité aux alentours de 10^{11} CFU /g de sol.



Figure 3.29 : Microcosmes de Plantules de tomate après 15 jours du semis et de la bactérisation.

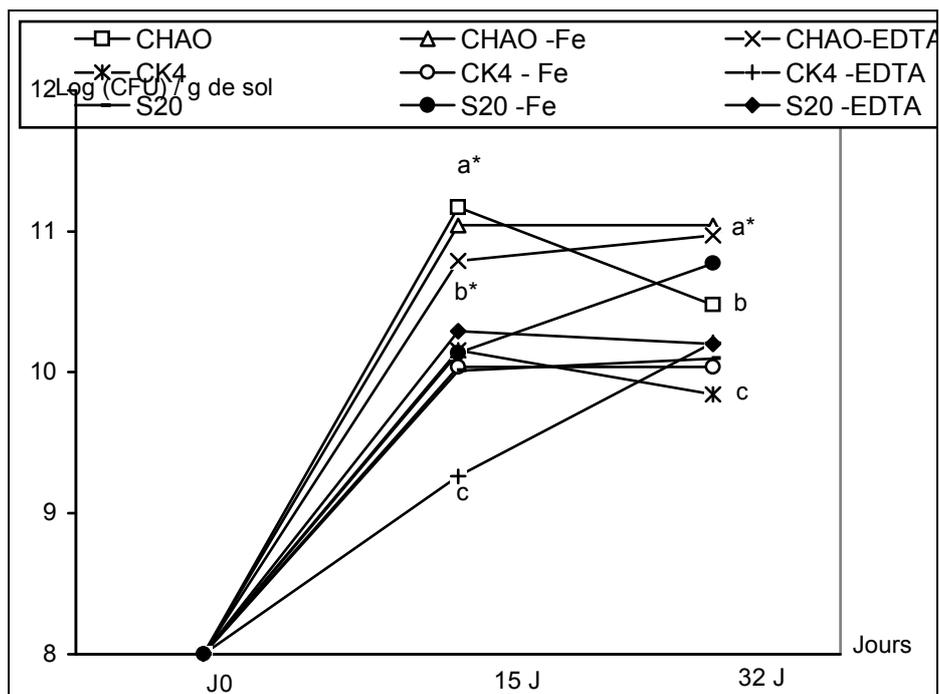


Figure 3.30 : Evolution des populations bactériennes en fonction du temps.

* : Les traitements avec la même lettre ne présentent pas une différence au seuil $\alpha=5\%$.

Les dénombrements effectués après 32 jours de la bactérisation (Figure 5.33), ne montrent pas une variation sensible par rapport aux résultats enregistrés après 15 (Figure 5.32).



Figure 3.31 : Microcosmes de Plantules de tomate après 32 jours du semis et de la bactérisation.

Les variations les plus notables sont surtout le cas du traitement T_{CHAO} où la densité a diminué de 1.48×10^{11} à 3.03×10^{10} . Contrairement, les traitements $T_{\text{CK4-EDTA}}$ et $T_{\text{S20-Fe}}$ ont enregistré une nette augmentation passant respectivement de 1.83×10^9 à 1.62×10^{10} et de 1.36×10^{10} à 5.94×10^{10} (Figure 3.30). Enregistre pour la souche CK4 mutant de CHAO déficient en production de pyoverdine, le même aspect, des courbes obtenues pour la souche CHAO, à la différence du traitement $T_{\text{CK4-EDTA}}$ qui présente une population légèrement importante que le témoin. (Figure 3.32).

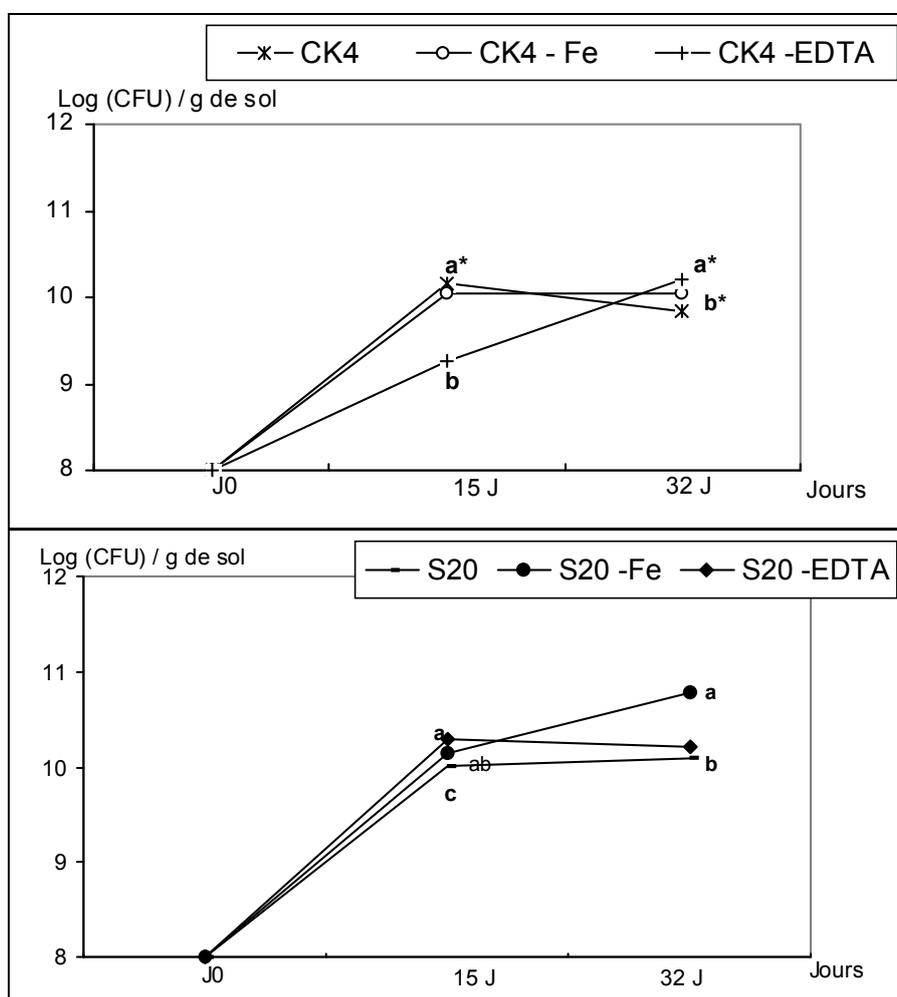


Figure 3.32 : Evolution des populations bactériennes en fonction du temps.

* : les traitements avec la même lettre ne présentent pas une différence au seuil $\alpha= 5\%$.

3.2.1 Discussion partielle

Les dénombrements effectués révèlent une bonne colonisation des systèmes racinaires, se traduisant par une compétence rhizosphérique appréciable chez les trois souches bactériennes étudiées.

D'une manière générale en comparant les variations enregistrées dans les deux périodes de dénombrements (P1, 15 jours) et (P2, 30 jours) par rapport aux inoculums initiaux apportés dans les microcosmes à (P0), il a été clairement noté que les souches bactériennes sont plus actives entre (P0) et (P1). Les évolutions pendant la deuxième période (P2) renseignent que ces populations arrivent à des seuils maximum où les densités bactériennes se stabilisent. La multiplication et la survie bactérienne est régit et régulé par l'espace rhizosphérique offert et la quantité ainsi que la qualité des éléments nutritifs disponibles. La richesse du milieu en éléments nutritifs influence la vitesse de la division cellulaire et par conséquent la multiplication et la survie bactérienne [393].

A l'issu de ces résultats, nous pouvons constater l'aptitude compétitrice des trois souches bactériennes (D1, D2 et S20) dans les rhizosphères du lin et de tomate. Donc les plantules de lin et de tomate exercent un effet rhizosphérique remarquable par rapport à la rhizosphère de blé.

Les densités maximales en populations bactériennes dénombrées au niveau des masses unitaires racinaires, sont définies comme un potentiel de colonisation et d'adaptation [394].

Quelque soit la souche étudiée et son origine rhizosphérique (lin, tomate ou palmier dattier), il a été constaté une adaptation dans les différents environnements rhizosphériques étudiés. Les souches de *Pseudomonas fluorescens* utilisées, ont montré une bonne capacité de colonisation racinaire avec 10^{11} CFU / g de sol, traduite par une intense activité dans ces micro-habitats. Scher *et al* [395] ont estimé que le seuil de 5.10^3 CFU / g de sol constitue un bon indice de la réussite de la colonisation racinaire.

Les fluctuations des densités des populations observées entre les différentes interactions étudiées peuvent être liées à la capacité d'accueil de la rhizosphère ; le

sol et la plante qui ont un effet sur la diversité des populations de *Pseudomonas* spp. fluorescents [391,33].

Cette grande rhizocompétence vient sans doute de leur taux de croissance élevé ainsi que leur capacité à métaboliser efficacement plusieurs composés des exsudats racinaires [396].

Les rhizodépôts représentent la source principale de carbone dans la rhizosphère, elle jouerait donc un rôle important dans l'établissement et l'efficacité de la colonisation rhizosphérique [397]. La nature qualitative et quantitative de la matière organique exsudée varient en fonction des espèces végétales considérées et dépendent en partie des racines (durée de vie, anatomie, morphologie, composition chimique) [37,38,39,40].

La compétence rhizosphérique chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents varie d'une souche à l'autre [8], avec une remarquable capacité de colonisation des racines tout en maintenant une forte densité de population [161].

Il est à noter aussi que la colonisation racinaire des *Pseudomonas* spp. fluorescents implique de nombreuses propriétés microbiennes telles que la synthèse des antibiotiques, la mobilité, le chimiotactisme, la présence des acides aminés et les vitamines, et la production des lipopolysaccharides (LPS)[213,75,399,398,391].

L'importance des populations des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans les microcosmes, la rhizosphère au sens strict, est due au succès de la colonisation racinaire. En effet, cette dernière s'effectue en deux temps : les bactéries s'attachent d'abord à la racines et sont donc distribuées de façon passive, puis elle se multiplie et colonise de façon active la rhizosphère [400].

Les amendements effectués dans le sol, de certains microcosmes, semblent affecter la dynamique des populations bactériennes dans certaines situations. Dans le cas de la souche CHAO, l'addition du fer ou de l'EDTA, engendre des variations significatives par rapport au sol naturel (Figure 3.30).

La variabilité a été remarquable dans les 15 premiers jours de la bactérisation, les différents traitements ont un comportement presque identique dans la première période par rapport au témoin, signe d'une adaptation avec les conditions du milieu.

Après 32 jours de la bactérisation, le traitement T_{CHAO-Fe} affiche une stabilité de cette souche étant donné la disponibilité des éléments nutritifs essentiels à la croissance, y compris le fer, ajouté à l'absence de la concurrence dans le sol. Dans le traitement T_{CHAO-EDTA}, la souche bactérienne a pu s'adapter et survivre à une carence en fer par la sécrétion de sidérophores, ce qui peut permettre de chélater le fer, le rendant accessible à la cellule bactérienne.

La chélation du fer ionique due à la présence de l'EDTA et le phénotype de cette souche pas de production de pyoverdines, semblent affectée l'évolution de cette souche dans de telles conditions par rapport à la souche sauvage CHAO. Néanmoins les concentrations obtenues témoignent d'une bonne colonisation rhizosphérique qui reste, quelque soit le traitement, aux alentours de 10¹⁰ CFU / g de sol.

Cette adaptation peut s'expliquer par d'autres caractéristiques phénotypiques relatives aux profils trophiques et même par la production de métabolites, analogues ou similaires, qui peuvent compenser la déficience en production de pyoverdines.

Selon les travaux réalisés par Mossialos *et al* [190] sur des mutants de *Pseudomonas fluorescens* déficients en production d'autre types de pyoverdines, ont pu survivre à un milieu carencé en fer par la production d'un sidérophore nommé quinolobactine qui possède une affinité inférieure au fer par rapport au pyoverdine.

Par ailleurs, Duffy et Défago [170], ont montré que des mutants de la souche CHAO produisent en cas de carence en fer dix fois plus de pyochéline que la souche sauvage, comme une réponse adaptative à une telle situation.

Sur la base de ces études, il semble que la souche CK4 peut sécréter d'autres sidérophores que les pyoverdines pour pallier au manque de fer, pour expliquer la

bonne adaptation de ce mutant déficient en production de pyoverdines et en présence de chélateurs de fer.

Dans le cas des traitements associés avec la souche S20, nous constatons une variabilité significative dans le cas de présence de l'EDTA ou du fer. Ainsi la concentration bactérienne a évolué dans le cas de présence du fer et reste stable dans le cas de l'addition de l'EDTA comparativement au sol naturel.

Il est à signaler que cette souche a été isolée à partir de la rhizosphère du palmier dattier, chose qui ne semble pas influencer les potentialités de colonisation et d'adaptation à la rhizosphère de la tomate.

3.3 La stimulation de la nodulation

3.3.1 Isolement des souches de *Rhizobium* sp.

L'aspect macromorphologique observé chez les colonies isolées, montre des spécificités propres aux colonies des *Rhizobium* sp. à savoir, des colonies circulaires, bombées, lisses, visqueuses de 2 à 4 millimètres de diamètres, avec une pigmentation similaire à celle de la couleur de l'agar (Figure 3.33).

La réinoculation des souches de *Rhizobium* sp., nous a permis de sélectionner trois souches ayant provoqué la formation des nodules sur les racines des plants de fève.



Figure 3.33 : L'aspect macromorphologique des colonies de *Rhizobium* sp.

3.3.2 Paramètres de croissance

Les paramètres de croissances étudiées ont été mesurés à la fin de l'expérimentation, soit après 40 jours de la bactérisation.

La co-inoculation des souches de *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1, R2 et R3), révèlent une augmentation en volume de la nodulation, en pois frais et sec de la biomasse aérienne et racinaire, ainsi qu'un taux élevé de la matière azotée total comparativement au témoin non bactérisé.

3.3.2.1 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

Les résultats obtenus révèlent que l'interaction des souches des *Pseudomonas fluorescens* et les souches de *Rhizobium* sp. a influencé positivement le poids frais et le poids sec de la biomasse aérienne.

Pour le poids frais, nous avons enregistré un poids maximal de 12.281 g pour l'interaction de la souche P64 avec la souche R3 alors que le témoin n'a enregistré que 10.662 g. Cependant l'interaction avec la souche CHAO a enregistré un poids inférieur à celui du témoin avec 10.55 g (Tableau 3.18).

Les autres interactions entre les souches P64 et CHAO et les souches R1 et R2 ont montré des poids légèrement supérieurs à celui du témoin (Tableau 3.18).

Tableau 3.18 : Poids frais en gramme (g) de la partie aérienne.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Poids frais	10.56 ± 1.17 (c)*	11.46 ± 1.62 (a)	10.55 ± 0.49 (c)	10.92 ± 1.64 (c)	11.28 ± 1.87 (b)	12.28 ± 1.93 (a)	10.49 ± 0.44 (c)	10.26 ± 1.37 (c)	10.66 ± 0.45 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

Concernant le poids sec de la partie aérienne, la meilleure performance concerne les plants bactérisés de l'interaction (P64 + R3) avec une valeur de 4.88 g par rapport au témoin qui présente une valeur de 4.55 g. Les autres interactions ont montré des valeurs légèrement supérieures à leurs témoins respectifs (Tableau 3.19).

Tableau 3.19 : Poids sec en gramme (g) de la partie aérienne.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Poids sec	4.72 ± 1.31 (a)*	4.74 ± 1.86 (a)	3.54 ± 0.81 (c)	3.68 ± 0.18 (c)	4.57 ± 1.13 (b)	4.88 ± 0.72 (a)	3.71 ± 1.86 (c)	3.68 ± 0.42 (c)	4.55 ± 2.07 (b)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.3.2.2 Hauteur de la partie aérienne

Les mesures effectuées, au terme de notre expérimentation, présentent une augmentation de la hauteur par rapport au témoin (Figure 3.34). La valeur maximale enregistrée est de 45.15 cm pour l'interaction de la souche P64 avec la souche R3, alors que la valeur du témoin n'est que 39.87 cm. L'interaction des souches CHAO et R3 a provoqué une certaine augmentation avec une hauteur de 41.02 cm. (Tableau 3.20).

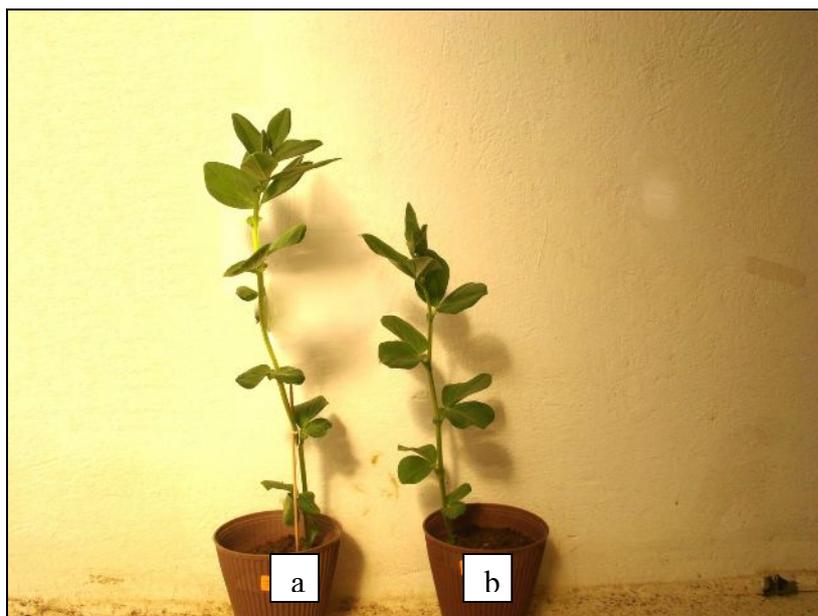


Figure 3.34: Hauteur de la partie aérienne du traitement bactérisé avec les deux rhizobactéries (a) et le témoin (b).

Tableau 3.20 : Hauteur en centimètre (cm) de la partie aérienne.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Hauteur	40.52 ± 0.22 (b)*	41.58 ± 0.64 (b)	41.02 ± 0.70 (b)	40.40 ± 1.48 (b)	41.74 ± 1.72 (b)	45.15 ± 1.83 (a)	39.87 ± 1.66 (c)	39.79 ± 2.24 (c)	39.87 ± 1.63 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

Les plants bactérisés appartenant aux autres interactions (les souches CHAO et P64 avec les souches R1 et R2), ont montré une légère augmentation par rapport au témoin (Tableau 3.20).

3.3.2.3 Poids frais et poids sec de la partie racinaire

D'après les résultats obtenus (Tableau 3.21 et 3.23), nous constatons une augmentation des poids frais et sec de la partie racinaire au niveau des différentes interactions.

La valeur maximale du poids frais racinaire est enregistré au niveau du traitement de l'interaction P64 R3 avec un poids frais de 12.11 g, par rapport au témoin où nous avons obtenu 11.091g, tandis que l'interaction CHAO R3 a donné une valeur de 11.375 g légèrement supérieur au témoin. (Tableau 3.21).

Concernant les autres interactions, les valeurs enregistrées présentent une augmentation du poids du poids frais par rapport à leurs témoins respectifs (Tableau 3.21).

Tableau 3.21 : Poids frais en gramme (g) de la partie racinaire.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Poids frais	11.30 ± 1.66 (b)*	11.13 ± 0.95 (b)	11.37 ± 0.09 (b)	11.57 ± 1.04 (b)	11.93 ± 1.73 (b)	12.11 ± 2.10 (a)	10.85 ± 2.02 (c)	10.90 ± 0.15 (c)	11.09 ± 1.89 (bc)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

Comparativement au témoin, l'interaction P64 R3 présente la plus forte augmentation du poids sec racinaire avec une valeur de 4.590g. Une légère augmentation des valeurs du poids sec a été enregistrée chez les autres interactions (Tableau 3.22).

Tableau 3.22 : Poids sec en gramme (g) de la partie racinaire.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Poids sec	3.73 ± 0.48 (bc)*	4.33 ± 0.57 (a)	3.72 ± 1.54 (bc)	4.47 ± 0.50 (a)	3.87 ± 2.09 (b)	4.59 ± 2.13 (a)	3.59 ± 0.87 (c)	3.66 ± 0.69 (c)	3.71 ± 1.48 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.3.2.4 Longueur racinaire

En longueur racinaire, il a été enregistré des augmentations de longueur par rapport au témoin (Figure 3.40). Les plants bactérisés avec la souche P64, en interaction avec la souche R3 ont montré la longueur racinaire la plus élevée avec 29.29 cm, par rapport au témoin qui a enregistré une longueur de 27 cm (Tableau 3.23).

Les longueurs racinaires enregistrées au niveau des autres interactions révèlent une certaine augmentation relative par rapport à leurs témoins respectifs (Tableau 3.23).

Tableau 3.23 : Longueur racinaire en centimètre (cm).

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
Longueur	28.45 ± 1.41 (a)*	28.46 ± 1.29 (a)	27.24 ± 0.44 (ab)	28.44 ± 0.88 (a)	28.16 ± 1.56 (a)	29.29 ± 1.21 (a)	27.53 ± 0.49 (b)	26.28 ± 0.90 (c)	27 ± 1.35 (b)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.3.3 Nombre de nodules

Au terme de notre expérimentation, le nombre de nodules comptabilisé dans les différents traitements mis en évidence une meilleure nodulation par rapport aux témoins (Figure 3.35, Tableau 3.24).

La valeur maximale en nombre de nodules a été obtenue au niveau du traitement P64 R3 avec 23.66 nodules contre 16.66 nodules chez le témoin.



Figure 3.35 : Nodules sur les racines de la fève.

Tableau 3.24 : Nombre de nodules.

Traitement	CHAO			P64			R1	R2	R3
	R1	R2	C R3	R1	R2	R3			
Nombre de nodule	21.66 ± 3.21 (b)*	21 ± 1 (b)	17.66 ± 1.15 (c)	22 ± 1 (b)	21.33 ± 2.08 (b)	23.66 ± 0.57 (a)	16.66 ± 1.15 (c)	17.33 ± 0.57 (c)	16.66 ± 2.08 (c)

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

3.3.4 Matières azotées totales (MAT%)

Le dosage de la matières azotées totales sur les plants bactérisés, révèle une meilleure teneur chez les traitements bactérisés avec la souche P64 + R3 avec 19.95%, tandis que le témoin n'a enregistré que 16.45%, soit un gain de 25.31%.

3.3.5 Colonisation rhizosphérique

Les observations effectuées après 72 heures d'incubation révèlent la présence des *Pseudomonas fluorescens*, au niveau des fragments de racines,

caractérisées par leurs pigment fluorescent présent sur toute la surface de la boîte de Pétri (Figure 3.36).

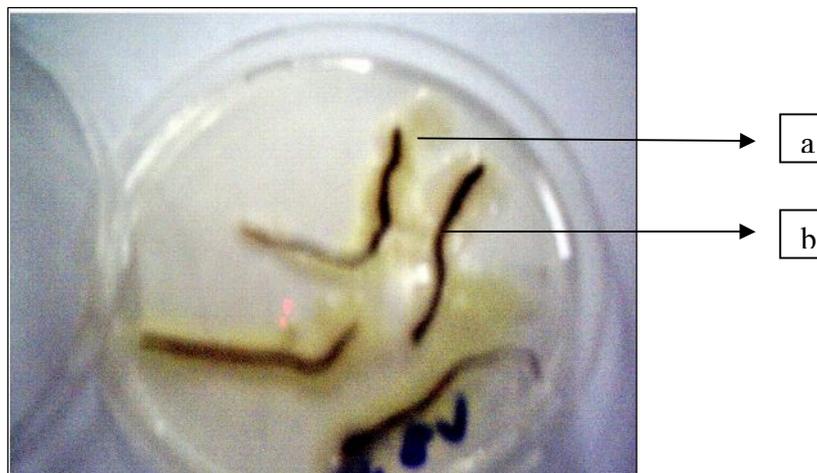


Figure 3.36: Fragments des racines de fève bactérisés après 72 h d'incubation.

a : pigment fluorescent des bactéries *Pseudomonas fluorescens*.
b : fragment de racines bactérisés.

3.3.6 Estimation des gains

D'une manière générale, les interactions étudiées révèlent des gains appréciables en croissance végétale (Figure 3.37, 3.38, 3.39).

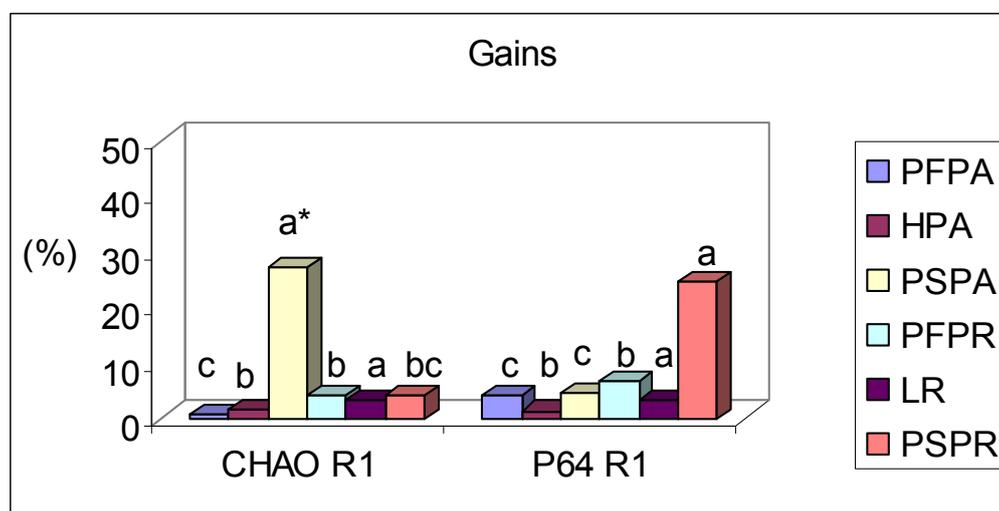


Figure 3.37 : Gains des interactions entre *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et P64) la souche de *Rhizobium* sp. R1.

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

PFPA : Ppoids frais de la partie aérienne.

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

PSPA : Poids sec de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

LR : Longueur racinaire.

PSPR : Poids sec de la partie racinaire.

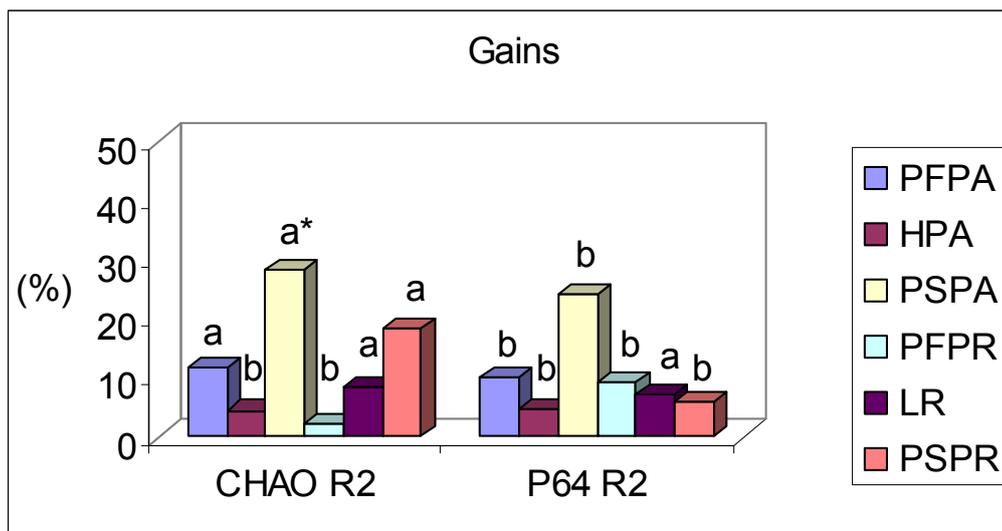


Figure 3.38 : Gains des interactions entre *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et P64) la souche de *Rhizobium* sp. R2.

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

PFPA : Ppoids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

LR : Longueur racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie aérienne.

PSPR : Poids sec de la partie racinaire.

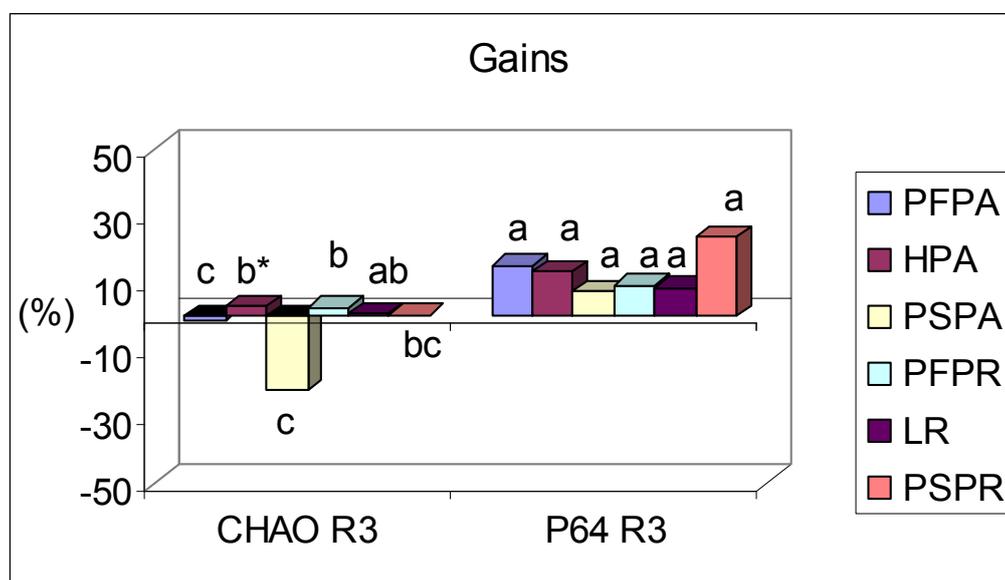


Figure 3.39 : Gains des interactions entre *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et P64) la souche de *Rhizobium* sp. R3.

(*) : Les taux suivis de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le test de Newman – Keuls ($\alpha = 5\%$).

PFPA : Ppoids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

LR : Longueur racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie aérienne.

PSPR : Poids sec de la partie racinaire.

Une certaine fluctuation de l'effet de biostimulation a été enregistrée dans les différentes interactions étudiées. En effet la souche P64 affiche des taux plus ou moins appréciables au niveau des différents paramètres étudiés où elle a enregistré des gains, en poids frais de la partie aérienne, allant de 4.08%, 9.98% et 15.18% en interaction respective avec les souche de *Rhizobium* sp. R1, R2 et R3 (Figure 5.37, 5.38 et 5.39).

Cette fluctuation est plus perceptible au niveau des traitements bactérisés avec la souche CHAO, où elle induit un gain de 28.13% du poids sec de la partie aérienne en interaction avec la souche R2, alors qu'elle a enregistré un taux d'inhibition de -22.13% dans l'interaction avec la souche R3 (Figure 5.38, 5.39).

La même constatation a été observée au niveau des gains en poids frais de la partie aérienne où nous avons obtenu un gain de 11.75% en interaction avec la souche de *Rhizobium* R2 tandis qu'elle a enregistré un taux d'inhibition de - 1.05% en interaction avec la souche R3 (Figure 5.38, 5.39).

L'effet de l'interaction est plus notable sur le nombre de nodules comptabilisé où nous avons obtenu d'importants gains concernant la souche P64 avec 42% en interaction avec la souche R3 (Figure 5.40, 5.41, 5.42). Tandis que la meilleure performance de la souche CHAO a été enregistrée au niveau de l'interaction avec la souche R1 avec un gain de 30%.

Le dosage des matières azotées total l'interaction P64 avec la souche R3 présente un gain de 21.27% par rapport au témoin.

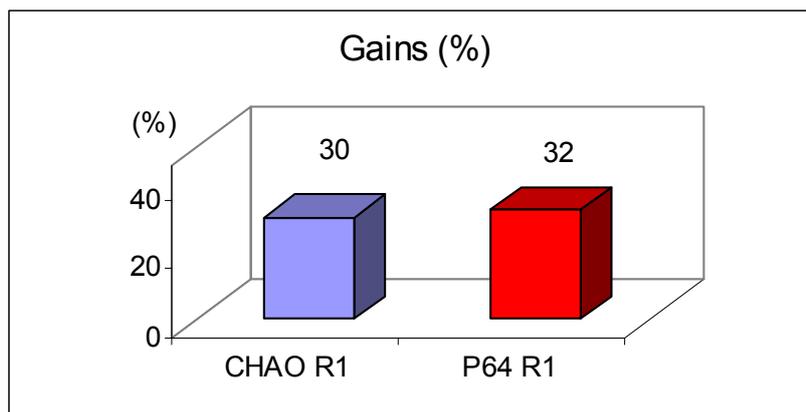


Figure 3.40 : Gains (%) obtenus des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R1.

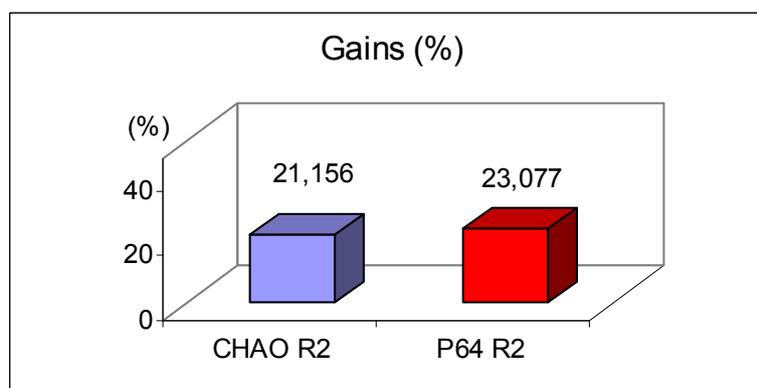


Figure 3.41 : Gains (%) obtenus des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R2.

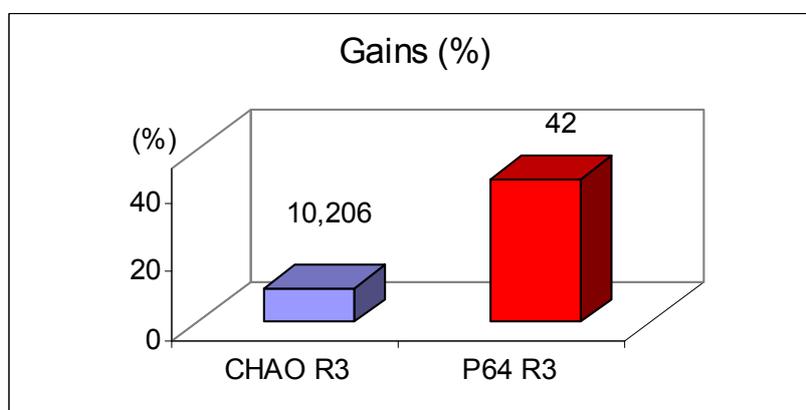


Figure 3.42 : Gains (%) obtenus des interactions les souches CHAO et P64 avec la souche R3.

3.3.7 Discussion partielle

Dans l'essai de co-inoculation (*Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp.), dans un sol désinfecté au préalable, révèle des effets positifs sur la formation des nodules, sur le développement de la biomasse aérienne et racinaire et une augmentation en teneur des matières azotées totales.

L'efficacité de l'association *Pseudomonas fluorescens* – *Rhizobium* sp., a été rapportée dans plusieurs études, ainsi que son impact positif sur la phytostimulation et la nodulation notamment avec d'autres cultures à savoir : les pois [401], trèfle [402], l'haricot [104], soja [403,404,405] et pois chiche [10].

Le synergisme observée entre les deux espèces rhizobactériennes se traduit par une biostimulation qui s'explique par le fait que les *Pseudomonas fluorescens* et les *Rhizobium* sp. peuvent produire une multitude de métabolites secondaires qui contribuent à l'expression de ces effets bénéfiques [8,4,72,33].

Une production ou un changement de la concentration des hormones de croissance secrétée par ces rhizobactéries peut influencer positivement la croissance végétale [33]. De plus les *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent sécréter des vitamines que les *Rhizobium*s ne peuvent pas produire [406,407,408], à l'exemple de certaines souches de *Bradyrhizobium* sp. qui ne produisent pas la biotine [408,409].

L'acquisition des éléments minéraux présente un autre aspect de la biostimulation, où la sécrétion des sidérophores et la solubilisation du phosphore joue un rôle clé dans l'expression de ces effets bénéfiques. En effet, l'acquisition des ions ferriques par ces rhizobactéries constitue une réserve importante pour la plante, ce qui va contribuer efficacement dans la croissance végétale [8,72,95,99].

Plusieurs souches de ces rhizobactéries induisent une augmentation de la surface racinaire par l'accroissement de la taille et du nombre des racines [410,411]. Le gain en volume racinaire entraînera une hausse de l'absorption minérale de la plante, qui à son tour, renforcera l'accumulation de la biomasse [411,412,413].

L'inhibition enregistrée avec la souche CHAO peut être expliquée par la présence de l'éthylène, qui peut être sécrété par certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents [89,90], la présence de ce composé en quantité importante durant la germination empêcherait l'élongation des racines influençant ainsi la biomasse aérienne.

La présence de l'acide cyanidrique dans la rhizosphère en quantité importante peut avoir un effet délétère sur la croissance des plantes [414,415,409]. L'inhibition exercée par la souche CHAO peut aussi être la conséquence de l'origine géographique (région et plante hôte) de cette souche, du moment que la souche CHAO est une souche de référence isolée en Suisse à partir de la rhizosphère du tabac, tandis que la souche P64 est souche isolée localement à partir de la rhizosphère de l'abricotier, tout comme les souches de *Rhizobium* sp. isolées des racines de la fève.

Plusieurs études démontrent l'aptitude des *Pseudomonas* spp. fluorescents à accroître la nodulation et la fixation azotée des plantes [416,417,418,419].

La production d'hormones de croissance par les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent influencer la formation des nodules. Chebotar *et al* [420] démontrent que la co-inoculation avec les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et *Bradyrhizobium japonicum* augmente le nombre de nodules du soja.

Plusieurs études ont observé l'inhibition du processus de nodulation ou la diminution du nombre de nodules par l'éthylène sur différentes cultures de légumineuses à l'exemple du soja, l'haricot, mélilot blanc, pois et le trèfle [421,422,423,424,425].

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents abaissent les niveaux d'éthylène dans la racine grâce à l'enzyme ACC deaminase qui réduit l'association racines – molécule ACC (1-aminocyclopropane-1- Acide carboxylique, précurseur de l'éthylène), toute en favorisant l'élongation des racines [426,90,427,428,421].

La solubilisation du phosphore présente un autre facteur d'augmentation du nombre des nodules ainsi que la fixation d'azote [429]. Toro *et al* [430] démontrent

grâce à l'azote enrichie (N^{15}) que le processus de nodulation et de fixation d'azote augmente dans les plants de la luzerne en parallèle avec l'augmentation du phosphore dans les tissus.

Parmar et Dadarwal [8], confirment la présence d'une molécule sécrétée par les *Pseudomonas*, qui a un effet probable sur la l'augmentation de la sécrétion racinaire des flavonoïdes.

Certaines études ont démontré l'influence des facteurs édaphiques sur le processus de nodulation, la persistance des *Rhizobium* sp. et la fixation de l'azote, parmi ces facteurs : l'acidité du sol [431,432,433,434,435,436], la température [437,438,439,440], la présence d'éléments nutritifs, l'excès des métaux lourds [440,441,442,436], et le stress salin [443,444,445,436].

Toutefois le nombre global de nodules enregistré dans cet essai, a été influencé par les fortes températures enregistrées au cours de l'expérimentation qui dépassent parfois 35 C°. Zhang *et al* [446], ont démontré l'existence d'une relation linéaire entre la température de la zone racinaire et la fixation de l'azote.

Changement de pH du sol, la température ou l'état des éléments nutritifs peuvent également favoriser la capacité concurrentielle et la fréquence des nodules [436]

Les observations microscopiques effectuées sur les fragments de racines (Figure 3.43), révèlent la présence et l'adhésion des bactéries de *Pseudomonas fluorescens* au niveau des racines.

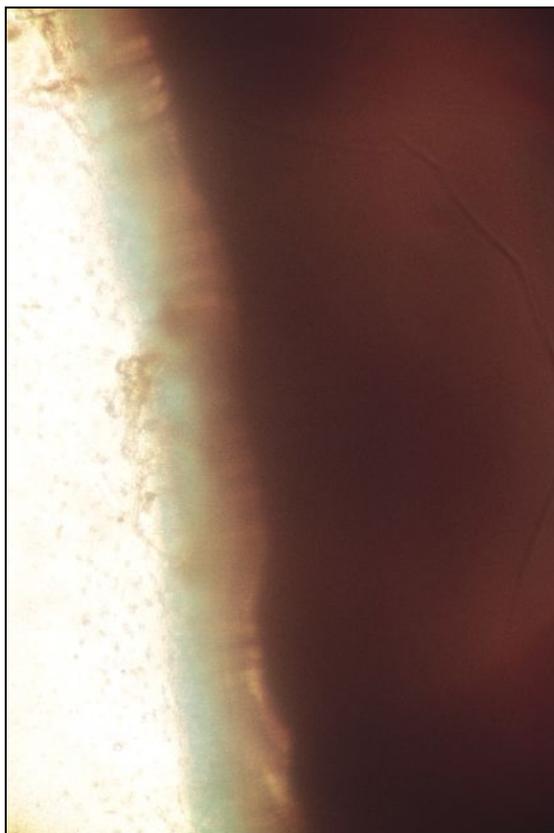


Figure 3.43 : Observation microscopique d'un fragment de racines(G 10 x 40)

L'adhérence de ces rhizobactéries s'explique par la présence des pili qui facilite leur déplacement [447]. Simons *et al* [448], démontrent l'inefficacité de la colonisation rhizosphérique en utilisant des mutants non mobile de *Pseudomonas putida* WCS358.

La capacité de production des lipopolysacharides (LPS) par les *Pseudomonas* spp. fluorescents contribue à cette adhérence [399].

En outre, certains *Pseudomonas* peuvent être agglutiner par un complexe glycoprotéine appelé agglutinine sécrétée à surface des racines [449]. Anderson *et al* [449], démontrent que l'agglutination de *Pseudomonas putida*, favorise l'attachement rapide aux racines stériles et augmentent la surface racinaire colonisé dans les sol infestée de *Fusarium oxysporum*.

Chao *et al* [450] ont conclu que la capacité d'agglutination des rhizobacteria est un déterminant majeur dans la colonisation racinaire du pois.

3.4 Discussion générale

Les différents essais effectués dans ce travail révèlent des actions positives des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* sur la stimulation de la croissance végétale et la nodulation. En effet l'amélioration de la croissance est plus notable au niveau du poids frais de la tomate avec 52.30%. Ainsi que des gains appréciable au niveau des différents paramètres de croissance étudiés (hauteur de la tige, poids sec de la partie aérienne, et poids frais et sec de la partie racinaire).

La meilleure performance en stimulation de la nodulation était de 23.66% avec la souche P64. De plus, les résultats obtenus de l'essai de la compétence rhizosphérique montrent un haut potentiel de colonisation rhizosphérique de ces souches bactériennes, où nous avons obtenu des niveaux de colonisation de l'ordre de 10^{11} CFU / g de sol largement supérieur à l'inoculum initial, ce qui témoigne de la forte compétence rhizosphérique de ces bactéries.

L'expression des effets bénéfiques enregistrés dans les différents essais étudiés, dans ce travail révèle l'implication de nombreux métabolites secondaires secrétées par les souches de *Pseudomonas fluorescens*.

La présence et la survie des souches bactériennes dans la rhizosphère est influencée en partie par le système racinaire des plantes, ce dernier modifie l'environnement biotique et abiotique du sol, en libérant dans la rhizosphère des composés de diverses natures [95]. Ces substrats énergétiques induisent une augmentation des populations microbiennes dans la rhizosphère par rapport à la masse du sol [29,451].

L'abondance d'éléments nutritifs influence la vitesse de division cellulaire et par conséquent la multiplication et la survie bactérienne [394].

La polyvalence nutritionnelle des *Pseudomonas* spp. fluorescents leur permet de s'adapter et de coloniser efficacement la rhizosphère [58,59]. Ajouter à cette polyvalence, la compétition pour les éléments minéraux constitue un autre aspect de la colonisation rhizosphérique [8], où les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent solubiliser plusieurs éléments tels que le fer, le phosphore et manganèse et cela grâce à des agents chélateurs [8,93,96,97,98,102,103,104].

Ces éléments captés dans la rhizosphère représentent une source supplémentaire de minéraux pour les plantes. Plusieurs études ont démontré la capacité des plantes à utiliser les éléments minéraux chélatés par les rhizobactéries [102,103,104,105,97,34,95].

La compétence rhizosphérique constitue un prérequis pour les aptitudes de nodulation et promotion de la croissance végétale, où elle garantit la propagation et la colonisation rhizosphérique des souches bactériennes condition préalable pour l'expression génétique de leurs propriétés bénéfiques.

Les actions bénéfiques procurées par les *Pseudomonas* spp. fluorescents résultent, entre autres des métabolites secondaires secrétées par ces bactéries. La sécrétion ou le changement dans la concentration d'une multitude d'hormone de croissance à l'exemple de l'acide indolacétique (AIA) et les gibbérellines [87,88], induisant des gains en croissance végétale.

La présence des *Pseudomonas* spp fluorescent régule le taux de l'éthylène dans les racines, en favorisant sa production au début de la germination pour la levée de la dormance de la graine permettant d'augmenter le taux de germination [272] ; toutefois une réduction de l'éthylène durant le processus de nodulation est indispensable pour augmenter le nombre de nodules ainsi qu'une elongation des racines [426,90,427,421].

Il a été observé que l'inoculation des plantes avec des PGPR contenant l'enzyme ACC deaminase sont beaucoup plus résistantes aux effets délétères de l'éthylène synthétisé en conditions stressantes, telles que la présence des métaux lourds [452,453], la présence d'agent pathogènes [454], la sécheresse et la salinité élevé [455,456]. Dans la plupart de ces cas, il a été signalé que les PGPR contenant l'enzyme ACC deaminase réduit considérablement le niveau de l'ACC (1-aminocyclopropane-1- Acide carboxylique) dans les plantes, limitant ainsi la quantité d'éthylène synthétisé, et donc des dommages à la plante.

En dépit des gains remarquables de certaines souches à savoir P64 et S20. la souche CHAO a montré une fluctuation dans les résultats enregistrés ; ceci

s'explique par l'origine écologique des souches bactériennes de *Pseudomonas* spp fluorescents, étant donné que les souches les plus performantes sont des souches d'origine locale au contraire de la souche CHAO (issu de la rhizosphère du tabac en Suisse).

L'origine écologique (géographique et plante hôte) est signalée par plusieurs auteurs [370,274,373,85], qui est déterminante pour l'expression et la stabilité des effets bénéfiques des souche bactériennes.

Les résultats obtenus de l'association entre les souches rhizobactériennes de *Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp., étudié dans ce travail nous permettent de constater une synergie entre les souches qui s'est traduit par une augmentation de la croissance végétale ainsi que le nombre de nodules ainsi qu'une augmentation du taux de matière azotées totales dans les plantes.

La communication chimique qui existe chez les rhizobactéries conditionne leur interaction dans la rhizosphère par l'expression des différentes fonctions métaboliques et physiologiques. Ces rhizobactéries utilisent le quorum sensing pour réguler la production des métabolites secondaires active dans le sol [345], en effet, la plupart des organismes produisent plusieurs types d'AHL (acyl-homoserine lactones), et un même AHL est synthétisé par plusieurs organismes [341]. Par conséquent, il existe un certain chevauchement dans la production et la reconnaissance des AHL par différents organismes [340].

Les perspectives de l'utilisation des *Pseudomonas* spp fluorescents doivent prendre en compte la sélection des souches selon leur compétence rhizosphérique ainsi que leur aptitude nutritionnelle pour assurer une meilleure colonisation et viabilité dans le sol.

Bien que les applications *in situ* de quelques souches de *Pseudomonas* spp fluorescents effectuées dans ce travail expérimental, ne soient pas représentatives à l'échelle de production, elles ont permis la mise en évidence des effets bénéfiques exercés par ces rhizobactéries sur les plantes ainsi que leurs aptitudes appréciables de compétence rhizosphérique et de synergisme avec les souches de *Rhizobium* sp.

CONCLUSION

Les applications des souches de *Pseudomonas fluorescens* dans les différents essais réalisés dans ce travail, ont mis en évidence leurs potentialités de stimulation de la croissance végétale, ainsi que leurs effets positifs sur le processus de nodulation en interaction avec des souches de *Rhizobium*. Les taux de phytostimulation ont atteint parfois des seuils dépassant 50% ce qui confirme le potentiel phytostimulateur des souches bactériennes sélectionnées, en interaction avec les différentes plantes herbacées testées.

La phytostimulation exercée par les trois souches de *Pseudomonas fluorescens* (P64, CHAO et S20) sur les trois espèces végétales (Blé, tomate et concombre), s'est exprimée à travers un raccourcissement dans le temps d'émergence des plantules, avec des gains, dépassant parfois 13%, en plus d'une augmentation de la phytomasse aérienne et de la longueur racinaire.

Globalement, selon les paramètres de croissance étudiée, nous avons noté des gains variables selon les interactions (plantes- souches bactériennes) dépassant 21% chez le blé, 52% chez la tomate et 22% pour le concombre. Nos estimations montrent que les effets bénéfiques sont plus accentués lors des mensurations réalisées durant la première période (après 16 jours de la bactérisation). Donc les effets de bactérisation étaient plus significatifs notamment aux stades juvéniles des trois espèces végétales ainsi que sur leur physiologie.

La deuxième partie de notre travail expérimental, relative à la mise en évidence de la compétence rhizosphérique des souches de *Pseudomonas fluorescens*, a révélé une interaction positive des souches (D1, D2 et S20) avec les espèces végétales (tomate, blé et lin), caractérisée par une nette évolution des populations bactériennes dans les différentes rhizosphères, estimée à une moyenne

10^{11} CFU /g de sol. Ceci explique que ces plantes exercent un effet rhizosphérique notable, qui témoigne d'une bonne adaptation des souches bactériennes dans les rhizosphères de ces plantes.

L'utilisation des souches CHAO, CK4 et S20 dans l'essai de synthèse des pyoverdines, a permis d'observer une efficacité dans la colonisation rhizosphérique, en dépit d'une carence ou une abondance du fer dans les microcosmes. L'apport du chélateur de fer, EDTA, dans certains microcosmes a permis de mettre en évidence l'implication relative des facultés génotypiques en production de pyoverdines des souches étudiées. L'utilisation de la souche CK4, mutant de la souche CHAO déficient en synthèse de pyoverdines, a montré une bonne colonisation des rhizosphères, en dépit de son incapacité à synthétiser les pyoverdines. Ceci est révélateur d'une existence d'autres types de sidérophores que les pyoverdines et/ou d'autres métabolites secondaires analogues qui entrent en jeu, en état de carence en fer.

L'efficacité de la colonisation racinaire semble être liée à la souche bactérienne et à la plante hôte, sans omettre par ailleurs les facteurs biotiques et abiotiques qui peuvent influencer la distribution et la survie des bactéries dans la rhizosphère.

Dans la dernière partie de notre travail, portant sur l'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* et les souches de *Rhizobium* et leur impact sur la croissance et la stimulation de la nodulation chez les plantules de fève, nous constatons une relative augmentation de la croissance des différents paramètres étudiés. Des gains appréciables, en nombre de nodules et en taux des matières azotées totales atteignant le taux de 25.31%. Cette étude souligne la diversité des mécanismes d'action mis en œuvre par les différentes rhizobactéries testées, pour générer des actions bénéfiques sur les plantes testées.

Il est à signaler que l'origine végétale des souches bactériennes est différente, par rapport aux plantes testées, néanmoins les niveaux des populations dénombrées restent suffisamment élevés pour garantir une bonne colonisation racinaire, indispensable à la réussite et l'expression des effets bénéfiques.

L'utilisation des PGPR comme agents de promotion de la croissance végétale et/ou de biocontrôle nécessite une compréhension des interactions entre la plante et la bactérie, ainsi que l'influence exercée par leur environnement biotique et abiotique sur cette interaction. Comme, il est nécessaire de mieux comprendre la réaction des plantes à la présence de ces bactéries introduites. Dans ce contexte plusieurs travaux récents confirment l'importance de l'investigation des aspects relatifs au quorum sensing régissant les populations rhizobactériennes [33,72,345,457].

La compréhension de la dynamique des populations microbiennes pourrait éclairer le processus de sélection des souches, afin de promouvoir avec succès la croissance des plantes et / ou la suppression de maladies, en ciblant des souches douées de potentialités sélectives et adaptatives aux conditions telluriques.

Il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à l'étude des mécanismes d'action associés à l'expression des effets bénéfiques, en s'assurant de leur stabilité et de leur reproductibilité, dans des conditions expérimentales plus élaborées et proches des conditions naturelles. Comme il est nécessaire de s'intéresser de près aux expérimentations de formulation des inoculum bactériens destinés aux applications pratiques, préalables d'approche en terme d'application à grande échelle.

APPENDICE A
LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

CFU	: colony forming unit
cm	: centimètre
g	: gramme
ml	: millilitre
cm ²	: centimètre carré

APPENDICE B

Tableau : Caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé [353].

Caractéristiques	Taux (%)
pH _{eau}	6.9
pH _{KCL}	6.7
K ⁺	0.63 %
Na ⁺	2.63 %
Ca ⁺² + Mg ⁺²	6.36 %
S ⁺	9.65 %
C.E	0.44
C.E.C capacité d'échange cationique (meq /100g de sol)	12.5
V (taux de saturation)	77.2
P ² O ⁵ Phosphore assimilable (ppm)	189.33
Ca CO ₃	0
Matière organique	1.89
H _{cc} (humidité pondérale à la capacité au champ)	10.45
Argile	16.36 %
L (limon)	24.12 %
LG (limon grossier)	16.26 %
SF (sable fin)	14.28 %
SG (sable grossier)	28.98 %

APPENDICE C

Milieux de culture

Milieu B de King (KB) King *et al.*, [357]

Peptone (Difco)	20 g
Glycerole (Prolabo)	15 ml
K ₂ HPO ₄ (Sigma)	1,5 g
MgSO ₄ (Sigma)	1,5 g
Agar (Sigma)	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,2 autoclavage 20 minutes à 120° C

Milieu PDAE (Potato Dextrose Agar + Extrait de levure) Grainier [360]

Pomme de terre	200 g
Dextrose	20 g
Extrait de levure	0.250 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH 7 autoclavage 20 minutes à 120° C

APPENDICE D

La coloration de Gram

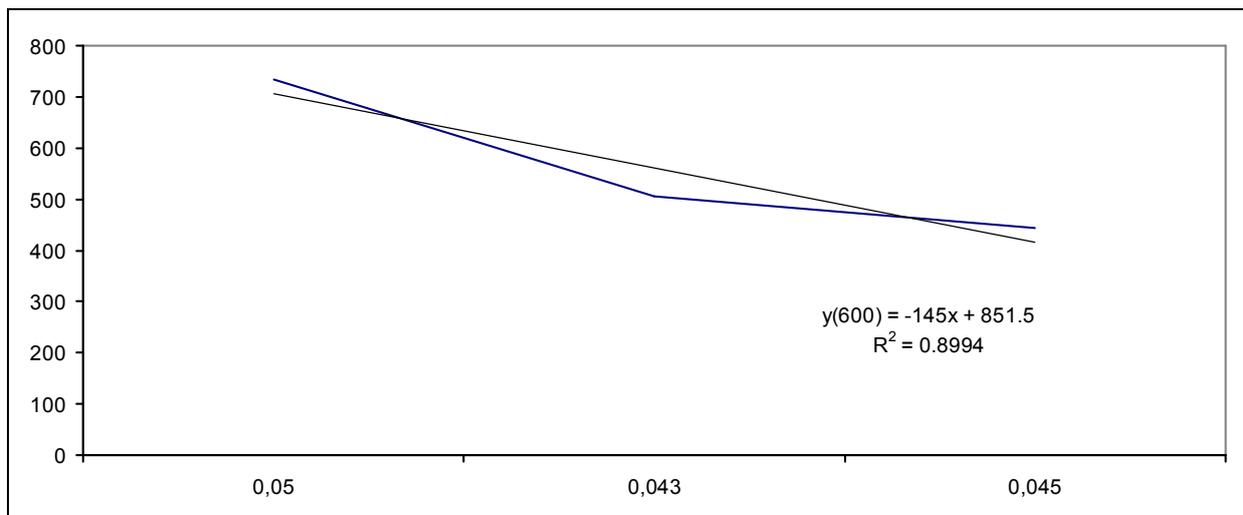
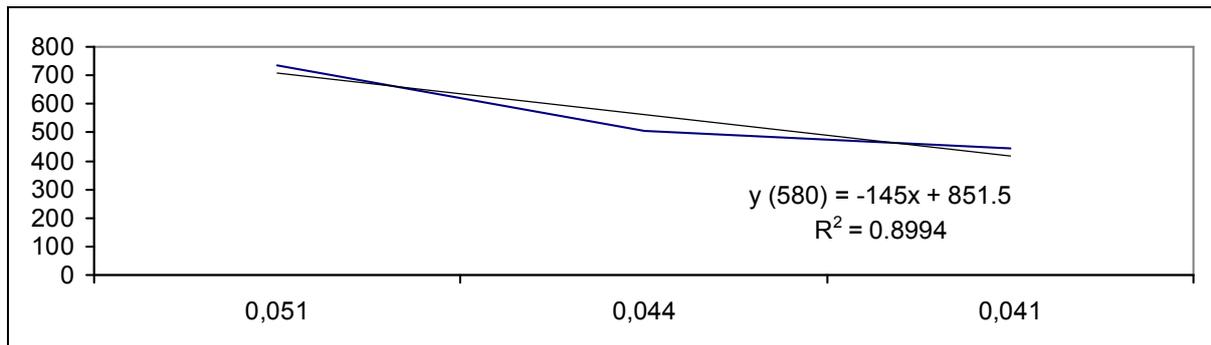
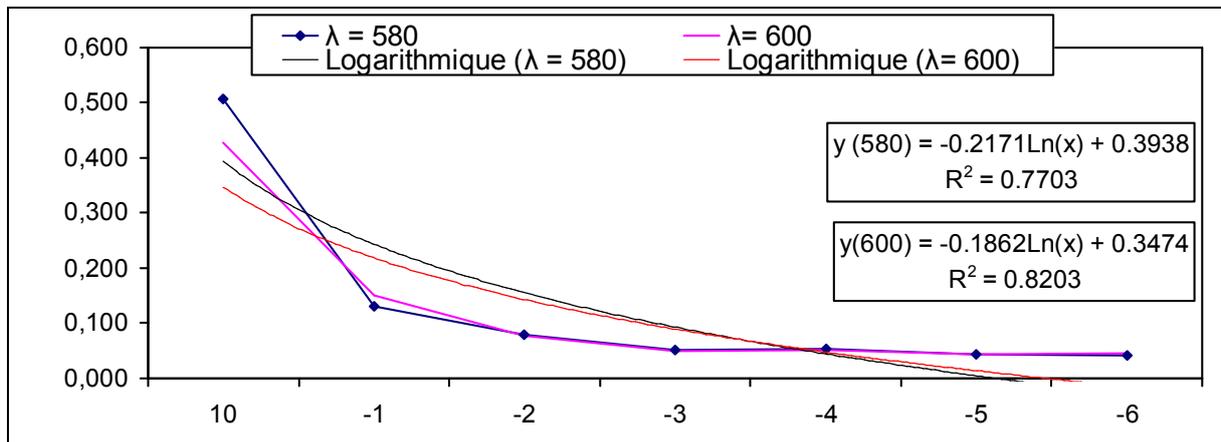
Méthode [364]

1. Prélèvement du frottis bactérien sur une lame et le fixé.
2. Recouvrir la lame avec du violet de gentiane pendant 2 minutes, puis le rincer à l'eau distillée.
3. Recouvrir avec une solution de lugol pendant 2 minutes, rincer à l'alcool jusqu'à ce la disparition de la couleur
4. Recouvrir la lame avec de la fushine durant 2 minutes, puis rincer le colorant avec de l'eau distillée.

Observation sous microscope optique.

APPENDICE E

Courbes d'évaluation des concentrations des suspensions de *Rhizobium* sp.



APPENDICE F

Composition du Catalyseur :

250 g de K_2SO_4 ,

250 g de $CuSO_4$

5 g de Sélénium

20 ml d'acide sulfurique ($d = 1.84$).

Composition de l'indicateur (pour 1 litre de solution) :

20 g d'acide borique

200 ml d'éthanol absolu

10 ml d'indicateur contenant : $\frac{1}{4}$ de rouge de méthyle à 0.2% dans

l'alcool à 95 °et de $\frac{3}{4}$ de vert de bromocresol à 0.1% dans l'alcool à 95°.

APPENDICE G

Tableau 1 : Dénombrements de la souche CHAO dans les microcosmes après 15 jours (Première période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
CHAO 1	-5	5.06E+08	ND	5.57E+08	1.06E+09	9.36E+10	1.02E+02
	-6	2.54E+09	4.22E+09	4.17E+09	3.64E+09		
	-7	ND	5.75E+10	ND	5.75E+10		
CHAO 2	-8	2.35E+11	3.64E+11	1.25E+11	2.41E+11		
	-5	ND	ND	ND	ND		
	-6	5.60E+09	ND	5.40E+09	1.10E+10		
CHAO 3	-7	ND	ND	4.20E+09	4.20E+09		
	-8	3.63E+11	3.43E+11	3.60E+11	3.55E+11		
	-5	ND	ND	4.63E+08	4.63E+08		
CHAO 4	-6	4.30E+08	7.00E+08	4.50E+08	5.27E+08		
	-7	4.84E+10	4.40E+10	1.91E+10	3.72E+10		
	-8	2.58E+11	1.77E+11	2.08E+11	2.14E+11		
CHAO 1 Fe	-5	ND	5.53E+08	ND	5.53E+08	9.64E+10	1.82E+02
	-6	5.65E+09	4.45E+09	ND	5.05E+09		
	-7	3.91E+10	4.20E+09	4.17E+10	2.83E+10		
CHAO 2 Fe	-8	4.42E+11	4.25E+11	4.64E+11	4.44E+11		
	-5	5.18E+08	5.58E+08	ND	5.38E+08		
	-6	ND	ND	5.33E+09	5.33E+09		
CHAO 3 Fe	-7	ND	5.57E+10	ND	5.57E+10		
	-8	ND	5.20E+11	5.80E+11	5.50E+11		
	-5	5.93E+08	ND	ND	5.93E+08		
CHAO 4 Fe	-6	5.90E+08	3.70E+08	2.31E+09	1.09E+09		
	-7	3.33E+10	ND	4.46E+10	3.90E+10		
	-8	ND	2.36E+11	ND	2.36E+11		
CHAO 1 -EDTA	-5	3.27E+08	5.14E+08	4.30E+08	4.24E+08		
	-6	2.56E+09	2.47E+09	1.36E+09	2.13E+09		
	-7	ND	1.37E+10	3.90E+09	8.80E+09		
CHAO 2 EDTA	-8	4.70E+10	7.70E+10	4.40E+10	5.60E+10		
	-5	5.65E+08	ND	5.80E+08	5.73E+08		
	-6	3.25E+09	5.75E+09	5.95E+09	4.98E+09		
CHAO 3 EDTA	-7	ND	5.38E+10	5.92E+10	5.65E+10		
	-8	5.96E+11	5.56E+11	4.20E+11	5.24E+11		
	-6	ND	ND	ND	ND		
CHAO 4 EDTA	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	ND	ND	ND		
	-6	3.80E+08	4.10E+08	ND	3.95E+08		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	1.23E+11	ND	1.23E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 2 : Dénombrements de la souche CHAO dans les microcosmes après 32 jours (deuxième période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
CHAO 1	-6	2.17E+09	1.03E+09	ND	1.60E+09	2.41E+10	1.85E+02
	-7	9.20E+09	8.40E+09	ND	8.80E+09		
	-8	8.10E+10	7.40E+10	ND	7.75E+10		
CHAO 2	-6	1.00E+09	1.01E+09	ND	1.01E+09		
	-7	ND	3.00E+09	ND	3.00E+09		
	-8	5.10E+10	5.70E+10	ND	5.40E+10		
CHAO 3	-6	ND	1.70E+09	ND	1.70E+09		
	-7	6.90E+09	8.40E+09	ND	7.65E+09		
	-8	8.20E+10	4.10E+10	ND	6.15E+10		
CHAO 1 EDTA	-6	2.88E+09	2.80E+09	ND	2.84E+09	6.66E+10	1.38E+02
	-7	1.45E+10	1.07E+10	ND	1.26E+10		
	-8	6.50E+10	3.90E+10	ND	5.20E+10		
CHAO 2-EDTA	-6	ND	9.60E+08	ND	9.60E+08		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	9.80E+08	ND	9.80E+08		
CHAO 2 EDTA	-6	ND	ND	ND	ND		
	-7	1.73E+10	2.10E+10	ND	1.92E+10		
	-8	4.30E+11	3.25E+11	ND	3.78E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 3 : Dénombrements de la souche CK4 dans les microcosmes après 15 jours (Première période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
PVD- 1	-5	5.95E+08	ND	ND	5.95E+08	1.32E+11	2.12E+02
	-6	5.78E+09	ND	ND	5.78E+09		
	-7	4.74E+10	5.75E+10	4.41E+10	4.97E+10		
	-8	5.86E+11	4.29E+11	3.92E+11	4.69E+11		
PVD- 2	-5	ND	ND	5.45E+08	5.45E+08		
	-6	ND	ND	5.61E+09	5.61E+09		
	-7	ND	5.97E+10	5.87E+10	5.92E+10		
	-8	3.20E+10	3.58E+11	3.86E+11	2.59E+11		
PVD- 3	-5	5.81E+08	ND	5.76E+08	5.79E+08		
	-6	ND	ND	5.98E+09	5.98E+09		
	-7	ND	ND	5.96E+10	5.96E+10		
	-8	ND	5.95E+11	5.98E+11	5.97E+11		
PVD- 4	-5	ND	5.94E+08	ND	5.94E+08		
	-6	ND	ND	5.60E+09	5.60E+09		
	-7	ND	5.76E+10	5.97E+10	5.87E+10		
	-8	5.68E+11	5.08E+11		5.38E+11		
PVD- 1 Fe	-6	6.60E+08	4.80E+08	ND	5.70E+08	1.09E+10	1.89E+02
	-7	1.28E+10	7.60E+09	ND	1.02E+10		
	-8	ND	3.00E+10	ND	3.00E+10		
PVD- 2 Fe	-6	2.03E+09	ND	ND	2.03E+09		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	5.51E+11	ND	5.51E+11		
PVD- 3 Fe	-6	ND	5.17E+09	ND	5.17E+09		
	-7	1.69E+10	5.62E+10	ND	3.66E+10		
	-8	3.40E+10	ND	ND	3.40E+10		
PVD- 1 -EDTA	-6	ND	1.30E+09	ND	1.30E+09	1.83E+09	7.09E+03
	-7	3.42E+10	ND	ND	3.42E+10		
	-8	6.70E+10	2.54E+11	ND	1.61E+11		
PVD- 2 EDTA	-6	2.35E+09	ND	ND	2.35E+09		
	-7	3.80E+10	2.12E+10	ND	2.96E+10		
	-8	1.84E+11	1.00E+11	ND	1.42E+11		
PVD-3 EDTA	-6	ND	ND	ND	ND		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	ND	ND	ND		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 4 : Dénombrements de la souche CK4 dans les microcosmes après 32 jours (deuxième période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
PVD- 1	-6	8.10E+08	5.06E+09	ND	2.94E+09	1.29E+10	1.26E+02
	-7	6.70E+09	4.40E+09	ND	5.55E+09		
	-8	ND	ND	ND			
PVD- 2	-6	2.34E+09	1.09E+09	ND	1.72E+09		
	-7	1.95E+10	7.50E+09	ND	1.35E+10		
	-8	3.20E+10	ND	ND	3.20E+10		
PVD- 3	-6	8.30E+08	5.50E+08	ND	6.90E+08		
	-7	1.53E+10	1.89E+10	ND	1.71E+10		
	-8	ND	3.00E+10	ND	3.00E+10		
PVD- 1 -EDTA	-6	ND	2.80E+09	ND	2.80E+09	1.62E+10	2.80E+02
	-7	1.37E+10	2.05E+10	ND	1.71E+10		
	-8	ND	9.10E+10	ND	9.10E+10		
PVD- 2 EDTA	-6	1.29E+09	1.70E+09	ND	1.50E+09		
	-7	1.82E+10	5.65E+10	ND	3.74E+10		
	-8	5.57E+11	5.12E+11	ND	5.35E+11		
PVD-3 EDTA	-6	3.62E+09	3.45E+09	ND	3.54E+09		
	-7	3.52E+10	ND	ND	3.52E+10		
	-8	5.13E+11	2.17E+11	ND	3.65E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 5 : Dénombrements de la souche S20 dans les microcosmes après 15 jours (Première période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E.type		
S20 1	-6	1.40E+09	3.16E+09	ND	2.28E+09	1.66E+10	1.47E+02		
	-7	3.10E+09	2.50E+10	ND	1.41E+10				
	-8	3.30E+10	ND	ND	3.30E+10				
S20 2	-6	4.90E+09	4.64E+09	ND	4.77E+09				
	-7	9.50E+09	4.76E+10	ND	2.86E+10				
	-8	4.50E+10	3.20E+10	ND	3.85E+10				
S20 3	-6	3.03E+09	3.60E+08	ND	1.70E+09				
	-7	1.00E+10	ND	ND	1.00E+10				
	-8	ND	ND	ND	ND				
S20 1 Fe	-6	2.33E+09	4.86E+09	ND	3.60E+09	6.74E+10	1.02E+02		
	-7	9.60E+09	2.15E+10	ND	1.56E+10				
	-8	9.70E+10	2.19E+10	ND	5.95E+10				
S20 2 Fe	-6	2.49E+09	2.74E+09	ND	2.62E+09				
	-7	ND	6.90E+09	ND	6.90E+09				
	-8	1.49E+11	ND	ND	1.49E+11				
S20 3 Fe	-6	4.70E+08	7.60E+08	ND	6.15E+08				
	-7	ND	6.40E+09	ND	6.40E+09				
	-8	2.11E+11	3.91E+11	ND	3.01E+11				
S20 1 EDTA	-5	ND	ND	ND	ND				
	-6	ND	ND	ND	ND				
	-7	5.09E+10	ND	5.92E+10	5.51E+10			1.26E+11	1.89E+02
	-8	ND	5.91E+11	5.87E+11	5.89E+11				
S20 2 EDTA	-5	ND	ND	ND	ND				
	-6	4.49E+09	ND	3.86E+09	4.18E+09				
	-7	3.26E+10	5.32E+10	4.48E+10	4.35E+10				
	-8	3.86E+11	2.99E+11	ND	3.43E+11				
S20 3 EDTA	-5	2.64E+08	ND	ND	2.64E+08				
	-6	1.55E+09	1.75E+09	8.90E+08	1.40E+09				
	-7	ND	3.75E+10	3.33E+10	3.54E+10				
	-8	7.30E+10	2.34E+11	ND	1.54E+11				
S20 4 EDTA	-5	ND	ND	5.00E+08	5.00E+08				
	-6	3.49E+09	2.52E+09	4.92E+09	3.64E+09				
	-7	1.32E+10	3.98E+10	4.11E+10	3.14E+10				
	-8	4.57E+11	2.88E+11	ND	3.73E+11				

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 6 : Dénombrements de la souche S20 dans les microcosmes après 32 jours (deuxième période) de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E.type
S20 1	-6	2.52E+09	1.99E+09	ND	2.26E+09	5.66E+10	1.30E+02
	-7	4.04E+10	1.04E+10	ND	2.54E+10		
	-8	1.10E+11	1.31E+10	ND	6.16E+10		
S20 2	-6	4.80E+08	3.00E+08	ND	3.90E+08		
	-7	5.32E+10	5.30E+09	ND	2.93E+10		
	-8	4.40E+10	ND	ND	4.40E+10		
S20 3	-6	5.89E+09	ND	ND	5.89E+09		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	5.91E+11	1.83E+11	ND	3.87E+11		
S20 1 Fe	-6	5.37E+09	4.28E+09	ND	4.83E+09	5.81E+10	9.21E+02
	-7	2.50E+10	7.90E+09	ND	1.65E+10		
	-8	3.92E+11	9.30E+10	ND	2.43E+11		
S20 2 Fe	-6	2.64E+09	ND	ND	2.64E+09		
	-7	5.10E+10	1.03E+10	ND	3.07E+10		
	-8	5.50E+10	4.80E+10	ND	5.15E+10		
S20 1 EDTA	-6	1.79E+09	6.90E+08	ND	1.24E+09	6.36E+10	4.53E+02
	-7	ND	1.63E+10	ND	1.63E+10		
	-8	1.81E+11	5.80E+11	ND	3.81E+11		
S20 2 EDTA	-6	ND	3.00E+09	ND	3.00E+09		
	-7	2.41E+10	8.20E+09	ND	1.62E+10		
	-8	7.30E+10	4.10E+10	ND	5.70E+10		
S20 3 EDTA	-6	1.60E+09	1.80E+09	ND	1.70E+09		
	-7	5.90E+10	6.90E+09	ND	3.30E+10		
	-8	ND	ND	ND	ND		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G(suite) :

Tableau 7 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche D1 de *Pseudomonas fluorescens*, après 15 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
D1BLE 1	-5	ND	ND	ND	ND	2.53E+09	7.93E+02
	-6	1.08E+09	8.00E+08	9.50E+08	9.43E+08		
	-7	2.29E+10	1.52E+10	> 30	ND		
	-8	> 30	3.44E+11	1.50E+11	ND		
D1 BLE 2	-5	ND	ND	ND	ND		
	-6	4.20E+08	5.10E+08	5.05E+09	1.99E+09		
	-7	ND	4.70E+09	ND	4.70E+09		
	-8	> 600	> 600	ND	ND		
D1BLE 3	-5	> 600	> 600	> 600			
	-6	1.30E+09	5.08E+09	1.55E+09	2.64E+09		
	-7	< 30	< 30	< 30	ND		
	-8	< 30	< 30	< 30	ND		
D1BLE 4	-5	2.37E+08	1.73E+08	1.53E+08	1.88E+08		
	-6	ND	6.60E+08	8.74E+09	4.70E+09		
	-7	2.43E+10	> 30	> 30	ND		
	-8	3.30E+10	>30	1.53E+11	ND		
D1 LIN 1	-6	3.11E+09	1.28E+09		2.20E+09	2.09E+10	1.63E+02
	-7	5.28E+10	ND		5.28E+10		
	-8	ND	ND		ND		
D1 LIN 2	-6	3.49E+09	3.20E+08		1.91E+09		
	-7	ND	ND		ND		
	-8	< 30	4.19E+11		ND		
D1 LIN 3	-6	2.02E+09	3.72E+09		2.87E+09		
	-7	ND	ND				
	-8	4.60E+10	1.13E+11		7.95E+10		
D1 TOMATE 1	-6	ND	ND	ND	ND	1.22E+11	1.96E+02
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	3.84E+11	1.48E+11	2.66E+11		
D1 TOMATE 2	-5	8.70E+07	3.16E+08	3.96E+08	2.66E+08		
	-6	ND	ND	1.20E+09	1.20E+09		
	-7	ND	3.50E+09	2.68E+10	1.52E+10		
	-8	1.07E+11	6.70E+10	5.60E+11	2.45E+11		
D1 TOMATE3	-5	ND	ND	5.86E+08	5.86E+08		
	-6	5.01E+09	ND	5.62E+09	5.32E+09		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	ND	5.84E+11	ND	5.84E+11		
D1 TOMATE 4	-5	ND	ND	ND	ND		
	-6	1.86E+09	5.60E+08	ND	1.21E+09		
	-7	9.80E+09	7.20E+09	ND	8.50E+09		
	-8	4.40E+10	5.07E+11	4.12E+11	3.21E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 8 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche D1 de *Pseudomonas fluorescens*, après 32 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
D1 BLE 1	-6	5.98E+09	4.06E+09		5.02E+09	7.64E+09	1.73E+02
	-7	1.51E+10	2.76E+10		2.14E+10		
	-8	> 30	7.40E+10		ND		
D1 BLE 2	-6	2.95E+09	2.92E+09		2.94E+09		
	-7	9.60E+09	4.40E+09		7.00E+09		
	-8	5.09E+11	> 30		ND		
D1 BLE 3	-6	2.16E+09	1.66E+09		1.91E+09		
	-7	> 30	< 30		ND		
	-8	6.40E+10	> 30		ND		
D1 LIN 1	-6	1.90E+09	2.03E+09		1.97E+09	1.01E+10	1.16E+02
	-7	ND	4.90E+09		4.90E+09		
	-8	ND	ND		ND		
D1 LIN 2	-6	ND	1.12E+09		1.12E+09		
	-7	ND	ND		ND		
	-8	3.00E+10	4.00E+10		3.50E+10		
D1 LIN 3	-6	4.27E+09			4.27E+09		
	-7	2.24E+10	4.60E+09		1.35E+10		
	-8	5.00E+10	<30		ND		
D1 TOMATE 1	-6	ND	ND	ND	ND	6.27E+10	9.71E+02
	-7	5.88E+10	ND	ND	5.88E+10		
	-8	8.30E+10	ND	ND	8.30E+10		
D1 TOMATE 2	-6	ND	2.26E+09	ND	2.26E+09		
	-7	1.65E+10	2.19E+10	ND	1.92E+10		
	-8	4.30E+10	3.90E+10	ND	4.10E+10		
D1 TOMATE 3	-6	5.28E+09	1.56E+09	ND	3.42E+09		
	-7	3.60E+09	9.00E+08	ND	2.25E+09		
	-8	4.42E+11	1.41E+11	ND	2.92E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 9 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche D2 de *Pseudomonas fluorescens*, après 15 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
D2 BLE1	-5	2.48E+08	2.95E+08	4.67E+08	3.37E+08	2.39E+09	1.55E+02
	-6	4.50E+08	ND	1.91E+09	1.18E+09		
	-7	3.80E+09	> 30	ND	3.80E+09		
	-8	ND	ND	ND	ND		
D2 BLE2	-5	4.38E+08	ND	4.89E+08	4.64E+08		
	-6	2.25E+09	4.89E+09	ND	3.57E+09		
	-7	ND	ND	3.60E+09	3.60E+09		
	-8	ND	ND	ND			
D2 BLE3	-5	4.67E+08	ND	ND	4.67E+08		
	-6	ND	2.71E+09	4.56E+09	3.64E+09		
	-7	3.60E+09	ND	ND	3.60E+09		
	-8	ND	ND	ND	ND		
D2 BLE4	-5	ND	ND	ND	ND		
	-6	ND	ND	ND	ND		
	-7	5.98E+09	4.20E+08		3.20E+09		
	-8	ND	ND	ND	ND		
D2 LIN1	-6	1.90E+09	2.43E+09		2.17E+09	1.10E+11	2.14E+02
	-7	ND	ND		ND		
	-8	ND	6.30E+10		6.30E+10		
D2 LIN2	-6	5.92E+09	5.97E+09		5.95E+09		
	-7	5.84E+10	5.82E+10		5.83E+10		
	-8	5.93E+11	ND		5.93E+11		
D2 LIN3	-6	ND	5.62E+09		5.62E+09		
	-7	4.41E+10	ND		4.41E+10		
	-8	ND	ND		ND		
D2 TOMATE1	-5	ND	ND	ND	ND	9.97E+09	7.57E+02
	-6	3.90E+08		3.08E+09	1.74E+09		
	-7	ND	ND	3.16E+10	3.16E+10		
	-8	3.38E+11	< 30	5.40E+10	ND		
D2 TOMATE2	-5	3.46E+08	5.16E+08	ND	4.31E+08		
	-6	1.37E+09	1.57E+09	ND	1.47E+09		
	-7	1.61E+10	1.71E+10	4.13E+10	2.48E+10		
	-8	< 30	1.14E+11	2.36E+11	ND		
D2 TOMATE3	-5	ND	ND	5.59E+08	5.59E+08		
	-6	5.59E+09	5.76E+09	4.26E+09	5.20E+09		
	-7	ND		1.16E+10	1.16E+10		
	-8	ND	1.36E+11	> 30	ND		
D2 TOMATE4	-5	3.12E+08	3.47E+08	5.87E+08	4.15E+08		
	-6	ND	ND	2.88E+09	2.88E+09		
	-7	ND	ND	3.10E+09	3.10E+09		
	-8	5.00E+10	4.50E+09	5.30E+10	3.58E+10		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G(suite) :

Tableau 10 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche D1 de *Pseudomonas fluorescens*, après 32 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
D2 BLE1	-6	2.42E+09	8.90E+08		1.66E+09	3.21E+10	4.21E+02
	-7	1.68E+10	2.10E+10		1.89E+10		
	-8	1.14E+11	6.50E+10		8.95E+10		
D2 BLE2	-6	5.99E+09			5.99E+09		
	-7	7.70E+09	7.50E+09		7.60E+09		
	-8	1.69E+11	6.40E+10		1.17E+11		
D2 BLE3	-6	2.99E+09	1.66E+09		2.33E+09		
	-7	1.25E+10	7.00E+09		9.75E+09		
	-8	3.70E+10	ND		3.70E+10		
D2 LIN1	-6	1.34E+09	3.42E+09		2.38E+09	5.73E+10	1.10E+02
	-7	5.25E+10	6.20E+09		2.94E+10		
	-8	4.60E+11	4.50E+10		2.53E+11		
D2 LIN2	-6	4.50E+08	8.20E+08		6.35E+08		
	-7	ND	ND		ND		
	-8	ND	ND		ND		
D2 LIN3	-6	2.67E+09	4.40E+08		1.56E+09		
	-7	ND			ND		
	-8	ND	ND		ND		
D2 TOMATE1	-6	3.20E+09	3.14E+09		3.17E+09	7.68E+10	1.22E+02
	-7	3.10E+09	4.70E+09		3.90E+09		
	-8	ND	9.90E+10		9.90E+10		
D2 TOMATE2	-6	3.50E+08	1.92E+09		1.14E+09		
	-7	3.39E+10	1.09E+10		2.24E+10		
	-8	9.30E+10	1.02E+11		9.75E+10		
D2 TOMATE 3	-6	ND	ND		ND		
	-7	5.98E+10	4.21E+10		5.10E+10		
	-8	ND	3.36E+11		3.36E+11		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
 E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 11 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche S20 de *Pseudomonas fluorescens*, après 15 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
S20 BLE1	-6	1.57E+09	5.58E+09		3.58E+09	7.64E+10	1.53E+02
	-7	1.47E+10	4.86E+10		3.17E+10		
	-8	3.00E+10	1.16E+11		7.30E+10		
S20 BLE2	-6	5.69E+09	3.51E+09		4.60E+09		
	-7	3.70E+09	4.80E+09		4.25E+09		
	-8	ND	ND		ND		
S20 BLE3	-6	5.28E+09	5.74E+09		5.51E+09		
	-7	3.20E+10	4.74E+10		3.97E+10		
	-8	ND	4.49E+11		4.49E+11		
S20 LIN1	-6	3.12E+09	4.91E+09		4.02E+09	1.12E+11	7.65E+02
	-7	3.10E+09	6.10E+09		4.60E+09		
	-8	ND	ND		ND		
S20 LIN2	-6	ND	ND		ND		
	-7	4.52E+10	ND		4.52E+10		
	-8	4.72E+11	5.38E+11		5.05E+11		
S20 LIN3	-6	2.01E+09	ND		2.01E+09		
	-7	ND	ND		ND		
	-8	ND	ND		ND		
S20 TOMATE1	-5	ND	ND	ND	ND	1.27E+10	1.95E+02
	-6	ND	ND	5.82E+09	5.82E+09		
	-7	ND	ND	ND	ND		
	-8	4.10E+09	ND	ND	4.10E+09		
S20 TOMATE2	-5	1.43E+08	ND	ND	1.43E+08		
	-6	2.90E+09	ND	ND	2.90E+09		
	-7	ND	ND	4.00E+09	4.00E+09		
S20 TOMATE3	-8	ND	3.30E+10	ND	3.30E+10		
	-5	2.73E+08	2.49E+08	ND	2.61E+08		
	-6	2.63E+09	2.09E+09	1.16E+09	2.36E+09		
	-7	ND	ND	ND	ND		
S20 TOMATE4	-8	ND	ND	ND	ND		
	-5	ND	ND	ND	ND		
	-6	3.81E+09	ND		3.81E+09		
	-7	ND	2.07E+10	4.98E+09	2.07E+10		
	-8	ND	6.30E+10	1.92E+11	6.30E+10		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

APPENDICE G (suite) :

Tableau 12 : Dénombrements bactérien réalisé dans les trois microcosmes (blé, lin et tomate) bactérisé avec la souche D1 de *Pseudomonas fluorescens*, après 32 jours de la bactérisation.

Traitements	Dilutions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	MOY	MOY G	E. type
S20 BLE1	-6	5.21E+09	2.12E+09		3.67E+09	2.13E+10	1.24E+02
	-7	1.47E+10	ND		1.47E+10		
	-8	ND	3.20E+10		3.20E+10		
S20 BLE2	-6	5.56E+09	4.68E+09		5.12E+09		
	-7	5.22E+10	6.10E+09		2.92E+10		
	-8						
S20 BLE3	-6	ND	4.68E+09		4.68E+09		
	-7	ND	5.95E+10		5.95E+10		
	-8	ND	ND		ND		
S20 LIN1	-6	4.76E+09	ND		4.76E+09	5.82E+10	3.78E+02
	-7	7.00E+09	3.00E+09		5.00E+09		
	-8	9.20E+10	ND		9.20E+10		
S20 LIN2	-6	3.77E+09	3.68E+09		3.73E+09		
	-7	ND	4.02E+10		4.02E+10		
	-8	1.33E+11	4.91E+11		3.12E+11		
S20 LIN3	-6	3.88E+09	2.01E+09		2.95E+09		
	-7	6.60E+09	3.70E+09		5.15E+09		
	-8	ND	ND		ND		
S20 TOMATE1	-6	2.73E+09	1.65E+09		2.19E+09	4.88E+10	3.29E+02
	-7	1.94E+10	9.40E+09		1.44E+10		
	-8	1.32E+11	3.25E+11		2.29E+11		
S20 TOMATE2	-6	1.56E+09	1.41E+09		1.49E+09		
	-7	1.84E+10	1.54E+10		1.69E+10		
	-8	6.70E+10	5.60E+10		6.15E+10		
S20 TOMATE3	-6	3.45E+09	2.71E+09		3.08E+09		
	-7	1.31E+11	9.50E+09		7.03E+10		
	-8	5.10E+10	3.00E+10		4.05E+10		

MOY : moyenne des trois répétitions. MOYG : moyenne générale de la totalité des dilutions
E type : écart type des différentes répétitions. ND : non donné.

REFERENCES

1. Bais. H.P, Park. S.W, Weir. T.L, Callaway. R.M and Vivanco. J.M, «How plants communicate using the underground information superhighway», Trends in Plant Science, vol. 9, N° 1, January 2004, pp. 26 - 32.
2. Kloepper. J.W. and Schroth. M.N, «Plant growth– promoting rhizobacteria on radishes», In: Proc int Conf Plant Pathol Bact Angers, 1978, pp. 379 - 382.
3. Gonzalez. L.E, Bashan.Y, «Increased growth of the microalga *Chlorella vulgaris* when coimmobilized and cocultured in alginate beads with the plant growth promoting rhizobacteria *Azospirillum brasilense*». Appl Environ microbial N°66, 2000, pp.1527-1531.
4. Steenhoudt. O, Vanderleyden. J, «Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects». FEMS microbial Rev N°24, 2000, pp. 487-506.
5. Van Loon. L.C, Bakker. P.A.H.M, and Pieterse. M.J, «Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria», Annual Review Of Phytopathology, N° 36, 1998, pp. 453 - 483.
6. Bloemberg.G.V, Lugtenberg. B.J, «Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria», Curr Opin plant biol, N° 4, 2001, pp. 343 - 350.
7. Hassanjadeh. N, «Role of rhizobacteria in promoting cow pea seed growth», Bulletin SROP, 1991, pp. 14-98.
8. Lemanceau. P, «Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents», Agronomie, N° 12, 1992, pp. 413 - 437.
9. Parmar. N and Dadarwal. K.R, «Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria». Journal of applied microbiology N°86, 1999, pp. 36-44.
10. Journet. E.P, El-Gachtouli. N, Vernoud. V, De Billy. F, Pichon. M, Dedieu. A, Arnould. C, Morandi. D, Barker. D.G, Gianinazzi-Pearson. V, «*Medicago truncatula* ENOD11: a novel RPRP-encoding early nodulin gene expressed during mycorrhization in arbuscule-containing cells». Mol Plant-Microbe Interact N°14, 2001, pp. 737-748.
11. Toua. D, «Essai d'utilisation de *Pseudomonas fluorescens* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* et de *Verticillium dahliae* sur tomate et dans la promotion de la croissance végétale». Thèse Magister. INA. El Harrach. Alger. 1996, 138p.
12. Benchabane. M, «Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents», Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger, 2005, pp. 235.

13. Chennaoui. N, « Etude de la compétence rhizosphérique de quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* et leur efficacité dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ». Thèse ing. agro Blida. 2004, 66 p.
14. Zahra. H, « Dynamique rhizosphérique des *Pseudomonas fluorescens* et leur efficacité dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* ». Thèse ing. Thèse Ing agro Blida. 2004, 70 p.
15. Larbaoui. A, « Mise en évidence de la production de sidérophores, de l'acide cyanhydrique et d'antibiotiques chez quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* ». Thèse Ing agro Blida, 1999, pp.68.
16. Benchabane. M, Bakour. R, Toua. D, and Boutekrabt. A, « Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate », Bulletin OEPPL/EPPO, Bulletin, N° 30, 2000, pp. 243 - 246.
17. Mendes.K, « Identification de souches bactériennes rhizosphériques de *Pseudomonas* spp fluorescents et étude de leurs activités antagonistes *in vitro* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* ». Thèse Ing. Inst Agro Univ Blida, 2001, 81p.
18. Larbaoui. A, « Effets des mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp. Fluorescents dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de résistances systémiques vis-à-vis des fusarioses vasculaires ». Thèse Magister agro Blida. 2003, pp.94.
19. Bensaid.F, « Etude de l'effet des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de l'isolat FO47 de *Fusarium oxysporum* non pathogène dans la lutte biologique vis-à-vis des fusarioses vasculaires ». Thèse magister agro Blida. 2006, pp.135.
20. Chaussod. R., « La qualité biologique des sols. Évaluation et implications », Étude et Gestion des Sols, N° 3, 1996, pp.261-78.
21. Cleyet-Marel. J et Hinsinger. P., « Le sol milieu vivant, un territoire qui reste à découvrir et à valoriser », Oléagineux, Corps Gras, Lipides, vol. 7, N° 6, Décembre 2000, pp.490 -493.
22. Jackson. R.B, Canadell. J, Ehleringer. J.R, Mooney, H.A, Sala O.E and Schulze, E.D, « A global analysis of root distribution for terrestrial biomes ». Oecologia, N° 108, 1996, pp.389 – 411.
23. Scurlock. J.M.O, Johnson. K and Olson. R.J, « Estimating net primary productivity from grassland biomass dynamics measurements », Global Change Biology, N° 8, 2002, pp.736 – 753.
24. Blank. D., « Regard original sur la faune du sol », EDN, N° 96, Juillet 2007, pp.1 – 10.
25. Plenchette. C, « Utilisation des mycorhizes en agriculture et horticulture », In : « Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées », Lavoisier Tech et Doc, Paris, 1991, pp.131 – 196.
26. Nouaïm. R et Chaussod. R, « Rôle des mycorhizes dans l'alimentation hydrique et minérale des plantes, notamment des ligneux de zones arides », Options méditerranéennes, N° 20, 1996, pp.9 - 26.

27. Hinsinger. P, «How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere», *Advances in Agronomy*, N° 64, 1998, pp.225 - 65.
28. Hiltner. L, «Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Grundüngung und Brache», *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft*, N° 98, 1904, pp.59 - 78.
29. Lynch. J.M, «The rhizosphere», John Wiley et Sons Ltd., Chichester, 1990, p. 458.
30. Hinsinger. P, Plassard. C., Jaillard. B. Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. *J. Geochem. Explor.*, N° 88, 2006, pp. 210-213.
31. Lemanceau. P, Corberand. T, Gardan. L, Latour. X, Laguerre. G, Boeufgras. J.M and Alabouvette. C, «Effect of two plant species, flax (*Linum Usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads», *App. Environ. Microbiology*, V. 61, N° 3, 1995, pp.1004 – 1012.
32. Kloepper. J.W, Tuzun. S, and Kuc. J, «Proposed definition related to induced disease resistance», *Biocontrol Science and Technology*, vol. 2, 1992, pp. 349 -351.
33. Botelho. G.R and Mendonça-Hagler. L.C, «Fluorescent Pseudomonas associated with the rhizosphere of crops – An overview», N° 37, March 2006, pp.401 – 416.
34. Vega. N.W.O, «A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake», *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, vol. 60, N° 1, may 2007, pp. 3621 – 3643.
35. Shamoot. S, Mc Donald. L and Bartholomew. W. V, «Rhizo-deposition of organic debris in soil», *Soil Science Society of America Proceedings*, N° 32, 1968, pp. 817-820.
36. Degenhardt. J, Gershenzon. J, Baldwin. I. T and Kessler. A, «Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies», *Curr. Opin. Biotechnol*, N° 14, 2003, pp. 169–176.
37. Hale. M.G, Moore. L.D and Griffin. G.J, «Root exudates and exudation, In: Dommergues, Y.R., Krupa, S.V., “Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants», (Eds.), Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam – Oxford – New York, 1978, pp. 163 - 203.
38. Bowen. G. D, et Rovira. A. D, «The rhizosphere, the hidden half», *In: Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi., U., «Plant roots—the hidden half». (ed.)Marcel Dekker Inc, New York, 1991, pp. 641 – 649.*
39. Wardle. D.A, «Communities and Ecosystems. Linking the Above and Belowground components», Princeton University Press, USA, 2002, pp. 392.
40. Warembourg. F.R, Roumet. C and Lafont. F, «Differences in rhizosphere carbon-partitioning among plant species of different families», *Plant and Soil*, N° 256, 2003, pp. 347 - 357.

41. Bowen. G. D, Rovira. A. D, «Microbial colonization of plant roots», Annual Review of Phytopathology, N° 14, 1976, pp. 121 - 144.
42. Newman. E. I, «The rhizosphere: carbon sources and microbial populations», In: "Ecological interactions in soil: plants, microbes and animals», Fitter, A. H, (Eds), Blackwell Scientific Publications, Oxford UK, 1985, pp. 107 - 121.
43. Ohtonen. R et Väre. H, «Vegetation composition determines microbial activities in a boreal forest soil», Microbial Ecology, N° 36, 1998, pp. 328 -335.
44. Priha. O, Grayston. S.J, Pennanen. T and Smolander. A, « Microbial activities related to C and N cycling and microbial community structure in the rhizosphere of *Pinus sylvestris*, *Picea abies* and *Betula pendula* seedlings in an organic and mineral soil», Microbial Ecology, N° 30, 1999, pp. 187 - 199.
45. Grayston. S. J, «Rhizodeposition and its impact on microbial community structure and function in trees». Phytion-Annales Rei Botanicae, N° 40, 2000, pp. 27 - 36.
46. Mary. B, Fresneau. C, Morel. J. L, Mariotti, A., «C-Cycling and N-Cycling During Decomposition of Root Mucilage, Roots and Glucose in Soil», Soil Biology & Biochemistry, N° 25, 1993, pp. 1005 - 1014.
47. Hinsinger. P, Gobran. G. R, Gregory. P. J and Wenzel. W. W, «Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes». New Phytologist, N° 168, 2005, pp. 293 - 303.
48. Read. D. B. and Gregory. P. J, «Surface tension and viscosity of axenic maize and lupin root mucilages», New Phytologist, N° 137, 1997, pp. 623 - 628.
49. Czarnes. S, Hallett. P. D, Bengough. A. G. and Young. I. M, «Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport», European Journal of Soil Science, N° 51, 2000, pp. 435 - 443.
50. Morel. J. L, Habib. L, Plantureux. S. and Guckert. A, «Influence of maize root mucilage on soil aggregate stability», Plant and Soil, N° 136, 1991, pp. 111 - 119.
51. Traore. O, Groleau-Renaud. V, Plantureux. S, Tubeileh. A and Boeuf-Tremblay. V, «Effect of root mucilage and modelled root exudates on soil structure», European Journal of Soil Science, N° 51, 2000, pp. 575 - 581.
52. Walker. T. S, Bais. H. P, Grotewold. E and Vivanco J. M, «Root exudation and rhizosphere biology», Plant Physiology, N° 132, 2003, pp. 44 - 51.
53. Rovira. A. D, «Plant root exudates», The Botanical Review, N° 35, 1969, pp. 35 - 59.
54. Grayston. S. J, Vaughan. D and Jones. D, «Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: The importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability», Applied Soil Ecology, N° 5, 1996, pp. 29 - 56.
55. Read. D. B, Bengough. A. G, Gregory. P. J, Crawford. J. W, Robinson. D., Scrimgeour. C. M, Young. I. M, Zhang. K and Zhang. X, «Plant roots release phospholipid surfactants that modify the physical and chemical properties of soil», New Phytologist, N° 157, 2003, pp. 315 - 326.

56. Nguyen. C, «La libération de composés organiques par les racines (rhizodéposition): modélisation et impact sur la biodisponibilité des éléments minéraux pour les plantes», Diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches, UMR INPL (ENSAIA) INRA, Nancy, mai 2007, pp. 136.
57. Alexander. M, «Ecological interrelationships: Microbiology of rhizosphere», Soil microbiology, Wiley Eastern Limited, New York, 1977, pp. 423 - 437.
58. Misko. A.L. and Germida. J.J, «Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola», FEMS Microbiol. Ecol, N° 42, 2002, pp. 399 - 407.
59. Pacheco. C.C, Passos. J.F, Moradas-Ferreira. P and De Marco. P, «Strain PM2, a novel methylotrophic fluorescent *Pseudomonas* sp», FEMS Microbiol. Lett, N° 227, 2003, pp. 279 - 285.
60. Latour. X et Lemanceau. P, «Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive», Agronomie, N°17, 1997, pp. 427 – 443.
61. Benizri. E, Courtade. A , Picard. C and Guckert. A, «Role of maize root exudates in the production of auxins by *Pseudomonas fluorescens* M.3.1», Soil Biol. Biochem, vol. 30, N° 10, 1998, pp. 1481 - 1484.
62. Thomashow. L.S, Weller. D.M, Bonsall. R.F and Pierson III. L.S, «Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat», Appl. Environ. Microbiol, N° 56, 1990, pp.908 – 912.
63. Mazzola. M, Cook. J, Thomashow. L.S, Weller. D.M and Pierson III. L.S, «Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habits», Appl. Environ. Microbiol, vol. 58, N° 8, 1992, pp. 2616 - 2624.
64. Schroth. M.U, Hildebrand. D.C and Panopoulos. N, «Phytopathogenic Pseudomonads and related plant- associated Pseudomonads», In: the prokaryotes (MP Balows, ed) Springer- Verlag, New York, 1992, pp. 3104 - 3131.
65. Schroth, M.N., and Hancock, J.G., «Diseases suppressive soil and root colonizing bacteria», Science, N° 216, 1982, pp. 1376 - 1381.
66. Haas. D, Défago. G, «Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads», Nature Rev. Microbiol, vol. 3, N°4, 2005, pp. 307 - 319.
67. Palleroni. N.J, «GRAM- negative aerobic rods and cocci : Family Pseudomonaceae», In: Bergey's Manual of bacteriology (NR Krieg, JG.H eds) William et Wilkins, Baltimore, N° 1, 1984, pp. 141 - 199.
68. Bossis. E, Lemanceau. P, Latour. X and Gardan. L, «The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida* : current status and need for revision», Agronomie, N° 20, 2000, pp. 51 – 61.
69. Verhille. S, Baida. N, Dabboussi. F, Izard. D and Leclerc. H, «Taxonomy study of bacteria from natural mineral waters : proposal of *Pseudomonas jassenii* sp. nov. and *Pseudomonas mandelii* sp. nov., syst», Appl. Microbiol, N° 22, 1999, pp. 45 - 58.

70. Delorme. S, Lemanceau. P, Christen. R, Coberand. T, Meyer. J.M and Gardan L, «*Pseudomonas lini* sp.nov,a novel species from bulk and rhizospheric soils,Int.j.syst», Bacteriol, N° 52, 2002, pp. 513 - 523.
71. Weller. D.M, «Biological control of soil- borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria», Annual review of phytopathology, N° 26, 1988, pp. 379 - 407.
72. Compant. S, Duffy. B, Nowak. J, Clément. C and Ait Barka. E, «Use of Plant Growth- Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects», Applied and environmental microbiology, American Society for Microbiology, vol.71, N° 9, September 2005, pp. 4951 -4959.
73. Kole. S.C and Hajra. J.N, «Isolation and evaluation of tricalcium and rock phosphate solubilizing microorganisms from acidic terai and lateritic soils of West Bengal», J. Interacademia, vol.1, N° 3, 1997, pp. 126 – 128.
74. Lugtenberg. B.J.J, De Weger. A.L and Bennet. J.W, «Microbial stimulation of plant growth and protection from disease», Curr. Op.Biotechnology, N° 2, 1991, pp. 457 - 464.
75. Lugtenberg. B.J.J and Dekkers. L.C, «What makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent?» , Environ. Microbiol, N° 1, 1999, pp. 9 – 13.
76. Weller. D.M and Thomashow, L.S, «Current challenges in introducing beneficial microorganisms in to the rhizosphere». In: O'gara; F ;Dowling, D.N. and Boesten, B. «Molecular Ecology of Rhizosphere microorganisms», VCH, Weinheim, 1994 pp.1 - 17.
77. Suslow.T.V and Schrouth. M.N, «rhizobacteria of sugar beet : effects of seed application and root colonization on yield», Phythopatology N° 72, 1982, pp. 199 - 206.
78. Xu. G.W and Gross. D.C, «Field evaluations of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia carotovora*, and potato yield», Phytopathology, N° 76 , 1986, pp. 423 - 430.
79. Kloepper. J.W, Hume. D.J, Scher. F.M, Singleton. C, Tipping. B, Laliberte. M, Frauley. K, Kutshaw. T, Simouson. C, Lifshitz. R, Zaleska. I and Lee. L, «plant growth promoting rhizobacteria. On. Canola (rapeseed)», plant .Dis, N° 72, 1988, pp. 42 - 46.
80. Van peer. R and Shippers. B, «plant growth Reponses to bacterization with selected *Pseudomonas* spp. Strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures», Can. J. Microbiol, N° 35 1989, pp. 456 - 463.
81. Kloepper. J.W, Leong. J, Teintze. M, and Schroth. M.N, «*Pseudomonas* Siderophores: a mechanism explaining disease suppression soils», Curr. Microbiol, N° 4, 1980, pp. 317 - 320.
82. Scher. F.M, Baker. R, «Effect of *pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *fusarium* wilt pathogens», Phytopathology, N° 72, 1982, pp. 1567 - 1573.
83. Cook. R.J, and Baker. K.F,«The natural and Practices of biological control of plant pathogens», American phytopathological Society, St Paul, 1983, pp. 539.

84. Digat. B, «A new encapsulation technology for bacterial inoculants and seed bacterization. In Plant Growth-Promoting rhizobacteria», Progress and Prospects, C. Keel, B., Koller., Défago, G, eds, IOB/WPRS Bulletin XIV / vol. 8, 1991, pp. 383-391.
85. Digat. B, «Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : Le cas des *Pseudomonas*. The plant growth promoting rhizobacteria. An example with *Pseudomonas*». C.R. Agric. Fr, vol. 80, N° 2, 1994, pp. 125 – 140.
86. Waxlin. F, «Contribution à l'étude de l'action des *Pseudomonas* fluorescents : action sur la croissance et le développement de plantes horticoles», Mémoire ENITH, Angers, 1982, pp. 195.
87. Mordukhova. E.A, Skvortsova. N.P, Kochetkov. V.V, Dubeikovskii. A.N, Boronin. A.M, « Synthesis of the phytohormone indole-3-acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas* », Mikrobiologiya, N°60, 1991, pp. 494 - 500.
88. Mahmoud. S.A.Z, Ramadan. E.M, Thabet. F.M, Khater. T, «Production of plant growth promoting substances by rhizosphere microorganisms», Zbl. Mikrobiol, N° 139, 1984, pp. 227 - 232.
89. Arshad. M, Frankenberger. W.T, Jr. «Microbial production of plant hormones» Plant Soil, N° 133, 1991, pp. 1 - 8.
90. Glick. B.R, «The enhancement of plant growth by freeliving bacteria», Canadian Journal of Microbiology, N° 41, 1995, pp. 109 - 117.
91. Grayston. S.J, Stephens. J.H, Nelson. L.M, «Field and greenhouse studies on growth promotion of spring wheat inoculated with co existent rhizobacteria», plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects, Keel, C., Koller, B and Défago, G, eds, Int. Org. Biol. Control Noxious Anim, plants/West, palaerctic Reg Sec Bull, vol. 1418, 1991, pp. 11-16.
92. Rodelas. B, Salmeron. V, Martinz – Toledo. M. V, Loper. G.J, «Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically defined media», Plant Soil, vol. 153, 1993, pp. 97 - 101.
93. Crowley. E, Reid. C.P.P, Szaniszlo. P.J, «Microbial siderophores as iron sources for plants, Iron transport in microbes plants and animals», Winkelmann, G., Van der Helm, D., Neilands, J.B, eds, Weinheim, 1987, pp. 375-385.
94. Demange. P, Wendenbaum. S, Bateman. A, Dell. A, Abdallah. M.A, «Structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds, Iron transport». in microbes, plants and animals, Weinheim, 1987, pp.167-187.
95. Briat. J.F et Vert. G, «Acquisition et gestion du fer par les plantes», Cahier d'agriculture, vol.13, N° 2, 2004, pp. 183 - 201.
96. Rokade. S.M and Patil. P, «Phosphate solubilizing microorganisms: a review», In: «Journal of Maharashtra», Agricultural Universities, vol. 18, N° 1, 1993, pp. 93 - 101.
97. Whitelaw. M. A, «Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi», Advances in Agronomy. vol. 69, 2000, pp. 99 - 151.

98. Rahman. K.M, and Majid-Khan. S, «Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato», *Bioresource Technology*, vol. 85, 2002, pp. 213-215.
99. Rosas. S.B, Andrés. J.A, Rovera. M, Correa. N.S, «Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis». *Soil Biology & Biochemistry* N°38, 2006, pp. 3502–3505.
100. Kucey. R. M. N, «Phosphate solubilising bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils», *Canadian Journal of Soil Science*, vol. 63, 1983, pp. 671 - 678.
101. Ilmer. P, Barbato. A and Schinner. F, «Solubilization of hardly soluble $ALPO_4$ with P-solubilizing microorganisms», *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 27, N° 3, 1995, pp. 265 - 270.
102. Marschner. H, «Mineral nutrition of higher plants», London: Academic Press, 1997, pp. 889.
103. Welle. D.M, Raaijmakers. J.M, Gardener. M, and Thomashow. L.S, «Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens», *Annu Rev Phytopathol*, vol. 40, 2002, pp. 309-348.
104. Grimes. H.D and Mout. M.S, «Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*», *Soil Biol Biochem*, N° 6, 1987, pp. 27 - 30.
105. Van Peer. R, Neimann. G.J, and Schippers. B, «Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp strain WCS 417r», *Phytopathology*, N° 81, 1991, pp. 728 - 734.
106. Wei. G, Kloepper. J.W, Tuzun. S., «Induction of systemic resistance with seed treatment by PGPR strains», In: «Plant growth-promoting-rhizobacteriaprogress and prospects», C. Keel, B. Koller, G. Defago, eds, *IOBC/WPRS*, 1991, pp. 191-194.
107. Bakker. P.A.H.M, Ran. L.X, Pieterse. C.M.J and Van Loon. L.C., «Understanding the involvement of rhizobacteria mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases», *Can. J. Plant Pathol*, N° 25, 2003, pp. 5 - 9.
108. Laville. J, Voisard. C, Keel. C, Maurhofer. M, Defago. G, Keel. C and Haas. D, «Global control in *Pseudomonas fluorescens* mediating antibiotic synthesis and suppression of black root rot of tobacco», *Proc. Natl. Acad. Sci.*, N° 89, 1992, pp. 1562 – 1566.
109. Leeman. M, Van Pelt. J.A, Den Ouden. F.M, Heinsbrock. M, Bakker. P.A.H.M and Schippers. B, «Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*», *Phytopathology*, N° 85, 1995, pp. 1021 -1027.
110. Ongena. M., Giger. A, Jacques. P, Dommès. J, Thonart. P, «Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean by *Pseudomonas putida* BTP1», *Eur. J. Plant Pathol*, N° 108, 2002, pp. 187 - 196.

111. Zhou. T and Paulitz. T.C, «Induced resistance in the biocontrol *Phythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber», J.Phytopathol, N° 142, 1994, pp. 51 – 63.
112. Voisard. C, Keel.C, Haas. D, and Défago. G, «Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions», EMBO. J, N° 8, 1989, pp. 351 - 358.
113. Défago. G, Haas. D, Berling. C.H, Burger.U, Keel.C, Voisard.C, Wirthner.P, Wuthrich.B, «Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: Biological control of soil – borne plant pathogens» (D. Hornby, ed), CAB, Int, 1990, pp. 93-108.
114. Soylu. S, Bennett. M.H, Mansfield. J.W, «Induction of Phytoalexin Accumulation in Broad Bean (*Vicia faba*L.) Cotyledons Following Treatments with Biotic and Abiotic Elicitors», Turk J Agric For, vol. 26, 2002, pp. 343-348.
115. Benhamou. N, Richard. R, Patrice Reyb. B, Oligandrin. Y.T, «the elicitor-like protein produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum*, induces systemic resistance», 2001, pp. 681-696.
116. Latour. X, Philippot. L, Corberand. T, Lemanceau. P, «The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type», FEMS Microbiol Ecol, vol. 30, 1999, pp. 163-170.
117. M'Piga. P, Belanger. R.R, Paulitz. T.C, Benhamou. N, «Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f sp. *radicis lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28», Physiol Mol Plant Pathol, vol. 50, 1997, pp. 301-320.
118. Benhamou. N, Belonger. R.R, Paulitz. T.C, «Induction of differential host responses by *Pseudomonas fluorescens* challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii* and *Pythium ultimum*», Phytopathology, vol. 86, 1996, pp. 1174- 2185.
119. Benhamou. N, «Elicitor-induced plant defence pathways», Trends Plant Sci, vol. 1, 1996, pp. 233-240.
120. Pieterse. C.M.J, Van Wees. S.C.M, Hoffland. E, Van Pelt. J.A and Van Loon. L.C, «Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression», Plant Cell, vol. 8, 1996, pp. 1225-1237.
121. Maurhauser. M, Hass. C, Meuwly. P, Metraux. J. P, Défago. G, «Induction of systemic resistance of tobacco to necrosis virus by the root- colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gac A* gene and of pyoverdine production», Phytopathology, vol. 84, 1994, pp.139-146.
122. Zdor. R.E, Anderson. A .J, «Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean», Plant Soil, vol. 140, 1992, pp. 99-107.
123. Viebahn. M, «Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r: Molecular analysis of effects on microbial communities in the rhizosphere of wheat», Ph.D, Thesis Utrecht University, ISBN, 2005, pp. 90-393.

124. Duijff. B.J, Recorbet. G, Bakker. P.A.H.M, Loper. J.E and Lemanceau. P, «Microbial antagonism at the root level is involved in suppression of *Fusarium* wilt by the combination of non pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358», *Phytopathology*, vol. 89, 1999, pp. 1073-1079.
125. Leong. J, «Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens», *Annu Rev Phytopathol*, N° 24, 1986, pp. 187 - 208.
126. Neilands.J.B, and Leong. S.A, «Siderophores in relation to plant growth and disease», *Ann. Rev plant. Physiol*, N° 37, 1986, pp. 187 - 208.
127. Lodewyckx. C. J, Vangronsveld. F, Porteous. E. R. B, Moore. S, Taghavi. M, Mezgeay and van der Lelie. D, «Endophytic bacteria and their potential applications», *Crit. Rev. Plant Sci*, N° 21, 2002, pp. 583 - 606.
128. Gutterson. N, «Microbial fungicides: recent approaches to elucidating mechanisms», *Crit. Rev. Biotechnol*, N° 10, 1990, pp. 69 - 91.
129. Cook. R.J, Thomashow. L.S, Weller. D.M, Fujimoto. D, Mazzola. M, Banger. G, Kim.D.S, «Molecular mechanisms of defence by rhizobacteria against root disease», *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, N° 92, 1995, pp. 4197 - 4201.
130. Thomashow. L.S, and Weller. D.M, «Role of phenazines antibiotic from *P. fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*», *J. Bacteriol*, N° 170, 1988, pp. 3499 - 3508.
131. Haas.D, Keel. C, Laville. L, Maurhofer. M, Oberkanoli. T, Schneider, Voisard. C, Wuthrich. B, and Défago. G, «Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in suppression of root diseases», 1991, pp. 450 - 456.
132. Lemanceau. P, and Alabouvette.C, «Biological control of *Fusarium* diseases by the association of fluorescent *Pseudomonas* and non pathogenic *Fusarium*. In: *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*», *Progress and Prospects* (eds Keel, Koller,B and Défago,G), *Bulletin OILB/ SROP* xiv/8, 1991, pp. 51 - 56.
133. Schippers. B, Scheffer. R.J, Lugtenberg. B.J.J, Weisbeek. P.J, «Biocoating of seeds with plant growth promoting rhizobacteria to improve plant establishment», *outlook. Agric*, N° 24, 1995, pp. 179 - 185.
134. Moulin. F, Lemanceau. P, Alabouvette. C, «Suppression of *pythium* root rot of cucumber by a fluorescent pseudomonads is related to reduce root colonization by *pythium aphanidratum* », *J. phytopathol*, N° 144, 1996, pp. 125 - 129.
135. Tombolini. R, Van der Gaag. D.J, Gerhardson. B, Jansson. J.K, «Colonization pattern of the biocontrol strain *Pseudomonas chlororaphis* MA342 on barley seeds visualized by using green fluorescent protein», *App Environ Microbiol*, N° 65, 1999, pp. 3674 - 3680.
136. Weller. D.M, Cook. R.J, «increased growth of wheat by seed treatments with fluorescent *Pseudomonads*, and implications of *Pythium* control», *Can.J.plant pathol*, N° 8,1986, pp. 328 - 334.

137. Becker. J.O, and Cook. R.J, «role of siderophores on suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads», *Phytopatilogy*, N° 78, 1988, pp. 778 - 782.
138. De Freitas. J.R, and Germida. J.J,«*Pseudomonas cepacia* and *Pseudomonad putida* as winter wheat inoculants for biocontrol of *rhizoctonia solani*», *Can J Microbiol*, N° 37, 1991, pp. 78 - 804.
139. Kraus. J., and Loper. J.E, «Lack of evidence foe a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in Biological control of *Pythium* damping-off of cucumber», *Phytopathology*, N° 82, 1992, pp. 264 - 271.
140. Xu. G.W, and Gross.D.C, «Field evaluations of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia carotovora*, and potato yield», *A Phytopathology*, N° 76, 1986, pp. 423 - 430.
141. Gardner. J. M, Chandler. J. L, and Feldman. A. W, «Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent pseudomonads on citrus roots», *Plant Soil*, N° 77, 1984, pp. 103 - 113.
142. Sneh. B, Dupler. M, and Elad. Y, Baker. R, «Chlamydo spores germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium* Suppressive soil», *Phytophatology*, N° 74, 1984, pp. 1115 - 1124.
143. Lemanceau. P, and Alabouvette. C, «Suppression of *Fusarium* wilts by fluorescent Pseudomonads: mechanism and applications», *Biocontrol sciences and Technology*, N° 3, 1993, pp. 219 - 234.
144. Linberg. G.O, «An antibiotic lethal to fungi», *Plant Dis*, N° 65, 1981, pp.680 - 683.
145. Howel. CR, and Stepanovic. R.D, «Control of *Rhizoctonia solani* seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium», *Phytopatholog*, N° 69, 1979, pp. 480 - 482.
146. Howel. CR, and Stepanovic. R.D, «Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin», *Phytopathology*, N° 70, 1980, pp. 712 - 715.
147. Keel. C, Wirthner. P, Oberhansli.T, Voisard. C, Burger. U, Haas. D, and Défago. G, «Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere : Role of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco . *Symbiosis*», N° 9, 1990, pp.327 - 341.
148. Keel. C, Maurhofer. M, Oberlhansli.T, Voisard. C, Haas. D, Défago. C, «Role of 2,4 – diacetylphloroglucinol in the suppression of take-all of wheat by a strain of *Pseudomonas fluorescens*». In: *Biotic interactions and soil borne diseases* (Beemster, ABR, Bollen, Gl, Gerlagh. M, Ruissen, MA, Schippers. B, Tempel, A.) *Rev Agric Managed Forest Ecol* 23, Elsevier, Amsterdam, 1991, pp. 335 - 338.
149. Raaijmakers. J.M, Weller. D.M, Thomashow. L.S, «Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments », *Appl. Environ. Microbiol*, vol. 63, N°3, 1997, pp. 881 – 887.

150. Défago. G, «2,4- diacetylphloroglucinol, a promising compound in biocontrol», *Plant Pathol*, N° 42, 1993, pp. 311 – 312.
151. Bangera. M.G, Thomashow. L.S, «Characterization of a genomic locus required for synthesis of antibiotic 2,4 diacetylphloroglucinol by biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87», *Mol.Plant-Microbe Interaction*, N° 9, 1996, pp. 83 - 90.
152. De Souza. J.T, «Distribution, diversity and activity of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. Wageningen –Holanda», PhD. Thesis. Universidade de Wageningen , 2002, pp. 161.
153. Raaijmakers. J.M, Vlami. M, De Souza. J.T, «Antibiotic production by bacterial biocontrol agents», *Antonie Leeuwenhoek*, N° 81, 2002, pp. 537 – 547.
154. Ramette. A, Moënne-Loccoz. Y, Défago. G, «Prevalence of fluorescent *Pseudomonads* producing antifungal phloroglucinols and/ or hydrogen cyanide in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot», *FEMS Microbiol. Ecol*, N° 44, 2003, pp. 35 – 43.
155. Nielsen. T.H, Christophersen. C, Anthoni. U, Serensen. J, «A new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54», *J Appl Microbiol*, vol. 87, 1999, pp. 80-90.
156. Thrane. C, Olsson. S, Nielsen. T.H, Sørensen. J, «Vital fluorescent strains for detection of stress in *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solanii* challenged with viscosinamide from *Pseudomonas fluorescens* DR54», *FEMS Microbiol. Eco.*, N°30, 1999, pp.11 – 23.
157. Nielsen. T.H, Thrane. C, Christeophersen. C, Anthoni. U, Sørensen. D.N, «Structure, production characteristic and fungal antagonism of oftensin - a new antifungal cyclic lipopeptide from *Pseudomonas fluorescens* 96.578», *J. Appl. Microbiol*, N° 89, 2000, pp. 992 - 1001.
158. Kaur. R, Macleod. J, Foley. W, Nayudu. M, «Gluconic acid: an antifungal agent produced by *Pseudomonas* species in biological control of take-all», *Phytochemistry*, vol. 67, N°6, 2006, pp. 595 - 604.
159. Pierson. L.S, Wood. D.W, and Pierson. E.A, «Homoserine lactone-mediated gene regulation in plant-associated bacteria», *Annu Rev Phytopathol*, vol. 36, 1998, pp. 207-225.
160. Chancey. S. T, Wood. D. W, and Pierson. L. S, «Two-component transcriptional regulation of *N*-acyl-homoserine lactone production in *Pseudomonas aureofaciens* », *Appl. Environ. Microbiol*, N° 65, 1999, pp. 2294-2299.
161. Haas. D, and Keel. C, «Regulation of antibiotic production in rootcolonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease». *Annu. Rev. Phytopathol*, N° 41, 2003, pp. 117 - 153.
162. Thomashow. L. S, «Biological control of plant root pathogens», *Curr. Opin. Biotechnol*, N° 7, 1996, pp. 343 – 347.

163. Keel. C, Voisard. C, Berling. C. H, Kahr. G and Défago. G, «Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 under gnotobiotic conditions». *Phytopathology* N°79, 1989, pp. 584–589.
164. Ownley. B. H, Weller. D. M and Thomashow. L. S, «Influence of in situ and in vitro pH on suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2–79», *Phytopathology*, N° 82, 1992, pp. 178 - 184.
165. Bender. C. L, Rangaswamy. V. and Loper. J, «Polyketide production by plant-associated pseudomonads », *Annu. Rev. Phytopathol*, N° 37, 1999, pp.175 -196.
166. Duffy. B. K, and Défago. G, «Zinc improves biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis», *Phytopathology*, N° 87, 1997, pp. 1250 - 1257.
167. Duffy. B. K, and Défago. G, «Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains», *Appl. Environ. Microbiol*, N° 65, 1999, pp. 2429 - 2438.
168. Georgakopoulos. D. G, Hendson. M.N, Panopoulos. J and Schroth. M. N, «Cloning of a phenazine biosynthetic locus of *Pseudomonas aureofaciens* PGS12 and analysis of its expression in vitro with the ice nucleation reporter gene», *Appl. Environ. Microbiol*, N° 60, 1994, pp. 2931 - 2938.
169. Ownley. B. H, Duffy. B. K and Weller. D. M, «Identification and manipulation of soil properties to improve the biological control performance of phenazine-producing *Pseudomonas fluorescens*», *Appl. Environ. Microbiol*, N° 69, 2003, pp. 3333 – 3343.
170. Duffy. B. K, and Défago. G, «Controlling instability in *gacS-gacA* regulatory genes during inoculum production of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains», *Appl. Environ. Microbiol*, N° 66, 2000, pp. 3142 - 3150.
171. Jaques. P, Delfosse. P, Ongena. M, Lepoivre. P, Cornelis. P, Koedam. N, Neirinckx. L and Thouart. P, «Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol », *Cahiers agriculture*, N° 2, 1993, pp. 301 - 307.
172. De Weger. L.A, VanBoxtel. R, Van Der Burg. B, Bruter. R.A, Geels.F.P, Schippers. B and Lugtenberg. B, «Siderophores and outer membrane proteins of antagonistic, plant growth stimulating, root colonizing *Pseudomonas* spp», *J Bacteriol*, N° 165, 1986, pp. 585 - 594.
173. Barach. I, «Iron, siderophores and plant-pathogen interaction», *phytoparasitica*, N°18, 1990, pp. 183 - 188.
174. Maurer. B, Muller. A, Keller-Shierlein. W and Zähler. H, «mikrobiol», n° 60, (1968), 326 -339. In: Philson. S, et Llinàs. M, «Siderochromes from *Pseudomonas fluorescens*», *the journal of Biological Chemistry*, vol. 257, N° 14, July, 1982, pp. 8086 – 8090.

175. Teinzte. M, Hossain. M.B, Barnes. C.L, Leong. J and Van Der Helm. D, «Structure of ferripseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10», *Biochemistry*, N° 20, 1981, pp. 6446 - 6457.
176. Wendenbaum. S, Demange. R, Dell. A, Meyer. J.M and Abdallah. M. A, «The structure of pyoverdine Pa, the siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*», *Tetrahedron Lett* , N° 24, 1983, pp. 4877 - 4880.
177. Yang. C and Leong. J, «Structure of pseudobactin 7SR1, a siderophore from a plant-deleterious *Pseudomonas* strain», *Biochemistry*, N° 23, 1984, pp. 3534 - 3540.
178. Buyer. J.S, Wright. J.M and Leong. J, «Structure of pseudobactin A214, a siderophore from a bean-deleterious *Pseudomonas*», *Biochemistry*, N° 25, 1986, pp. 5492 - 5499.
179. Van der Hofstad. G.A.J.M, Marugg. J.D, Verjans. G.M.G.M and Weisbeek. P.G, «Characterization and structure analysis of the siderophore produced by the PGPR *Pseudomonas putida* strain WCS358». In: "*Iron siderophore and plant diseases*" (TR Swinburn, ed), plenum press, New York, 1986, pp. 71 -75.
180. Meyer. J.M, et Abdallah. A, «The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties», *J. Gen. Microbiol*, N° 107, 1978, pp. 319 - 328.
181. Demange. P, Wendenbaum. S, Bateman. A, Dell. A and Abdallah. M.A, «Structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds», In: «*Iron transport in microbes, plants and animals*», Weinheim ,VCH, 1987, pp. 167 - 187.
182. Holneicher. U, «"über die Struktur und bion Synthese der siderophore von *Pseudomonas fluorescens* ATTC 13525 und *Pseudomonas chlororaphis* ATTC 4666», Ph.D. Thesis, University Cologne, Germany, 1993, pp. 295.
183. Holneicher. U, Hartmann. R, Taraz. K and Budzikiewicz. H, «Pyoverdin, ferribactin, azotobactin a new triade of siderophores from *Pseudomonas chlororaphis* ATTC 9446 and its relation to *Pseudomonas fluorescens* ATTC 13525», *Z.naturfosch* N° 50, 1995, pp. 337 -344.
184. Taraz. K, Tappe. R and Schröder. H, «Ferribactins the biogenetic precursors of pyoverdins», *Z naturforsh*, N° 46 1991, pp. 527 - 533.
185. Anthony. U, Christophensen. C, Neilse. P.H, Gram. L and Petersen. B.O, «Pseudomonine, an isoxazolidone with siderophoric activity from *Pseudomonas fluorescens* AH2 isolated from lake Victoria Nile», *perch. J. nat prod*, N° 58, 1995, pp. 1786 - 1789.
186. Mercado-blanco. J, Van der Drift. K.M.G.M, Olsson. P.E, Thomas-Oates. J.E, Van Loon. L.C and Bakker. P.A.H.M, «Analysis of the *pms CEAB* gene cluster involved in biosynthesis if salisilic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens*. WCS 374», *J.Bacteriol*, N° 183, 2001, pp. 1909 - 1920.
187. Cox. C.D, Rinehart. K.L, Moor. M.L and Cook. J.C, «Pyochelin: novel structure of an iron chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa* », *Proc. nat. Acad Sci, USA*, N° 78, 1981, pp. 4256 - 4260.

188. Raaijmakers. J.M, Vanerslius. I, Koster. M, Bakker. P.A.H.M, Weisbeek. P.J and Schippers. B, «Utilization of heterogous siderophores and rhizosphere competence of *Pseudomonas* spp.», *Can.J.Microbiol*, N° 41, 1995, pp. 126 - 135.
189. Mirleau. P, Delorme. S, Philippot. L, Meyer. J.M, Mazurien. S and Lemanceau. P, «Fitness in soil and rhizosphere of *Pseudomonas fluorescens* C7R12 compared with a C7R12 mutant affected in pyoverdine synthesis and uptake», *FEMS Microbiol Ecol*, N° 34, 2000, pp. 35 - 44.
190. Mossialos. D, Mayer. J.M, Budzikiewicz. H, Wolff. U, Koedam. N and Baysse. C, «quinolobactin, a, new siderophore of *Pseudomonas fluorescens* ATTC 17400 whose production is repressed by the cognate pyoverdine», *Appl Environ Microbiol*, N° 66, 2000, pp. 487 - 492.
191. Ongena. M, Jaques. P, Delfosse. P and Thouart. P, «unusual traits of the pyoverdine-mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* BTP1», *Biometals*, N° 15, 2001, pp. 1 -13
192. Loper. J.E, Schroth. M.N, «Importance of siderophores in microbial interactions in the rhizosphere», In: «Iron siderophore and plant disease», (TR Swinburne) Plenum Press, New York, 1986, pp.85 - 98.
193. Joyce. E, Loper. J.E and Ishimaru. C.A, «Factors influencing siderophore mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp. The rhizosphere and plant growth». 1991, pp. 253 - 261.
194. Elad. Y. and Baker. R, «Influence of trace amounts of cations and siderophore-producing pseudomonads on Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* », *Phytopathology*, N° 75, 1985, pp. 1047 - 1052.
195. Höfte. M, Buysens. S, Koedam. N And Cornelis. P, «Zinc effects siderophore-mediated high affinity iron uptake systems in the rhizosphere *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2», *Bio / metals*, N° 6, 1993, pp. 85 - 91.
196. Rossbach. S, Wilson. T.L, Kukuk. M.L and Carty. H.A, «Elevated zinc induce siderophore biosynthesis genes and a zntA- like gene in *Pseudomonas fluorescens*», *FEMS Microbiol Lett*, N° 191, 2000, pp. 61 -70.
197. Dao. K.H.T, Hamer. K.E, Clark. C.L and Harshman. L.G, «Pyoverdine production by *Pseudomonas aeruginosa*», *Microbiology*, N° 146, 2001, pp. 2425 - 2434.
198. Baysse. C, De Vos. D, Naudet. Y, Vandermonde. A, Ochsner. U, Meyer. J.M, «Vanadium interferes with siderophore-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*», *Microbiology*, N° 146, 2000, pp. 2425 - 2434.
199. Kinscherf. T.G and Willis. K, «Global regulation by *gidA* in *Pseudomonas syringae*», *J Bacteriol*, N° 184, 2002, pp. 2281 - 2286.
200. Sanchez-Contreras. M, Martin. M, Villaceros. M, O'Gara. F, Bonilla. I and Rivilla. R «Phenotypic selection and phase variation occur during Alfalfa root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* F113», *J Bacteriol*, N° 184, 2002, pp. 1587 - 1596.

201. Moores. J.C, Magazin. M, Ditta. G.S and Leong. J, «Cloning of gene involved in the biosynthesis of pseudobactine, a high affinity iron transport agent of a plant growth-promoting *Pseudomonas* strains», J. bacterial, N° 157, 1984, pp. 53 - 58.
202. Neilands. J.B, «Methodology of siderophores struct», Bonding, N° 58, 1984, pp. 1 - 24.
203. Palleroni. N.J, «Introduction to the family Pseudomonaceae», In: the Prokaryotes (MP Balows, ed), Springer. Verlag, New York, 1992, pp. 3071 - 3085.
204. Jaques. M.A, «Ecologie quantitative et physiologie de la communauté bactérienne épiphyllé de *Cichorium endivia* var *latifolia* L». Thèse de doctorat, université de Paris-XI, Orsay, 1994, pp. 123.
205. Duffy. B. K., «Competition»,. In O. C. Maloy and T. D. Murray (ed.), Encyclopedia of plant pathology. John Wiley & Sons, Inc.,New York, N.Y. 2001, pp. 243–244
206. Turnbull. G. A, Morgan. J. A. W, Whipps. J. M, and Saunders. J. R.,«The role of motility in the in vitro attachment of *Pseudomonas putida* PaW8 to wheat roots». FEMS Microbiol. Ecol. N°35, 2001, pp. 57–65.
207. Turnbull. G. A, Morgan. J. A. W, Whipps. J. M, and Saunders. J. R.,. «The role of bacterial motility in the survival and spread of *Pseudomonas fluorescens* in soil and in the attachment and colonization of wheat roots». FEMS Microbiol. Ecol. N°36, 2001, pp. 21–31.
208. De Weert. S, Vermeiren. H, Mulders. I. H. M, Kuiper. I, Hendrickx. N, Bloemberg. G. V, Vanderleyden. J, de Mot. R and Lugtenberg. B. J. J., «Flagella-driven chemotaxis toward exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*». Mol. Plant-Microbe Interact. N°15, 2002, pp. 1173–1180.
209. Nelson. E. B, «Microbial dynamics and interactions in the spermosphere». Annu. Rev. Phytopathol. N°42, 2004, pp. 271–309.
210. Heming.B.C, «Microbial-iron interactions in the plant rhizosphere». An Overview, J. Plant Nat N°9, 1986, pp. 505-521.
211. Loper. J.E, Buyer. J.S, «Siderophores in microbial interactions on plant surfaces». Mol plant-microbe interac N°4, 1991, pp. 5-13.
212. Knee. E. M, Gong. F. C, Gao. M, Teplitski. M, Jones. A. R, Foxworthy. A, Mort. A. J, and Bauer. W. D, «Root mucilage from pea and its utilization by rhizosphere bacteria as a sole carbon source». Mol. Plant-Microbe Interact. N°14, 2001, pp. 775–784.
213. Benziri. E, Boudoin. E, Guckert. A, «Root colonisation by plant growth promoting rhizobacteria biocontrol science and technology» vol. 5, N°11, 2001, pp. 547-557.
214. Casadevall. A, Pirofski. L.A, «Host – pathogen interaction: basic concepts of microbial commensalism, colonization, infection and disease». Infection immunity., N°68, 2000, pp. 6511 – 6518.

215. Morot-Gaudry. J.F., «Assimilation de l'azote chez les plantes». Inra, Editions Quae, 1997, pp. 422.
216. Martínez-Romero. E and Caballero-Mellado. J., «*Rhizobium* phylogenies and bacterial genetic diversity» *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol.15, N°2, 1996, pp. 113–140.
217. Weir. B, «Systematics, Specificity, and Ecology of New Zealand Rhizobia», A Doctor thesis ,The University of Auckland, New Zealand, 2006, pp. 223.
218. Young. J. M, «The genus name *Ensifer* Casida 1982 takes priority over *Sinorhizobium* Chen et al. 1988, and *Sinorhizobium morelense* Wang et al. 2002 is a later synonym of *Ensifer adhaerens* Casida 1982. Is the combination '*Sinorhizobium adhaerens*' (Casida 1982) Willems et al. 2003 legitimate? Request for an opinion» *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 53, N°6, 2003, pp. 2107–2110.
219. Garrity. G. M, Bell. J. A, and Lilburn. T. G, «Taxonomic outline of the prokaryotes», Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second edition, Release 5.0 May Bergey's Manual Trust. 2004.
220. Benhizia. Y, Benhizia. H, Benguedouar. A, Muresu. R, Giacobini. A and Squartini. A, «Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*» *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 27, 4, 2004, pp. 462–468.
221. Quan. Z.X, Bae. H.S, Baek. J.H, Im. W.T, Lee. S.T and Chen. W.F, «*Rhizobium daejeonense* sp. nov. isolated from a cyanide treatment bioreactor» *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol.55, N°6, 2005, pp. 2543–2549.
222. Segovia. L, Young. J. P. W and Martínez-Romero. E, «Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov.» *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol.43, N°2, 1993, pp. 374–377.
223. Lindström. K, «*Rhizobium galegae*, a new species of legume root nodule bacteria» *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 39, N°3, 1989, pp. 365–367.
224. Amarger. N, Macheret. V, Laguerre. G and Amarger. N «*Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris* nodules» *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 47, N°4, 1997, pp. 996–1006.
225. Chen. W. X, Tan. Z. Y, Gao. J. L, Li. Y and Wang E. T «*Rhizobium hainanense* sp. nov, isolated from tropical legumes» *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 47, N°3, 1997, pp. 870–873.
226. Wang. E. T, van Berkum. P, Beyene. D, Sui. X. H, Dorado. O, Chen. W. X, and Martínez-Romero. E, «*Rhizobium huautlense* sp. nov., a symbiont of *Sesbania herbacea* that has a close phylogenetic relationship with *Rhizobium galegae*» *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 48, N°3, 1998, pp. 687–699.

227. Wei. G. H, Wang. E. T, Tan. Z. Y, Zhu. M. E and Chen. W. X, «*Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp. nov., respectively isolated from *Indigofera* spp. and *Kummerowia stipulacea*» International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 52, N°6, 2002, pp. 2231–2239.
228. Frank. B, «Ueber die Parasiten in den Wurzelanschwillungen der Papilionaceen» *Botanische Zeitung*, vol. 37, 1879, pp. 376-399.
229. Frank. B, «Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen» *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, vol.7, 1889, pp. 332–346.
230. Wei. G. H, Tan. Z. Y, Zhu. M. E, Wang. E. T, Han. S. Z, and Chen. W. X, «Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium loessense* sp. nov.» International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 53, N°5, 2003, pp. 1575–1583.
231. Van Berkum. P, Beyene. D, Campbell. T. A, Bao. G, and Eardly. B. D, «*Rhizobium mongolense* sp. nov. is one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen-fixing symbioses with *Medicago ruthenica* [(L.) Ledebour].» International Journal of Systematic Bacteriology, vol.48, N°1, 1998, pp.13–22.
232. Squartini. A, Struffi. P, Döring. H, Selenska-Pobell. S, Tola. E, Giacobini. A, Vendramin. E, Velázquez E, Mateos. P. F, Martínez-Molina. E, Dazzo. F. B, Casella. S and Nuti. M. P, «*Rhizobium sullae* sp. nov. (formerly '*Rhizobium hedysari*'), the root-nodule microsymbiont of *Hedysarum coronarium* L.» International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 52, N°4, 2002, pp. 1267–76.
233. Martínez-Romero. E, Segovia. L, Mercante. F. M, Franco. A. A, Graham. P and Pardo. M. A, «*Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees.» International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 41, N°3, 1991, pp. 417- 426.
234. De Lajudie. P, Laurent-Fulele. E, Willems. A, Torck. U, Coopman. R, Collins. M. D, Kersters. K, Dreyfus. B, and Gillis. M, «*Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal» International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 48, N°4, 1998, pp. 1277–1290.(a)
235. Young. J. M, Kuykendall. L. D, Martínez-Romero. E, Kerr. A, and Sawada. H, (2001). «A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*» International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 51, N°1, 1998, pp. 89 - 103.
236. Tan. Z. Y, Kan. F. L, Peng. G. X, Wang. E. T, Reinhold-Hurek. B, and Chen W. X, «*Rhizobium yanglingense* sp. nov., isolated from arid and semi-arid regions in China» International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 51, N°3, 2001, pp. 909-914.

237. Ogasawara. M, Suzuki. T, Mutoh. I, Annapurna. K, Arora. N. K, Nishimura. Y, and Maheshwari. D. K, «*Sinorhizobium indiaense* sp. nov. and *Sinorhizobium abri* sp. nov. isolated from tropical legumes, *Sesbania rostrata* and *Abrus precatorius*, respectively» *Symbiosis*, vol. 34, N°1,2003, pp. 53–68.
238. Wang. E. T, Tan. Z. Y, Willems. A, Fernández-López. M, Reinhold-Hurek. B, and Martínez-Romero. E, «*Sinorhizobium morelense* sp. nov., a *Leucaena leucocephala*-associated bacterium that is highly resistant to multiple antibiotics» *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 52, N°5, 2002, pp. 1687-1693.
239. Toledo. I, Lloret L, and Martínez-Romero. E, «*Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp. in Mexico» *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 26, N°1, 2003, pp. 54–64.
240. Nick. G, de Lajudie. P, Eardly. B. D, Suomalainen. S, Paulin. L, Zhang. X. P, Gillis. M and Lindström. K, (1999). «*Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov., isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 49, N°4, 1999, pp. 1359-1368.
241. Scholla. M. H, Moorefield. J. A and Elkan. G. H, «Deoxyribonucleic acid homology between fast-growing soybean nodulating bacteria and other rhizobia», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 34, N°3, 1984, pp. 283-286.
242. Rome. S, Brunel. B, Cleyet-Marel. J.-C, Rome. S, Fernandez. M. P and Normand. P, «*Sinorhizobium medicae* sp. nov., isolated from annual *Medicago* spp», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol.46, N°4, 1996, pp. 972-980.
243. Dangeard. P. A, «*Recherches sur les tubercules radicaux des légumineuses* ». Series 16. Le Botaniste, Paris. 1926.
244. De Lajudie. P, Willems. A, Pot. B, Dewettinck. D, Maestrojuan. G, Neyra. M, Collins. M. D, Dreyfus. B, Kersters. K and Gillis. M, « Polyphasic taxonomy of rhizobia: Emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. nov », *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, pp. 715–733.
245. Chen. W. X, Yan. G. H and Li. J. L, «Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov », *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 38, N°4, 1988, pp. 392-397.
246. Wang. E. T, van Berkum. P, Sui, X. H, Beyene. D, Chen. W. X and Martínez-Romero. E, «Diversity of rhizobia associated with *Amorpha fruticosa* isolated from Chinese soils and description of *Mesorhizobium amorphae* sp. nov», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 49, N°1, 1999, pp. 51-65.

247. Velázquez. E, Igual. J. M, Willems. A, Fernández. M. P, Muñoz. E, Mateos. P. F, Abril. A, Toro. N, Normand. P, Cervantes. E, Gillis. M and Martínez-Molina. E, «*Mesorhizobium chacoense* sp. nov., a novel species that nodulates *Prosopis alba* in the Chaco Arido region (Argentina)», International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 51, N°3, 2001, pp. 1011–1021.
248. Nour. S. M, Fernandez. M. P, Normand. P and Cleyet-Marel. J.C, «*Rhizobium ciceri* sp. nov., consisting of strains that nodulate chickpeas (*Cicer arietinum* L.)», International Journal of Systematic Bacteriology, vol.44, N°3, 1994, pp. 511-522.
249. Jarvis. B. D. W, Van Berkum. P, Chen. W. X, Nour. S. M, Fernandez. M. P, Cleyet-Marel. J. C and Gillis. M, «Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*, and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov», International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 47, N°3, 1997, pp. 895-898.
250. Chen, W. X, Li. G. S, Qi. Y. L, Wang E. T, Yuan. H. L and Li. J. L, «*Rhizobium huakuii* sp. nov. isolated from the root nodules of *Astragalus sinicus* », International Journal of Systematic Bacteriology, vol.41, N°2, 1991, pp. 275–280.
251. Jarvis, B. D. W, Pankhurst. C. E and Patel. J. J, «*Rhizobium loti*, a new species of legume root nodule bacteria», International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 32, N°3, 1982, pp. 378–380.
252. Nour. S. M, Cleyet-Marel. J.C, Normand. P and Fernandez. M. P, «Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov», International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 45, N°4, 1995, pp. 640–648.
253. De Lajudie. P, Willems. A, Nick. G, Moreira. F, Molouba. F, Hoste. B, Torck. U, Neyra. M, Collins. M D, Lindström. K, Dreyfus. B and Gillis. M, «Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarium* sp. nov», International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 48, N°2, 1998, pp. 369-382. (b)
254. Gao. J.L, Turner. S. L, Kan. F. L, Wang. E. T, Tan. Z. Y, Qiu. Y. H, Gu. J, Terefework. Z, Young. J. P. W, Lindström. K and Chen. W. X, «*Mesorhizobium septentrionale* sp. nov. and *Mesorhizobium temperatum* sp. nov., isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China», International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 54, N°6,2004, pp. 2003-2012.
255. Chen. W, Wang. E, Wang. S, Li. Y and Chen. X, «Characteristics of *Rhizobium tianshanense* sp. nov., a moderately and slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, People's Republic of China», International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 45, N°1, 1995, pp. 153–159.
256. Vinuesa. P, Silva. C, Martínez-Romero. E, Werner. D, León-Barrios. M, Jarabo-Lorenzo. A, Pérez-Galdona. R and Willems. A, «*Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae: Genisteeae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. genistearum, *Bradyrhizobium* genospecies

- alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol.55, N°2, 2005, pp. 569-575.
257. Kuykendall. L. D, Gaur. Y. D and Dutta. S. K, «Genetic diversity among *Rhizobium* strains from *Cicer arietinum* L.», *Letters in Applied Microbiology*, vol. 7, N°6, 1993, pp. 259-263.
258. Kirchner. O, «Die Wurzelknöllchen der Sojabohne» *Beiräge zur Biologie der Pflanzen*, N°7, 1896, pp. 213-224.
259. Jordan. D. C, «Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 32, N°1, 1982, pp. 136-139.
260. Xu. L. M, Ge. C, Cui. Z, Li. J and Fan. H, «*Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov., isolated from the root nodules of soybeans», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 45, N°4, 1995, pp. 706-711.
261. Yao. Z. Y, Kan. F. L, Wang. E. T, Wei. G. H and Chen. W. X, «Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov.», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 52, N°6, 2002, pp. 2219-2230.
262. Vandamme. P, Goris. J, Chen. W. M, de Vos. P and Willems. A, «*Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes», *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 25, N°4, 2002, pp. 507-12.
263. Dreyfus. B, Garcia. J. L and Gillis. M, «Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov., sp. nov., a stem-nodulating nitrogenfixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*», *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 38, N°1, 1988, pp. 89–98.
264. De Souza Moreira. F. M, Cruz. L, de Faria. S. M, Marsh. T, Martínez-Romero. E, de Oliveira Pedrosa. F, Pitard. R. M and Young. J. P. W, «*Azorhizobium doebereineriae* sp. nov. microsymbiont of *Sesbania virgata* (Caz.) Pers», *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 29, N°3, 2006, pp. 197–206.
265. Chen. W.M, Laevens. S, Lee. T.M, Coenye. T, De Vos. P, Mergeay. M and Vandamme. P, «*Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 51, N°5, 2001, pp. 1729-1735.
266. Vandamme. P. and Coenye.T, «Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 54, N°6, 2004, pp. 2285-2289.
267. Rivas. R, Willems. A, Subba-Rao. N. S, Mateos. P. F, Dazzo. F. B, Kroppenstedt. R. M, Martínez-Molina. E, Gillis. M and Velázquez E, «Description of *Devosia neptuniae* sp. nov. that nodulates and fixes nitrogen in symbiosis with *Neptunia natans*, an aquatic legume from India», *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 26, N°1, 2003, pp. 47-53.

268. Valverde. A, Velazquez. E, Gutierrez. C, Cervantes. E, Ventosa. A and Igual. J.M, «*Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*.», International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 53, N°6, 2003, pp. 1979-1983.
269. Jourand. P, Giraud. E, Béna. G, Sy. A, Dreyfus. B, de Lajudie. P, Willems. A and Gillis. M, «*Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-noduleforming and nitrogen-fixing bacteria», International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, vol. 54, N°6, 2004, pp. 2269-2273.
270. Trujillo. M. E, Willems. A, Abril. A, Planchuelo. A.M, Rivas. R, Ludena. D, Mateos. P. F, Martinez-Molina. E and Velazquez. E, «Nodulation of *Lupinus albus* by strains of *Ochrobactrum lupine* sp. nov», Applied and Environmental Microbiology, vol. 71, N°3, 2005, pp. 1318-1327.
271. Garcia-Fraile. P, Rivas. R, Willems. A, Peix. A, Martens. M, Martinez-Molina. E, Mateos. P.F, Velazquez. E, «*Rhizobium cellulosilyticum* sp. nov., isolated from sawdust of *Populus alba*» Int J Syst Evol Microbiol N°57, 2007, pp. 844-848.
272. Valverde. A, Igual. J.M, Peix. A, Cervantes. E, Velazquez. E, «*Rhizobium lusitanum* sp. nov. a bacterium that nodulates *Phaseolus vulgaris*». Int J Syst Evol Microbiol N°56, 2006, pp. 2631-2637.
273. Lloret. L, Ormeno-Orrillo. E, Rincon. R, Martinez-Romero. J, Rogel-Hernandez. M.A, Martinez-Romero. E, «*Ensifer mexicanus* sp. nov. a new species nodulating *Acacia angustissima* (Mill.)» Kuntze in Mexico. Syst Appl Microbiol. Vol.30, N°4, June 2007, pp. 280-290.
274. Wang. F. Q, Wang. E.T, Liu. J, Chen. Q, Sui. X.H, Chen. W.F, Chen. W.X, «*Mesorhizobium albiziae* sp. nov., a novel bacterium that nodulates *Albizia kalkora* in a subtropical region of China». Int J Syst Evol Microbiol N°57, 2007, pp. 1192-1199.
275. Ghosh.W and Roy.P, «*Mesorhizobium thiogangneticum* sp. nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph from rhizosphere soil of an Indian tropical leguminous plant». Int. J. Syst. Evol. Microbiol , N°56, 2006, pp. 91-97.
276. Chen. W.M, De Faria. S.M, James. E.K, Elliott. G.N, Lin. K.Y, Chou. J.H, Sheu. S.Y, Cnockaert. M, Sprent. J.I and Vandamme. P, «*Burkholderia nodosa* sp. nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*». Int. J. Syst. Evol. Microbiol, N°57, 2007, pp.1055-1059.
277. Chen. W.M, James. E.K, Coenye. T, Chou. J.H, Barrios. E, De Faria. S.M, Elliott. G.N, Sheu. S.Y, Sprent. J.I and Vandamme. P, «*Burkholderia mimosarum* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* spp. from Taiwan and South America». Int. J. Syst. Evol. Microbiol., N°56, 2006, pp.1847-1851.
278. Zurdo-Pineiro. J.L, Rivas. R, Trujillo. M.E, Vizcaino. N, Carrasco. J.A, Chamber. M, Palomares. A, Mateos. P.F, Martinez-Molina. E, Velazquez. E, «*Ochrobactrum cytisi* sp. nov., isolated from nodules of *Cytisus scoparius* in Spain» Int J Syst Evol Microbiol N°57, 2007, pp. 784-788.

279. Vitousek. P. M, Aber. J. D, Howarth. R. W, Likens. G. E, Matson. P. A, Schindler D. W. Schlesinger. W. H and Tilman. D. G, 1997. «Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences». *Ecol. Appl.* N°7, 1997, pp. 737-750.
280. Perret. X, Staehelin. C and Broughton. W. J, «Molecular basis of symbiotic promiscuity». *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* N°64, 2000, pp. 180-201.
281. Verma. D. P. S and Long. S, «The molecular biology of *Rhizobium* legume symbiosis». *Int. Rev. Cytol.* N°14, 1983, pp. 211-245.
282. Rolfe. B. G and Gresshoff. P. M, «Genetic analysis of legume nodule initiation». *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* N°39, 1988, pp. 297–319.
283. Long. S. R., «*Rhizobium*-legume nodulation: life together in the underground». *Cell* N°56, 1989, pp. 203-214.
284. Fisher. R. F and Long. S. R, «*Rhizobium*-plant signal exchange». *Nature* N°357, 1992, pp. 655-660.
285. Long. S.R, «*Rhizobium* symbiosis: nod factors in perspective». *Plant Cell.* 1996 October; vol. 8, N°10, 1996, pp. 1885-1898.
286. Brewin. N. J, «Development of the legume root nodule». *Annu. Rev. Cell Biol.* N°7, 1991, pp.191-226.
287. Gage. D.J, «Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes». *Microbiology and molecular biology reviews*, June 2004, pp. 280-300.
288. Hoveland. C.S, «Understanding legume crops.. Volunteers in technical assistance». Virginia,USA. Technical paper n°38, 1985.
289. Cassab. G.I, «Plant cell wall proteins». *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* N°49, 1998, pp. 281-309.
290. Cosgrove. D.J, Li. L. C, Cho. H.T, Hoffmann-Benning. S, Moore. R.C and Blecker. D, «The growing world of expansins». *Plant Cell Physiol.* N°43, 2002, pp. 1436–1444.
291. Lerouge. P, Roche. P, Faucher. C, Maillet. F, Truchet. G, Promé. J.C, Dénarié. J, «Symbiotic host-specificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal». *Nature*; N°344, 1990, pp. 781-784.
292. Freiberg. C, Fellay. R, Bairoch. A, Broughton. W. J, Rosenthal. A and Perret. X, «Molecular basis of symbiosis between *Rhizobium* and legumes». *Nature* N°387, 1997, pp. 394-401.
293. Mylona. P, Pawlowski. K and Bisseling. T, «Symbiotic nitrogen fixation». *Plant Cell* N°7, 1995, pp. 869–885.
294. Djordjevic. M.A, Zurkowski. W and Rolfe. B.G, «Plasmids and stability of symbiotic properties of *Rhizobium trifolii*». *J. Bacteriol.* N°151, 1982, pp. 560-8.

295. Henikoff. S, Haughn. G.W, Calvo. J.M, Wallace. J.C, «A large family of bacterial activator proteins». Proc Natl Acad Sci USA N°85, 1988, pp. 6602-6606.
296. Goethals. K, Van Montagu. M and Holsters. M, «Conserved motifs in a divergent *nod* box of *Azorhizobium caulinodans* ors571 reveal a common structure in promoters regulated by LysR-type proteins». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°89, 1992, pp.1646–1650.
297. Mulligan. J. T and Long. S.R, «Induction of *Rhizobium meliloti nodC* expression by plant exudate requires *nodD*». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°82, 1985, pp. 6609-6613.
298. Spaink. H. P, Wijffelman. C. A, Pees. E., Okker. R. J. H and Lugtenberg. B. J. J, «*Rhizobium* nodulation gene *nodD* as a determinant of host specificity». Nature N°328, 1987, pp. 337-340
299. Zaat. S. A, Wijffelman. C. A, Spaink. H. P, van Brussel. A. A, Okker. R. J and Lugtenberg. B. J, «Induction of the *nodA* promoter of *Rhizobium leguminosarum* Sym plasmid pRL1JI by plant flavanones and flavones». J. Bacteriol. N°169, 1987, pp. 198-204.
300. Györgypal. Z, Kiss. G. B and Kondorosi. A, «Transduction of plant signal molecules by the *Rhizobium* NodD proteins». Bioessays N°13, 1991, pp. 575-581.
301. Schlaman. H. R, Okker. R. J and Lugtenberg. B. J. J, «Regulation of nodulation gene expression by NodD in rhizobia». J. Bacteriol. N°174, 1992, pp. 5177–5182.
302. Fisher. R. F and Long. S. R, «Interactions of NodD at the *nod* box:NodD binds to two distinct sites on the same face of the helix and induces a bend in the DNA». J. Mol. Biol. N°233, 1993, pp. 336-348.
303. Geurts. R, and Franssen. H, «Signal Transduction in *Rhizobium*-Induced Nodule Formation». Plant Physiol. N° 112, 1996, pp. 447-453.
304. Carlson. R. W, Price. N. P and Stacey. G, «The biosynthesis of rhizobial lipo-oligosaccharide nodulation signal molecule». Mol. Plant-Microbe Interact. N°7, 1994, pp. 684-95.
305. Hirsch. A. M, Lum, M. R and Downie, J. A, «What makes the rhizobia-legume symbiosis so special?» Plant Physiol. N°127, 2001, pp. 1484-1492.
306. Roche. P, Debellé. F, Maillet. F, Lerouge. P, Faucher. C, Truchet. G and Dénarié J, «Molecular basis of symbiotic host specificity in *Rhizobium meliloti*: *nodH* and *nodPQ* genes encode the sulfation of lipo-oligosaccharide signals». Cell N°67, 1991, pp. 1131-143.
307. Fisher. R. F and Long. S. R, «*Rhizobium*-plant signal exchange». Nature N°357, 1992, pp. 655-660.
308. Schultze. M, Staehelin. C, Röhrig. H, John. M, Schmidt. J, Kondorosi. E, Schell. J and Kondorosi. A, «*In vitro* sulfotransferase activity of *Rhizobium meliloti* NodH protein: lipochitooligosaccharide nodulation signals are sulfated

- after synthesis of the core structure». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°92, 1995, pp. 2706-2709.
309. Spaink. H.P, Sheeley. D.M, Van Brussel. A.A.N, Glushka. J, York. W.S, Tak. T, Geiger. O, Kennedy. E.P, Reinhold. V.N, Lugtenberg. B.J.J, «A novel highly unsaturated fatty acid moiety of lipooligosaccharide signals determines host specificity of *Rhizobium*». Nature N° 354, 1991, pp. 125-130.
310. Price. N.P.J, Rellc. E, Talmont. F, Lewln. A, Promb. D, Pueppke. S.G, Mallet. F, Dbnarlb. J, Promb. J.C and Broughton. W.J, «Broad-host-range *Rhizobium* species strain NGR234 secretes a family of carbamoylated, and fucosylated, nodulation signals that are O-acetylated or sulphated». MOI. Microbiol. N°6, 1992, pp. 3575-3584.
311. Sanjuan. J, Carlson. R.W, Spaink. H.P., Bhat. R, Mark Barbour. W, Glushka. J and Stacey. J, «A 2-O-methylfucose moiety is present in the lipopolysaccharide nodulation signal of *Bradyrhizobium japonicum*». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°89, 1992, pp. 8789-8793.
312. Schultze. M, Quiclet-Sire. B, Kondorosi. E, Virelizier. H, Glushka. J.N, Endre. G, Gero. S.D and Kondorosi. A, «*Rhizobium meliloti* produces a family of sulfated lipo-oligosaccharides exhibiting different degrees of plant host specificity». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°89, 1992, pp. 192-196.
313. Mergaert. P, van Montagu. M, Promb. J.C and Holsters. M, «Three unusual modifications, a D-arabinosyl, an N-methyl, and a carbomoyl group are present on Nod factors of *Azorhizobium caulinodans* strain ORS571». Pm. Natl. Acad. Sci. USA90,1993, pp.1551-1555.
314. Heidstra. R, Geurts. R, Franssen. H, Spalnk. H.P, van Kammen. A and Blsaellng. T, «Root hair deformation activityof nodulation factors and their fate on *Vicia sativa*». Plant Physiol. 1994, pp. 105,787.
315. Schultze. M and Kondorosi. A, 1998. «Regulation of symbiotic root nodule development». Annu. Rev. Genet. 32:33–57.
316. Djordjevic. M.A, «*Sinorhizobium meliloti* metabolism in the root nodule: a proteomic perspective». *Proteomics*. N°4, 2004, pp.1859-1872.
317. De Ruijter. N. C. A, Rook. M. B, Bisseling. T and Emons. A. M. C, «Lipo-chito-oligosaccharides re-initiate root hair tip growth in *Vicia sativa* with high calcium and spectrin-like antigen at the tip». Plant J. N°13, 1998, pp. 341-350.
318. Sieberer. B and Emons. A. M. C, 2000.«Cytoarchitecture and pattern of cytoplasmic streaming in root hairs of *Medicago truncatula* during development and deformation by nodulation factors». Protoplasma N°214, 2000, pp. 118-127.
319. Skorupska. A.M, Janczarek. M, Marczak. M, Mazur. A and Krol. J.E, «Rhizobial exopolysaccharides: genetic control and symbiotic functions». Micro Cell Fact vol.5,N°17, 2006.
320. Brencic. A, Winans. S.C, «Detection of and Response to Signals Involved in Host-Microbe Interactions by Plant-Associated Bacteria». Microbiology and molecular biology reviews. 2005, pp. 155-194.

321. Zhan. H. J, Lee. C. C and Leigh. J. A, «Induction of the second exopolysaccharide (EPS_b) in *Rhizobium meliloti* SU47 by low phosphate concentrations». J. Bacteriol. N°173, 1991, pp. 7391-7394.
322. Mendrygal. K. E and Gonzalez. J. E, 2000. «Environmental regulation of exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*» J. Bacteriol. N°182, 2000, pp. 599-606.
323. Becker. A and Puhler. A, «Production of exopolysaccharides». In H. P. Spaink, A. Kondorosi, and P. J. J. Hooykaas (ed.), «The *Rhizobiaceae*» Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1998, pp. 97-118.
324. Fraysse. N, Couderc. F and Poinot. V, «Surface polysaccharide involvement in establishing the rhizobium-legume symbiosis». Eur. J. Biochem. N°270, 2003, pp. 1365-1380.
325. Skorupska. A, Bialek. U, Urbaniksygniewska. T and van Lammeren. A, «Two types of nodules induced on *Trifolium pratense* by mutants of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* deficient in exopolysaccharide production». J. Plant Physiol. N°147, 1995, pp.93-100.
326. Rolfe. B.G, Carlson. R.W, Ridge. R. W, Dazzo. F.B, Mateos. P.F and Pankhurst. C.E, «Defective infection and nodulation of clovers by exopolysaccharide mutants of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii*» Aust. J. Plant Physiol. N°23, 1996, pp. 285-303.
327. Pellock. B.J, Cheng. H.P and Walker. G.C, «Alfalfa root nodule invasion efficiency is dependent on *Sinorhizobium meliloti* polysaccharides». J. Bacteriol. N°182, 2000, pp. 4310-4318.
328. Neilson. K.H, Platt. T and Hastings. J.W, «Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system». J. Bacteriol. N°104, 1970, pp. 313–322.
329. Juhas, M, Eberl. L, Tümmler. B, «Quorum sensing: the power of cooperation in the world of *Pseudomonas*». Environmental Microbiology vol.7,N°4, 2005, pp. 459-471.
330. Fuqua. W.C, Winans. S.C and Greenberg. E.P, «Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators». J. Bacteriol. N°176, 1994, pp. 269-275.
331. Swift, S, Throup. J.P, Williams. P, Salmond. G.P and Stewart. G.S, «Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype». Trends Biochem. Sci. N°21, 1996, pp. 214-219.
332. Gray. K.M, «Intercellular communication and group behavior in bacteria». Trends Microbiol. N°5, 1997, pp.184-188.
333. Parsek. M.R and Greenberg. E.P, « Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms». Proc. Natl. Acad. Sci. USA N°97, 2000, pp. 8789- 8793.
334. Fuqua. C, Parsek. M.R and Greenberg. E.P, «Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing». Annu. Rev. Genet. N°35, 2001, pp. 439-468.

335. Whitehead. N.A, Barnard. A.M, Slater. H, Simpson. N.J and Salmond. G. P, «Quorum-sensing in Gram-negative bacteria». FEMS Microbiol. Rev. N°25, 2001, pp. 365-404.
336. Withers. H, Swift. S and Williams. P, «Quorum sensing as an integral component of gene regulatory networks in Gram-negative bacteria». Curr. Opin. Microbiol. N°4, 2001, pp. 186-193.
337. Bassler. B.L, «Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria». Cell N°109, 2002, pp. 421-424.
338. Salmond. G.P, Bycroft. B.W, Stewart. G.S and Williams. P, «The bacterial "enigma": cracking the code of cell-cell communication». Mol. Microbiol. N°16, 1995, pp. 615-624.
339. Fuqua. C and Greenberg. E. P, «Self perception in bacteria: quorum sensing with acylated homoserine lactones». Curr. Opin. Microbiol. N°1, 1998, pp.183-189.
340. Gonzalez. J.E, Marketon. M.M, «Quorum Sensing in Nitrogen-Fixing Rhizobia». Microbiology and molecular biology reviews, Vol. 67, N°4, Decembre 2003, pp. 574-592,
341. Leadbetter. J.R, Greengerg. E.P,. «Metabolism of Acyl-Homoserine Lactone Quorum-Sensing Signals by *Variovorax paradoxus*». Jjournal of bacteriology, Decembre 2000, pp. 6921-6926.
342. Hardman. A. M, Stewart. G. S and Williams. P, «Quorum sensing and the cell-cell communication dependent regulation of gene expression in pathogenic and non-pathogenic bacteria». Antonie Leeuwenhoek N°74, 1998, pp.199- 210.
343. March. J. C and Bentley. W.E, «Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology». Curr. Opin. Biotechnol. N°15, 2004, pp. 495-502.
344. Redfield. R. J, «Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing?». Trends Microbiol. N°10, 2002, pp. 365-370.
345. Wang. Y. J, Leadbetter. J.R, 2005. «Rapid Acyl-Homoserine Lactone Quorum Signal Biodegradation in Diverse Soils». Applied and environmental microbiology, Mars 2005, pp. 1291-1299.
346. Fonseca. M.C.C, «Diversidade de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA)», Seropédica - RJ,. (PhD. Thesis. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro). 2003. pp.136.
347. Fonseca. M.C.C, Rumjanek. N.G, Xavier. G.R, «Quorum sensing: uma nova interpretação da incidência e controle de doenças de plantas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia». (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 170). 2004, p 37.
348. Hamdan. H, Weller. D.M and Thomashow. L. S, «Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4- 80R». Appl. Environ. Microbiol. N°57, 1991, pp. 3270- 3277.

349. Mazzola. M, Cook. J, Thomashow. L.S, Weller. D.M, Pierson III. L.S, «Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habits». *Appl. Environ. Microbiol*, vol.58, N°8, 1992, pp. 2616-2624.
350. Wood. D. W, Gong. F, Daykin. M.M, Williams. P and Pierson III. L. S, «N-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aureofaciens* 30–84 in the wheat rhizosphere». *J. Bacteriol.* N°, 179, 1997, pp.7663-7670.
351. Chin-A-Woeng. T.F.C, Bloemberg. G.V, Lugtenberg. J.J, «Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria», *New phytologist*, N°157, 2003, pp. 503-523.
352. Cubo. M. T, Economou. A, Murphy. G, Johnston. A. W and Downie. J. A, «Molecular characterization and regulation of the rhizosphere-expressed genes *rhiABCR* that can influence nodulation by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*». *J. Bacteriol.* N°174, 192, pp. 4026-4035.
353. Daniels. R, De Vos. D. E, Desair. J, Raedschelders. G, Luyten. E, Rosemeyer. V, Verreth. C, Schoeters. E, Vanderleyden. J and Michiels. J, «The *cin* quorum sensing locus of *Rhizobium etli* CNPAF512 affects growth and symbiotic nitrogen fixation». *J. Biol. Chem.* N°277, 2002, pp. 462-468.
354. Loh. J and Stacey. G, «Nodulation Gene Regulation in *Bradyrhizobium japonicum*: a unique integration of global regulatory circuits». *Appl. Environ. Microbiol.* N°69, 2003, pp.10-17.
355. Marketon. M.M, Glenn. S.A, Eberhard. A and Gonzalez. J.E, «Quorum sensing controls exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*». *J. Bacteriol.* N°185, 2003, pp. 325-331.
356. Bassler. B. L, «How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing». *Curr. Opin. Microbiol.* N°2, 1999, pp. 582-587.
357. Benzina. F, «Isolement et identification taxinomique des *Pseudomonas* spp fluorescents à partir de rhizosphère du palmier dattier et mise en évidence de leurs activités antagonistes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* ». Thèse Ing Ines Agro Blida. 2001, 77p.
358. Keel. C, Schneider. U, Maurhofer. M, Voisard. C, Laville. J, Burger. U, Wirthmer. Haas. D and Défago. G, «Suppression of root disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the Bacterial secondary metabolite 2,4- diacetylphloroglucinol». *Mol. Pant. Microbe Interact.* N°5, 1992, pp. 4-13.
359. Youard. Z.A, Mislin. G.L.A, Majcherczyk. P.A, Schalk. I.A, Reimmann. C, «*Pseudomonas fluorescens* CHAO Produces Enantio-pyochelin, the Optical Antipode of the *Pseudomonas aeruginosa* Siderophore Pyochelin», *J. Biol. Chem.*, Vol. 282, N° 49, December 2007, pp.35546-35553.
360. King. E.O, Wark. M.K and Raney.D.E, «Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein». *Journal of Laboratory and chemical medicine* N°44, 1954, pp. 301-307.

361. Latour. X, Corberand.T, Laguerre. G, Allard. F, Lemanceau. P, «The composition of fluorescent Pseudomonads associated with roots is influenced by plant soil type». Applied and environmental microbiology, Vol.62,N°7, 1996, pp.2449-2456.
362. Dagenelie. P, «Théories et méthodes statistiques. Les méthodes de l'interférence statistique». Les presses agronomiques de Gem blouse.1975, pp. 463.
363. Grainger. J, «microbes in the environnement, isolation of rhizobium, a nirtogen-fixing bacterium. Society for general microbiology».Janet Hurst,SGM, Marlborough House, Basingstoke Road, Spencers Wood, Reading RG7 1 AG.2002
364. Berraho. E, «caracterisation des souches de *Rhizobium* du pois chiche(*Cicer arietinum* L.) isolées de différents sols du Maroc». Thèse ingénieur. Faculté des sciences Rabat. 1984, pp. 75.
365. Vincent. J. M.,. «*Rhizobium*: General Microbiology. In Section III: A Treatise on Dinitrogen Fixation». R. W. F. Hardy and W. S. Silver (eds.). John Wiley and Sons, Inc., New York. 1977.
366. Jordan. D.C, «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology». Krieg NR, Holt JG (Eds.), (Williams and Wilkins, Baltimore), 1984, pp234.
367. Prescott. L.M, Harley.J.P, Donald.A.K, « microbiologie », edition de boeck université, 2003, pp.1164.
368. Kjeldahl. J, «A new method for the determination of nitrogen in organic matter». Zeitschreft fur Analytische Chemie. N°22, 1883, pp. 366.
369. Selosse. M.A, Baudoin. E, Vandenkoornhuysse. P, 2004. «Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants». Biologie et pathologie végétales C. R. Biologies N°327, 2004, pp. 639-648.
370. Esashi. Y, «Ethylene and seed germination».. In A.K Matoo and J.C. Suttle (ed.) The plant hormone ethylene. CRC Press, Boca Raton, FL. 1991, pp. 133-157.
371. Digat. B, «Modes d'actions et effets des rhizobacteries promotrices de la croissance et du développement des plantes» . 24eme colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux. Edit. INRA publ.. Coll. INRA, N°18, 1983, pp. 239-253.
372. Digat. B et Gardan. L, «Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *putida*». Bull . OEPP/ EPPO, N°17, 1987, pp. 559-568.
373. Digat. B, « Contrôle biologique et stimulation de la germination par la bactérisation phyto-défense des végétaux ». N°441, 1992, pp. 34-38.
374. Digat. B, « les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : le cas des *Pseudomonas*. The plant growth promoting rhizobacteria. An example with *Pseudomonas*». C.R. Acad. Agric. Fr. Vol.80 N°2, 1994, pp.125-140.
375. Bakker. P.H.M.A, Weisbeek. P.J, Shippers. B, «the role of siderophore in plant growth stimulation by fluorescent *Pseudomonas* spp». Meded. Fa.Landbouwn. Rijksuniv. Gent N°51, 1986, pp. 1375-1362. (b).

376. Domey. S. Lippmann. G, «Stimulation of plant growth by phosphate solubilizing bacteria. Dans Interrelationships between microorganisms and plants in soil». Éditeurs: V. Vancura et F. Kunc. Dev. Soil. Sci. N°18, 1989, pp. 457-461.
377. Chabot. R, Antoun. H, Cescas. M. P, «Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique». Can. J. Microbiol. N°39, 1993, pp. 941 - 947.
378. Von Wiren. N, Marschner. H and Römheld. V. «Uptake kinetics of iron-phytosiderophores in two maize genotypes differing in iron efficiency». *Physiol Plant* ; N°93, 1995, pp. 611-616.
379. Ma. J and Nomoto. K, «Effective regulation of iron acquisition in graminaceous plants. The role of mugineic acids as phytosiderophores». *Physiol Plant*, N°97, 1996, pp. 609-17.
380. Duijff. B.J, De Kogel. W.J, Bakker. P.A.H.M, Schippers. B, «Influence of pseudobactin 358 on the iron nutrition of barley». *Soil Biol Biochem* N°26, 1994, pp. 1681-1688. (b)
381. Van Loon. L.C, Bakker. P.A.H.M, «Signalling in Rhizobacteria-Plant Interactions». *Ecological Studies*, Vol. 168 H. de Kroon, E.J.W. Visser (Eds.) *Root Ecology*. 2003, pp. 297-330.
382. Lifshitz. R, Simonson. C, Scher. F.M, Kloepper. J.W, Rodrick-Semple. C and Zaleska. I, «effect of rhizobacteria on the severity of phytophthora root rot of soybean». *Can. J. Plant Pathol.* N°8, 1986, pp. 102-106.
383. Joo. G.J, Kim. Y.M, Kim. J.T, Rhee. I.K, Kim. J.H and Lee. I.J, «Gibberellins-Producing Rhizobacteria Increase Endogenous Gibberellins Content and Promote Growth of Red Peppers». *The Journal of Microbiology*, December 2005, pp.510-515.
384. Jackson. R.M, Brown. M.E, Burlingham. S.K, «Similar effects on tomato plants of *Azotobacter* inoculation and application of gibberellins». *Nature* N°203, 1964, pp. 851-852.
385. Ecklund. E, «Secondary effects of *Pseudomonas* in the rhizoplane of pea grown cucumber plants». *Acta Agric Scand suppl* N°17, 1970, pp. 15-57.
386. Brown. M.E, «Seed and root bacterization». *Annu Rev Phytopathol* N°12, 1974, pp. 181- 197.
387. Hinsinger. P, «Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review». *Plant and soil.* N°237, 2001, pp. 173-195.
388. Singh. C. P, Amberger. A, «Organic acids and phosphorus solubilization in straw composted with rock phosphate». *Biorource Technology.* N°68, 1998, pp. 13-16.
389. Pierson. L.S, Weller. D.M, «Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat». *Phytopathology*, N°84, 1994, pp. 940-947.
390. Young. S, Pharis. R.P, Reid. D, Reddy. M.S, Lifshitz. R and Brown. G, «PGPR: is there a relationship between plant growth regulators and the

- stimulation of plant growth or biological activity». In «plant growth promoting rhizobacteria». Progress and prospects. (Keel, C., Koller, B., and Défago, G. eds), IOB/WPRS Bulletin XIV / N°8, 1991, pp. 182-186.
391. Di Battista-Leboeuf. C, Benzili. E, Corbel. G, Puitti. S and Guckert. A, 2003. «Distribution of *Pseudomonas* sp. populations in relation to maize root location and growth stage». *Agronomie* N°23, 2003, pp. 441–446.
392. Latour. X, Delorme. S, Mirleau. P, Lemanceau. P, «Identification of traits implicated in the rhizosphere competence of fluorescent pseudomonads: description of a strategy based on population and model studies». *Agronomie* 2003, pp.1-9.
393. Davet. P, « Vie microbienne du sol et production végétale » INRA, Paris 1996, pp.384.
394. Loper. J.E, Haak. C, Schroth. M.N, «Population dynamics of soil Pseudomonads in the rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum* L)». *Appl Environ Microbiol* N°49, 1985, pp. 416-422.
395. Scher. F.M, Leigle. J.S, Kloepper. W, «a Methode for assessing the root colonizing capacity of bacteria on maize». *Can.J.Microbiol.*N°44, 1984, pp.156-161.
396. Chin-A-Woeng. T.F, Bloemberg. G.V, Mulders. I.H, Dekkers. L.C and Lugtenberg, B. J, «Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot». *Mol Plant Microbe Interact.* N°13, 2000, pp.1340-1345.
397. Benizri . E, Dedourage. O, Di Batista-Leboeuf. C, Nguyen. C.S, Guckert. A, «Effect of maize rhizodeposits on soil microbial community structure». *Applied Soil Ecology*, N°21, 2002, pp. 261-265.
398. Rainey. P.B, «Adaptation of *Pseudomonas fluorescens* to the plant rhizosphere», *Environ. Microbiol.* N°1, 1999, pp. 243–257.
399. De Weger. L.A, Bakker P.A.H.M, Schippers. B, van Loosdrecht. M.C.M and Lugtenberg. B, 1989. «*Pseudomonas* spp. with mutational changes in the O-antigenic side chain of their lipopolysaccharides are affected in their ability to colonize potato roots» In B. J. J. Lugtenberg (ed.), «Signal molecules in plant-microbe interactions». Springer-Verlag, Berlin, Germany. 1989, pp.197-202
400. Howie. W.J, Cook. R.J, Weller. D.M, «Effects of soil matric potential and cell mobility on wheat root colonisation by fluorescent pseudomonads suppressive to take-all». *Phytopathology* N°77, 1987, pp.286-292.
401. Bolton. H.J, Elliott. L.F, Turko. R.F and Kennedy. A.C, «Rhizosphere colonization of pea seedling by *Rhizobium leguminosarum* and deleterious root colonizing *Pseudomonas* sp. And effect on plant growth». *Plant and Soil* N°12, 1990, pp. 121-124.
402. Deylo. M and Skorupska. A, «Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin secreted by fluorescent *Pseudomonas*». *Plant and Soil* N°154, 1993, pp. 211-217.

403. Nishijima. F, Evan. W.R and Vasper. S.J, 1988. «Enhancement nodulation of soybean by *Bradyrhizobium* in the presence of *Pseudomonas fluorescens*». Plant and Soil, N°111, 1988, pp. 149- 150.
404. Zhang. F, Dashti. N, Hynes. R.K and Smith. D.L, «Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Nodulation and Nitrogen Fixation at Suboptimal Root Zone Temperatures». Annals of Botany N°77, 1996, pp. 453-459.
405. Dubey. S.K, «Combined effect of *Bradyrhizobium japonicum* and phosphate solubilizing *Pseudomonas striata* on nodulation, yield attributes and yield of rainfed soybean (*Glycine max*) under different sources of phosphorus in vertisols». Ind. J. Agric. Sci. N°66, 1996, pp. 28-32.
406. Derylo. M and Skorupska. A, «Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent pseudomonas». Plant Soil N°154, 1993, pp.211-217.
407. Streit. W.R and Phillips. D.A, «Recombinant *Rhizobium meliloti* strains with extra biotin synthesis capability». Appl. Environ. Microbiol. N°62, 1996, pp. 3333-3338.
408. Holt. J.G, Krieg. N.R, Sneath. P.H.A, Staley. J.T and Williams. S.T, «Bergey's manual of determinative bacteriology». 9th ed. Wilwinaliams & Wilkins, Baltimore, MD. 1994.
409. Cattelan. A. J, Hartel. P.G, Fuhrmann. J.J, «Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth Soil» Sci. Soc. Am. J. N°63, 1999, pp. 1670-1680.
410. Okon. Y, Vanderleyden. J, «Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants». ASM News N°63, 1997, pp. 366-370.
411. Bertrand. H, Plassard. C, Pinochet. X, Touraine. B, Normand. P, Cleyet-Marel. J.C, «Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growth-promoting rhizobacterium (*Achromobacter* sp.)». Canadian Journal of Microbiology N°46, 2000, pp. 229-236.
412. Okon. Y, «*Azospirillum* as a potential inoculant for agriculture». Trends in Biotechnology N°3, 1985, pp. 223-228.
413. Okon. Y and Kapulnik. Y, «Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots». Plant and Soil N°90, 1986, pp. 3-16.
414. Bakker. A.W and Schippers. B, «Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp. mediated plant growth-stimulation», Soil Biol. Bio chem. N°19, 1987, pp.451-457.
415. Alström. S and Burns. R.G, «Cyanide production by rhizobacteria as a possible mechanism of plant growth inhibition», Biol. Fertil. Soils N°7, 1989, pp. 232-238.
416. Polonenko. D.R, Scher. F.M, Kloepper. J.W, Singleton. C.A, Laliberte. M, Zaleska. I, «Effects of root colonizing bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*», Canadian Journal of Microbiology N°33, 1987, pp. 498-503.

417. Fuhrmann. J, Wollum. A.G, «Nodulation competition among Bradyrhizobium japonicum strains as influenced by rhizosphere bacteria and iron availability», *Biology and Fertility of Soils* N°7, 1989, pp.108-112.
418. Andrade. G, Mihara. K.L, Linderman. R.G, Bethlenfalvay. G.J, «Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere», *Plant and Soil* N°202, 1998, pp. 89-96.
419. Lucas-Garcia. J.A, Probanza. A, Ramos. B, Colon-Flores. J.J, Gutierrez-Manero. F.J. 2004. «Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) on the biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Lupinus albus* L. cv. Multolupa», *Engineering Life Sciences* N°4, 2004, pp 71-77.
420. Chebotar. V.K, Asis. C.A, Akao. S, «Production of growthpromoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*», *Biology and Fertility of Soils* N°34, 2001, pp. 427-432.
421. Okazaki. S, Nukui. N, Sugawara. M and Minamisawa. K, «Rhizobial strategies to enhance symbiotic interactions: Rhizobitoxine and 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate deaminase», *Microbes environ.* Vol.19, N°2, 2004, pp. 99-111.
422. Xie. Z.P, Staehelin. C, Wiemken. A, and Boller. T, «Ethylene responsiveness of soybean cultivars characterized by leaf senescence, chitinase induction and nodulation», *J. Plant Physiol.* N°149, 1996, pp. 690-694.
423. Grobbelaar. N, Clarke. B and Hough. M.C, «The nodulation and nitrogen fixation of isolated roots of *Phaseolus vulgaris* L. III. The effect of carbon dioxide and ethylene», *Plant Soil (Special volume)*, 1971, pp. 215-223.
424. Goodlass. G and Smith. K.A, «Effects of ethylene on root extension and nodulation of pea (*Pisum sativum* L) and White clover (*Trifolium repens* L.)», *Plant Soil* N°51, 1979, pp. 387-395.
425. Lee. K.H and LaRue. T.A, «Ethylene as a possible mediator of light- and nitrate-induced inhibition of nodulation of *Pisum sativum* L. cv Sparkle», *Plant physiol.* N°100, 1992, pp. 1334-1338.
426. Glick. B.R, Jacobson. C.B and Schwarze. M.M.K, «1- Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida*GR12-2 do not stimulate canola root longation», *Can.J.Microbiol.*N°40, 1994, pp. 911-915.
427. Glick. B.R, Karaturovic. D.M and Newell. P.C, «A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting Pseudomonads», *Can.J.Microbiol.*N°40, 1995, pp. 533-536.
428. Shah. S, Li. J, Maffatt. B.A and Glick. B.R, «Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth promoting bacteria», *Can.J.Microbiol.*N°44, 1998, pp. 833-843.
429. Barea, J.M. Pozo. M.J, Azcon. R and Azcon-Aguilar. C, «Microbial co-operation in the rhizosphere». *Journal of Experimental Botany*, vol. 56,N°417, 2005, pp. 1761-1778.
430. Toro. M, Azcon. R and Barea. J.M, «The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of *Rhizobium* genotype, mycorrhizal fungi,

- phosphate-solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*», *New Phytologist* N°138, 1998, pp. 265-273.
431. Dilworth. M. J, Howieson. J. G, Reeve. W. G, Tiwari, R. P., and Glenn. A. R. «Acid tolerance in root nodule bacteria and selecting for it» *Aust. J. Exp. Agric.*, N°41, 2001, pp. 435-446.
432. Graham. P. H, «Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions». *Can. J. Microbiol.*, N°38, 1992, pp. 475-484.
433. Howieson. J, and Ballard. R. «Optimizing the legume symbiosis in stressful and competitive environments within southern Australia - some contemporary thoughts». *Soil Biol. Biochem.*, N°36, 2004, pp.1261-1273.
434. Slattery. J. F, Coventry. D. R, and Slattery W. J, «Rhizobial ecology as affected by the soil environment» *Aust. J. Exp. Agric.*, N°41, 2001, pp. 289-298.
435. Slattery. J. F, Pearce. D. J, and Slattery W. J, « Effects of resident rhizobial communities and soil type on the effective nodulation of pulse legumes». *Soil Biol. Biochem.*, N°36, 2004, pp.1339-1346.
436. Dilworth. M. J, James.E.K, Sprent.J.I, and Newton,W.E, «Nitrogen fixing leguminous symbioses», Springer edition, Vol.7, 2008, pp. 402.
437. Bordeleau. L. M, and Prevost. D, «Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments» *Plant Soil*, N°161, 1994. pp.115-125.
438. Eaglesham, A. R. J, and Ayanaba. A, «Tropical stress ecology of rhizobia, root nodulation and legume fixation». In N. S. Subba Rao (Ed.), *Current developments in biological nitrogen fixation* (1984) (pp. 1-35). London, UK: Edward Arnold Publishers.
439. Prevost, D., Drouin, P., Laberge, S., Bertrand, A., Cloutier, J., and Levesque, G. Cold-adapted rhizobia for nitrogen fixation in temperate regions. *Can. J. Bot.*, N°81, 2003, pp.1153-1161.
440. Dakora. F. D, and Phillips. D. A. «Root exudates as mediators of mineral acquisition in lownutrient environments. *Plant Soil*, N°245, 2002, pp.35-47.
441. Hirsch. P. R, Jones. M. J, McGrath. S. P and Giller. K. «Heavy metals from past applications of sewage sludge decrease the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* populations», *Soil Biol. Biochem.*, N°25, 1993, pp.1485-1490.
442. O'Hara, G. W, «Nutritional constraints on root nodule bacteria affecting symbiotic nitrogen fixation: A review». *Aust. J. Exp. Agric.*, N°41, 2001, pp.417-433.
443. El Sheikh. E. A. E, «Effects of salt on rhizobia and bradyrhizobia: A review», *Ann. Appl. Biol.*, N°132, 1998, pp. 507-524.
444. Miller. K. J. and Wood. J. M, «Osmoadaptation by rhizosphere bacteria», *Annu. Rev. Microbiol.*, N°50, 1996, pp.101-136.

445. Zahran, H. H, «*Rhizobium* legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate». Microbiol. Mol. Biol. Rev., N°63,1999, pp. 968-989.
446. Zhang. F, Lynch. D.H and Smith. D.L, «Low root temperature and nodulation, nitrogen fixation, photosynthesis and growth by soybean [*Glycine max* (L.)», Merr.]. Environmental and Experimental Botany N°35, 1995, pp. 279-285.
447. Vesper. J.S, «Production of Pili (Fimbriae) by *Pseudomonas fluorescens* and Correlation with Attachment to Corn Roots», Appl Environ Microbiol. 1987 July; vol.53, N°7, 1987, pp. 1397-1405.
448. Simons. M, van der Bij. A.J, Brand. J, de Weger. L.A, Wijffelman. C.A and Lugtenberg. B.J.J, «Gnotobiotic system for studying rhizosphere colonization by plant growth-promoting *Pseudomonas* bacteria», Mol. Plant-Microbe Interact.N°9, 1996, pp. 600-607.
449. Anderson. A.J, «Isolation from root and shoot surfaces of agglutinins that show specificity for saprophytic pseudomonads», Can. J. Bot. N°61, 1983, pp. 3438-3443.
450. Chao. W.L, Li, R. K and Chang. W. T, «Effect of root agglutinin on microbial activities in the rhizosphere», Appl. Environ. Microbiol. N°54, 1988, pp. 1838-1841.
451. Bending. G.D, «The rhizosphere and its microorganisms». In:Thomas B, Murphy DJ, Murray BG, eds. «Encyclopaedia of applied plant sciences», London: Academic Press, 2003, pp.1123–1129.
452. Burd. G.I, Dixon. D.G and Glick. B.R, «A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings», Appl. Environ. Microbiol. N°64, 1998, pp. 3663-3668.
453. Grichko. V. P, Filby. B and. Glick. B.R, «Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn». J. Biotechnol. N°81, 2000, pp. 45-53.
454. Wang.C, Knill. E, Glick. B.R and Defago. G, «Effect of transferring 1-aminocyclopropane-l-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO and its gac A derivative CHA96 on their growth promoting and disease-suppressive capacities», Can. J. Microbiol. N°46, 2000, pp. 898-907.
455. Mayak. S, Tirosh. T and. Glick. B. R, «Plant growthpromoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress», Plant Physiol. Biochem. N°42, 2004, pp. 565-572.
456. Mayak. S, Tirosh. T and. Glick. B. R, «Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and peppers», J. Plant Sci. N°166, 2004, pp. 525-530.
457. Williams. P,« Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world», Microbiology, N° 153, 2007, pp.3923–3938.