

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires
Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Phytopathologie

**EFFETS DE LA BIOTISATION DES SEMENCES ET DES
PLANTS DE LA POMME DE TERRE PAR LES
Pseudomonas spp. FLUORESCENTS SUR LA
PROMOTION DE SA CROISSANCE ET SA
PROTECTION**

Par

AMEUR Djamila

Devant le jury composé de:

H.BELKAHLA	Professeur, USD. Blida	Président
A. AISSAT	Maître de conférence, USD. Blida	Examineur
L. KHILIFI	Maître de conférence, INA. Alger	Examineur
M. BENCHABANE	Maître de conférence, USD. Blida	Promoteur

Blida 2009

REMERCIEMENTS

J'exprime mes vifs remerciements à mon promoteur Docteur BENCHABANE Messaoud pour m'avoir encadré tout au long de ce travail, pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux.

Je suis très honorée que ce travail soit jugé par mes honorables Professeurs composant le jury présidé par Professeur BELKAHLA Hadjira et en qualité d'examineurs Docteur AISSAT Abdelkader et Docteur KHILIFI Lakhdar, qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements pour le temps réservé à l'examen de ce mémoire.

Je voudrais adresser mes sincères remerciements et ma plus grande reconnaissance au personnel de la SAGRODEV (Guellal-Sétif), pour leur aide et soutien: Lammari S, M'heris H, Badach A, Azoug A, Azoug M, Alague R, Bendia S, Nabil et smail et Kamal, S. Karima, H. Farida, O. Karima, A. Nabila, Hammama, M' M'aiza A, particulièrement Bendia R, Nacef A, Laour A, Laadjel N., et Oaulha D.

Je tiens à remercier M^{eme} Telmat, L. Samia, B. Houria, Ilias, Yassin et M' Djilali du CNCC.

Un grand merci à Samia, Djamila, Amina, Malika, G. Assai et L. Akila pour leur sympathie et leur gentillesse.

Je remercie vivement M^{eme} Benchabane D. pour ses encouragements et son soutien moral.

Je voudrais remercier infiniment ma famille, la famille Aissaoui et la famille Haifi pour m'avoir encouragé.

Je remercie également tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.

RESUME

Certaines bactéries de la rhizosphère (PGPR, rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes) exercent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes et le biocontrôle des agents pathogènes. Notre objectif consiste en la mise en évidence de la capacité de trois souches de *Pseudomonas fluorescens* à générer des effets bénéfiques sur les différentes étapes du cycle de la production de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Le travail expérimental porte sur la biotisation des principales étapes de la production de tubercules destinés à la plantation. Trois essais indépendants ont été réalisés: (i) le premier concerne la biotisation d'explants destinés à la vitroculture; (ii) le deuxième porte sur l'étude des effets de phytostimulation des plants de pomme de terre issus de tubercules bactérisés; (iii) le dernier essai porte sur l'induction de la résistance systémique (IRS) vis-à-vis du virus Y (PVY).

Dans la première expérimentation, les explants bactérisés ont donné des vitroplants plus vigoureux, se caractérisant par un meilleur développement racinaire et une augmentation de leur phytomasse. Il a été observé une forte colonisation racinaire dans le milieu de vitroculture.

Dans l'expérimentation réalisée sur des plants entiers, nous avons enregistré des gains notables en paramètres de croissance (Nombre et Hauteur de tiges, poids frais et poids sec des tiges, longueur racinaire, poids frais et poids sec des racines) et en paramètres de production (Nombre de stolon et tubercules, poids frais et poids sec des tubercules). En raison de la variabilité du sol utilisé (trois variantes), nous avons noté que les conséquences de la bactérisation, en engendrant des effets bénéfiques de phytostimulation, sont mieux perceptibles dans les conditions défavorables: cas du sol cultivé couramment en pomme de terre.

Les essais d'induction de la résistance systémique ont montré même en présence du virus (inoculation artificielle), la bactérisation a induit des inhibitions notables et significatives dans l'extériorisation de la virose étudiée (PVY). Ces résultats ont été confirmés avec l'expression symptomatologique (sévérité de l'infection) et par l'évaluation de la charge virale (DAS-ELISA).

Mots clés: *Pseudomonas fluorescens*, PGPR, biotisation, pomme de terre, vitroplants, IRS .

ABSTRACT

Some bacteria of the rhizosphere (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria) induce beneficial effects on the growth of the plants and the biocontrol of the pathogenic agents. Our objective consists in studying the capacity of three *Pseudomonas fluorescens* strains in generating beneficial effects on the potato production cycle stages. The experimental work concerns the tubers and plants biotisation: Three independent tests have been performed: (i) the first concerns vitroplants biotisation; (ii) the second is about the study of phytostimulation of the plants stemming from bacterised potato tubers; (iii) the last test is about the induction of the systemic resistance (IRS) against the PVY virus (Potato Y Virus).

In the first experimentation, the vitroplants obtained have more vigor and are characterized by a better root development with increasing of their shoots. Also a good level of root colonization in the vitroculture media was observed.

In the experimentation realized with whole plants, considerable increase in growth parameters was noted (Stems Number and Height, stems fresh and dry weight, roots length, fresh and dry weights of the roots) and in production parameters (Stolons and tubers number, tubers fresh and dry weights). In the second experiment where soil variability was used (three variants), we noted that the consequences of the bacterisation, while generating beneficial effects of phytostimulation, are better in the unfavorable conditions: case of soils cultivated frequently with potato.

The tests of induction of the systemic resistance despite the presence of the virus (artificial inoculation) have shown that the bacterisation led considerable inhibitions in the expression of the studied viral infection (PVY). These results have been confirmed with the symptomatologic diagnostic (severity of the infection) and by the assessment of the viral particules (DAS-ELISA).

Keywords: *Pseudomonas fluorescens*, PGPR, biotisation, potato, vitroplants, IRS.

ملخص

أظهرت بعض الدراسات أهمية بعض أصناف البكتيريا التي تنمو بجوار جذور النباتات, و التي بإمكانها تحفيز النمو النباتي و إبطال تأثيرات الجراثيم الطفيلية الضارة, عن طريق التضاد الحيوي.

هدفنا من هذه الدراسة التجريبية هو إبراز فعالية و قدرات بعض عزلات *fluorescens Pseudomonas* على التأثير ايجابيا في بعض أطوار الدورة الإنتاجية لنبات البطاطا.

الدراسة التجريبية تتضمن استعمال هذه البكتيريا في ثلاث أطوار أساسية عبر ثلاث تجارب مستقلة: (١) التجربة الأولى خاصة بالنباتات المنتجة في أوساط تغذية اصطناعية (أنابيب). (٢) التجربة الثانية أجريت على نباتات البطاطا الناتجة من درنات وضعت عليها البكتيريا, قبل غرسها. (٣) التجربة الأخيرة تتعلق بتنشيط الإمكانات الدفاعية الجهازية للنباتات ضد الفيروس (Potato Y Virus) PVY

النتائج المتحصل عليها سمحت لنا بالحصول في الظروف الاصطناعية (نباتات أنابيب) على تقوية نمو النباتات وأكثر استطالة لجذورها, في التجربة الثانية التأثير الايجابي كان جد ملحوظ في تحفيز القدرات الإنمائية عموما, و كان ذلك بارزا في مؤشرات النمو (عدد و طول السيقان, طول الجذور, الأوزان الطازجة و الجافة...) و في مؤشرات الإنتاج (وزن الدرنات...). فيما يخص تحفيز قدرات النبات الدفاعية, لاحظنا أن النباتات التي استعملت عليها البكتيريا, أظهرت أكثر مقاومة للفيروس المدروس (PVY), و ذلك بتقليل نسبة الإصابة و تحديد البارز في أعراض هذا المرض.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	8
INTRODUCTION	10
1. IMPORTANCE DES <i>Pseudomonas</i> spp. FLUORESCENTS	13
1.1 Intérêt des <i>Pseudomonas</i> fluorescents en agriculture	13
1.1.1 Actions de phytostimulation	13
1.1.2 Actions de biocontrôle	20
1.1.3 Induction de la résistance chez les plantes	22
2. GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE	34
2.1 Importance de la pomme de terre.....	34
2.2 Production de plants.....	37
2.2.1 Sélection sanitaire.....	38
2.2.2 Production de plants en Algérie	39
2.2.3 Maladies et ravageurs de la pomme de terre.....	42
3. MATERIELS ET METHODES.....	50
3.1 Présentation des expérimentations.....	50
3.2 Isolats bactériens.....	50
3.3 Essais de phytostimulation de vitroplants.....	51
3.3.1 Obtention de vitroplants.....	51
3.3.2 Contrôle virologique par DAS- ELISA	51
3.3.3 Test DAS- ELISA.....	52
3.3.4 Bactérisation.....	53
3.3.5 Dispositif expérimental.....	54
3.3.6 Analyse statistique.....	55
3.3.7 Paramètres étudiés	55
3.4 Essais de phytostimulation de plants issus de tubercules.....	57
3.4.1 Origine des tubercules	57
3.4.2 Sol.....	57
3.4.3 Bactérisation.....	59
3.4.4 Dispositif expérimental.....	60
3.4.5 Paramètres étudiés.....	61
3.4.6 Analyse statistique.....	62
3.4.7 Test de viabilité des bactéries.....	62

3.5 Essai de l'induction systémique de la résistance (ISR)	63
3.5.1 Les tubercules de pomme de terre.....	63
3.5.2 Sol.....	63
3.5.3 Bactérisation.....	63
3.5.4 Préparation de l'inoculum viral.....	64
3.5.5 Inoculation mécanique.....	64
3.5.6 Dispositif expérimental.....	65
3.5.7 Paramètres étudiés	66
3.5.8 Test de viabilité.	67
3.5.9 Test de préculture.....	67
4. RESULTATS ET DUSCUSSIONS.....	69
4.1 Phytostimulation des vitroplants	69
4.1.1 Paramètres de croissance	70
4.1.2 Discussion.....	76
4.2 Phytostimulation des plants issus de tubercules	81
4.2.1 Taux de levée.....	81
4.2.2 Paramètres de croissance des tiges.....	84
4.2.3 Paramètre de croissance de la partie souterraine.....	84
4.2.4 Paramètre de production	87
4.2.5 Test de viabilité des bactéries.....	90
4.2.6 Quantification des gains.....	91
4.2.7 Discussion.....	98
4.3 Induction de la résistance systémique (IRS)	102
4.3.1 Confirmation de l'infection par PVY.....	102
4.3.2 Taux d'infection	102
4.3.3 Sévérité de la maladie.....	105
4.3.4 Test préculture.....	106
4.3.3 Discussion.....	109
DISCUSSION GENERALE.....	113
CONCLUSION.....	118
APPENDICES	
REFERENCES BIBLIOGRAPIQUES.....	127

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Les interactions dans la rhizosphère	14
Figure 1.2	Mécanismes de la promotion de l'élongation des racines par les rhizobactéries	18
Figure 1.3	Compétition pour le fer entre les microorganismes dans la rhizosphère: les PGPR et HMO	21
Figure 1.4	Représentation schématique de la résistance systémique induite par les rhizobactéries contre les microorganismes pathogènes	23
Figure 1.5	Aspect schématique de la résistance systémique induite chez les plantes par de rhizobactéries	25
Figure 1.6	Modèle proposé des voies de transduction impliquées dans la résistance systémique induite par un pathogène (SAR) et une rhizobactérie bénéfique (ISR)	33
Figure 2.1	Production mondiale de pommes de terre (1991-2007)	35
Figure 2.2	Schéma comparatif de la production de plants de pomme de terre: classique et vitroculture	39
Figure 2.3	Possibilités de production in vitro de la pomme de terre	41
Figure 2.4	Structure du génome viral des potyvirus	45
Figure 2.5	Symptômes de virus Y de la pomme de terre (PVY)	48
Figure 3.1	Schéma des étapes de la biotisation des explants de la pomme de terre en vitroculture	56
Figure 3.2	Tubercules G1 de la variété Désirée	57
Figure 3.3	Pot muni d'une ouverture centrale le divisant en deux parties	58
Figure 3.4	Méthode de la bactérisation appliquée	59
Figure 3.5	Dispositif expérimental de l'essai de phytostimulation des plants issus de tubercules de pomme de terre	60
Figure 3.6	Disposition des plants de l'essai de l'induction de la résistance systémique (ISR)	63
Figure 3.7	Plants de pomme de terre infectés par PVY (var. Désirée, G2 déclassé)	64
Figure 3.8	Inoculation mécanique du feuillage avec le virus PVY	65
Figure 3.9	Protocole de bactérisation et d'inoculation	68
Figure 4.1	Développement des vitroplants et des bactéries sur le milieu MS	69
Figure 4.2	Gains en hauteur et en nombre de feuilles des vitroplants	71
Figure 4.3	Développement général des vitroplants (A) et vue détaillée d'un vitroplants avec ses entre-nœud (B)	72
Figure 4.4	Vue comparative entre vitroplant bactérisé (C: CHAO) et non bactérisé (T: Témoin)	72
Figure 4.5	Vues de face, latérale et de dessous, montrant le développement des différentes parties d'un vitroplant bactérisé	73
Figure 4.6	Développement de nécroses au point d'émission racinaire (a) et formation d'un film bactérien adhérent aux racines (b)	77
Figure 4.7	Développement des parties aériennes et racinaires chez les vitroplants bactérisés	78
Figure 4.8	Taux de levée (%) dans les trois essais (A, B, C)	83

Figure 4.9	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps	90
Figure 4.10	Densité bactériennes et leur adhérence sur les racines	90
Figure 4.11	Gain en taux de levée (%) dans les trois essais (A, B, C)	92
Figure 4.12	Gain (%) nombre et hauteur des tiges	93
Figure 4.13	Gain (%) en poids frais et sec des tiges	94
Figure 4.14	Gain (%) en volume racinaire	95
Figure 4.15	Gain (%) en nombre de stolons et de tubercules	96
Figure 4.16	Gain (%) en poids frais et poids sec des tubercules	97
Figure 4.17	Symptômes de virus Y de la pomme (Potato Virus Y) PVY sur des plants	104
Figure 4.18	Taux d'infection par PVY	105
Figure 4.19	Sévérité de la maladie	106
Figure 4.20	Symptômes de virus Y de la pomme (Potato virus Y) PVY sur des plants du test préculture	107
Figure 4.21	Test ELISA et Sévérité de la maladie (37 jours après inoculation) et du test préculture	108
Figure 4.22	Gain en protection	110
Figure 4.23	Diminution de la sévérité de la maladie	111
Tableau 1.1	Exemples de rhizobactéries induisant l'ISR vis-à-vis des quelque phytovirus virus	24
Tableau 2.1	Production mondiale en pommes de terre 1991-2007 (millions de tonnes)	35
Tableau 2.2	Principaux pays producteurs de pommes de terre (2006-2007)	36
Tableau 2.3	Production de pommes de terre, par région (2007)	36
Tableau 2.4	Consommation de pommes de terre, par région (2005)	37
Tableau 2.5	Source des maladies de la pomme de terre et leur source de résistance	43
Tableau 2.6	Source des ravageurs de la pomme de terre et leur source de résistance	44
Tableau 3.1	Origine des souches de Pseudomonas fluorescens	51
Tableau 3.2	Caractéristiques physicochimiques des sols	58
Tableau 4.1	Nombre de feuilles et hauteur des vitroplants	74
Tableau 4.2	Développement des racines et développement bactérien	75
Tableau 4.3	Taux de levée dans les trois essais	82
Tableau 4.4	Paramètres de croissance de la tige	85
Tableau 4.4	Paramètres de croissance de la tige (suite)	86
Tableau 4.5	Paramètres de croissance des racines	88
Tableau 4.6	Paramètres de production	89
Tableau 4.7	Résultats du diagnostique sérologique DAS- ELISA	102
Tableau 4.8	Evolution du taux d'infection et les valeurs de la sévérité de la maladie (%) en fonction du temps	103
Tableau 4.9	Test ELISA et Sévérité de la maladie (37 jours après inoculation) et du test préculture	108

INTRODUCTION

La Pomme de terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial, elle est considérée comme la principale denrée alimentaire non céréalière en sa qualité de quatrième culture vivrière derrière le blé, le maïs et le riz. En raison du rôle de la pomme de terre dans la consolidation de la sécurité alimentaire et la diminution de l'impact de la pauvreté, la FAO (Food Alimentation Organization) a déclaré l'année 2008 comme l'année internationale de la pomme de terre (YIP: Year International of Potato) [1].

La surface mondiale cultivée en pomme de terre est de l'ordre de 19.325.661 ha, assurant une production globale de 321.696.483 tonnes. La production nationale estimée en 2007 est de 1.900.000 tonnes, sur une surface de 90.000 ha, soit un rendement de 21,1 tonnes/ha, comparativement aux années 1990 où la surface n'était que de 10.000 ha. Dans les années 1960, le consommateur algérien avait des habitudes alimentaires à base de céréales et de légumes, ainsi la pomme de terre occupera une place de plus en plus importante, avec une consommation moyenne qui passe de 16 Kg/an (1960-70) à 35 Kg/an (1990) et à 57 Kg/an (2005) [1]. Ces chiffres montrent l'importance du développement de cette culture, en surface, en rendement et en consommation.

Malgré l'intérêt accordé à cette culture, le marché national a enregistré de fortes perturbations en termes d'approvisionnement et de disponibilité de cette denrée, en raison d'une dépendance quasi-totale en matière de semences importées des pays européens. L'Algérie importe annuellement entre 80.000 à 120.000 tonnes de semences de pomme de terre, soit 70% de ses besoins [2]. Ces dernières années un intérêt particulier a été accordé à la filière semences pour diminuer cette dépendance, notamment après la crise qu'a connu notre pays durant le deuxième semestre de l'année 2006, où les prix ont flambé, allant jusqu'à 100 DA/kg. Il est à signaler que durant cette même année le mildiou a ravagé de nombreuses plantations, arrivant même à anéantir la totalité des productions dans certaines régions à l'ouest du pays.

Face à cette demande, le programme national n'a pu satisfaire les besoins nationaux et il a été engagé en urgence une réflexion sur les possibilités de production de semences localement. Au début des années 1990, l'ITCMI (Institut Technique des

Cultures Maraîchères et Industrielles – Staoueli) a initié un projet de production de semences de base à partir de multiplications végétatives *in vitro*, dont les structures ont été créées à Sétif (Guellal), dans le but de produire sous serre les premières générations de minitubercules qui devraient servir à la production de semences «classe A» à partir de la campagne 1993/1994 [3].

En plus, un réseau de multiplication de la pomme de terre commença à s'installer à travers le territoire national, estimé à plus de 400 multiplicateurs. Selon les données établies par les services de contrôle du CNCC (Centre National de Certification des Semences et Plants – El Harrach), la superficie réservée à la production semencière est passée de 4.603 ha en 2001-2002 à 6.639 ha en 2006-2007. Les cultures développées à partir de semences non certifiées présentent des rendements peu élevés, et sont en outre plus sensibles aux maladies et aux insectes tout au long de leur croissance, même après la récolte et pendant le stockage. De ce fait, le choix de semences à la fois résistantes et saines apparaît comme primordial pour obtenir une culture rentable. Au cours des dernières années 16 % des surface contrôlées ont été refusées et déclassées par les services du CNCC, à cause de leur état sanitaire ne répondant pas aux normes fixées par la législation.

En raison du retard dans le début de ses activités et après différentes structurations, le centre de Sétif (Guellal) a été affilié à l'ONCV (Office National des Produits vitivinicoles – Alger) en 1998; sous forme SPA (Société Par Actions), en le dotant d'infrastructures lui permettant d'initier ce programme. L'objectif principal étant la production de la première génération de minitubercules, en laboratoire et sous serre, pour l'obtention des semences de la classe A. Ainsi un schéma de production a été élaboré, qui devrait se dérouler dans ses étapes successives, au laboratoire *in-vitro*, au laboratoire de contrôle phytosanitaire, sous serre insect-proof et enfin au champ. Pour la réalisation d'un tel schéma de production, des exigences en terme de conception des conditions de réussite des techniques de vitroculture, s'imposent pour l'obtention de vitroplants sains et vigoureux. Les techniques modernes se basent essentiellement sur des apports spécifiques en éléments nutritifs (vitroculture), en éléments fertilisants (serre insect-proof et champ) et en assurant une couverture phytosanitaires adéquate.

La biotisation des cycles de production de pomme de terre a apparu comme une technique, nouvellement appliquée, dans le but d'augmenter les niveaux de production et de rentabilité, particulièrement pour renforcer sa résistance vis-à-vis des maladies [4]. De

nombreux travaux de recherche ont accordé, depuis plusieurs années, un intérêt particulier aux effets bénéfiques des rhizobactéries non symbiotiques dans la promotion de la croissance végétale et le biocontrôle des agents pathogènes. Ces rhizobactéries ont été dénommées PGPR "Plant Growth Promoting Rhizobacteria"; elles colonisent le système racinaire des plantes et puisent dans les ressources nécessaires pour leur métabolisme. Les effets positifs recherchés s'expriment via la stimulation de la croissance des plantes (assimilation de nutriments, production de phytohormones ...), ou en conférant une protection contre les agressions des phytopathogènes [5], en produisant des métabolites secondaires à effet d'antibiose [6] et par l'induction de la résistance systémique (IRS) chez les végétaux [5].

Notre objectif consiste en l'expérimentation des effets de la biotisation de la pomme de terre par des souches de *Pseudomonas fluorescens* dans les différentes étapes du cycle de production, appliqué à la SAGRODEV de Guellal (Sétif).

- En premier lieu, durant le processus de production de vitroplants.
- En deuxième lieu, un essai de phytostimulation des plants issus de tubercules, durant la phase qui se déroule sur champ.
- En dernier lieu, ces souches bactériennes ont été expérimentées dans le processus d'induction de la résistance systémique (IRS) chez la pomme de terre infectée par le virus PVY. Il est à rappeler que ce virus est considéré comme l'un des virus de quarantaine les plus redoutables pour cette culture.

CHAPITRE 1

IMPORTANCE DES *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTS

1.1 Intérêt des *Pseudomonas* fluorescents en agriculture

1.1.1 Actions de phytostimulation

1.1.2 Actions de biocontrôle

1.1.3 Induction de la résistance chez les plantes

CHAPITRE 1

IMPORTANCE DES *Pseudomonas* spp. FLUORESENTS

1.1 Intérêt des *Pseudomonas* fluorescents en agriculture

Les *Pseudomonas* appartiennent à la famille des Pseudomonadaceae, sous-classe γ des Proteobacteria. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents constituent un groupe bactérien du genre *Pseudomonas* "sensu stricto" [7, 8]. Ces espèces colonisent abondamment les sols et les environnements aquatiques et marins; certaines se développent dans la rhizosphère au contact des racines (les rhizobactéries) [9, 10], d'autres sur les parties aériennes (phyllosphère) [10].

Ce groupe bactérien est assigné aux rhizobactéries dites PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), synonyme de Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes [11, 12]. Ces bactéries arrivent à s'adapter facilement et s'associer avec plusieurs plantes et induisent des améliorations significatives des rendements [13, 14]. Par leurs effets bénéfiques résultent des actions de phytostimulation [15, 9, 6] et de biocontrôle de divers agents phytopathogènes [12, 16, 17]. De nombreux travaux ont mis en évidence l'implication de ces rhizobactéries dans l'induction de la résistance systémique de plusieurs espèces végétales vis-à-vis de multiples parasites [18]. Des effets bénéfiques sur le plan écologique ont été également signalés, avec ces rhizobactéries, par leur rôle dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol [19, 20, 21, 22, 23, 24].

1.1.1 Actions de phytostimulation

Les rhizobactéries, du groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents, agissent directement sur la croissance des plantes en stimulant leurs aptitudes physiologiques [25, 26], et/ou indirectement en limitant les actions néfastes des agents pathogènes et délétères [27, 28]. Les actions directes résultent des activités rhizobactériennes par la solubilisation de divers éléments minéraux et la production de régulateurs de croissance [29, 30]. Les actions indirectes se résument dans la gestion des équilibres microbiens

rhizosphériques au profit des plantes par des mécanismes antagonistes ou compétitifs [31]. Même si la réussite de l'expression de tels effets phytobénéfiques dépend en grande partie de la nature de la plante hôte, d'autres paramètres, particulièrement les caractéristiques du sol, les rotations des cultures, les travaux mécaniques et de fertilisation, ainsi que l'emploi de pesticides ont des effets notables (Figure 1.1) [32, 33, 34, 35].

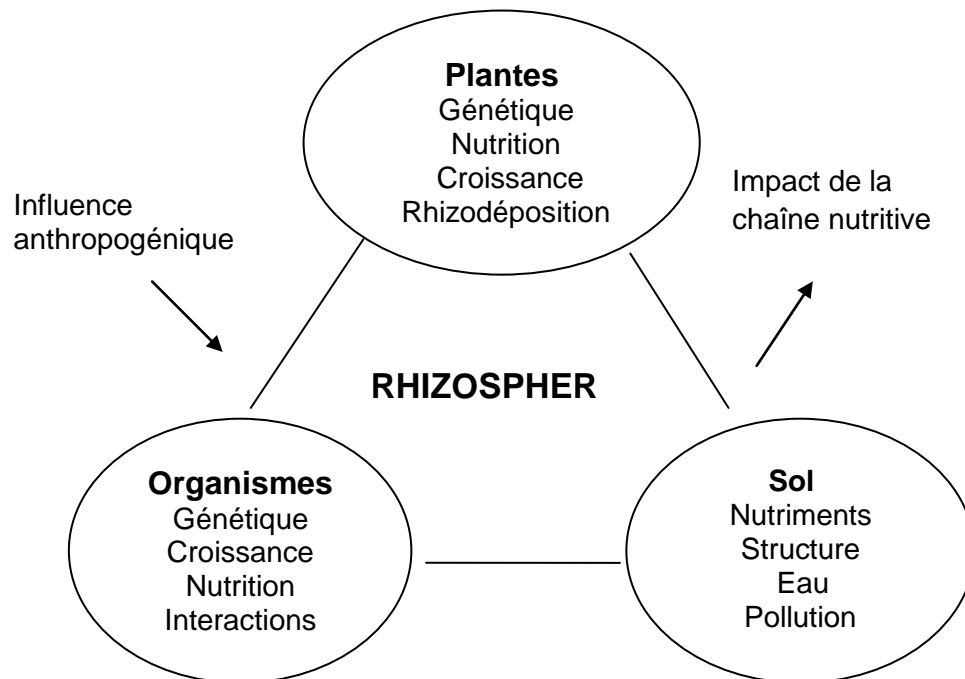


Figure 1.1: Les interactions dans la rhizosphère [36].

1.1.1.1 Effet de la plante hôte

La plante modifie les caractéristiques du rhizoplan, en induisant une modulation de la densité et de l'activité microbienne tellurique. Les conditions particulières de la rhizosphère exercent des actions spécifiques et favorisent certains groupes microbiens [37, 38]. Les racines comme support mécanique et la microflore tellurique comme moyen d'absorption et de prélèvement d'eau et de nutriments, assurent des activités spécifiques de synthèse et d'accumulation de divers composés nutritifs pour la plante [39].

La nature qualitative et quantitative des exsudats racinaires peut varier en fonction de l'espèce végétale et même du cultivar [40]. Le stade phénologique de la plante et les conditions environnementales exercent des effets notables sur les populations microbiennes du sol [36, 41].

Les exsudats racinaires peuvent représenter 10 à 20 % de photosynthétats et conditionnent la densité et l'activité des microorganismes rhizosphériques [42]; elles peuvent être des sucres, des acides aminés, des acides organiques ou des hormones [43]. Des populations microbiennes spécifiques peuvent être favorisées par l'adéquation de leur activité métabolique avec la composition des exsudats racinaires [44]. D'une manière spécifique certains acides aminés qui sont une composante importante des exsudats racinaires, peuvent jouer un rôle essentiel dans l'induction de la production de divers métabolites secondaires synthétisés par les *Pseudomonas* rhizosphériques [45].

Les rhizodépôts représentent la source principale en carbone dans la rhizosphère, elles joueraient un rôle important dans l'établissement et l'efficacité antagoniste et promotrice de la croissance microbienne [46, 47].

De nombreux travaux réalisés en conditions contrôlées ou en plein champs ont mis en évidence des interactions bénéfiques entre ces rhizobactéries et diverses espèces végétales herbacées, ligneuses et ornementales [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54].

Certains effets bénéfiques induits par quelques souches bactériennes, appartenant en particulier au groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescents, semblent stimuler et améliorer la germination des graines et la levée des plantes, notamment lorsque les conditions d'environnement sont défavorables à leur germination [55, 43]. La vitesse de levée a été améliorée chez plusieurs espèces végétales, surtout chez les espèces herbacées après leur bactérisation [48, 56, 57, 58, 59, 60]. Ces microorganismes peuvent aussi améliorer la vigueur et l'adaptation des plantules en conditions de vitroculture (vitroplants et acclimatation) [4, 54, 61, 62].

Des travaux, réalisés dans des conditions de vitroculture, ont mis en évidence des effets positifs de la bactérisation sur la rhizogénèse, la croissance et le développement de vitroplants [63, 64]. D'autres travaux de Kloepper *et al.*, [12] ont rapporté des incidences favorables sur le développement racinaire, sur l'initialisation foliaire et la longueur des entre-nœuds des vitroplants. Ces effets positifs de ces rhizobactéries restent aussi perceptibles pendant et après les phases d'acclimatation où les conséquences sont notables, particulièrement sur la vigueur des plants [65, 66].

1.1.1.2 Mécanismes d'action

Sommairement, les PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes par les principaux mécanismes suivants: (i) en augmentant la biodisponibilité des nutriments minéraux; (ii) en changeant la balance hormonale chez la plante hôte et (iii) en exerçant des actions d'antagonisme envers les pathogènes de la plante [27].

1.1.1.2.1 Amélioration de la nutrition

La quasi-totalité des travaux effectués sur la phytostimulation a mis en exergue une amélioration généralisée sur la nutrition minérale de la plante, néanmoins des études spécifiques ont montré des effets particuliers sur les apports en fer, en phosphore, en azote et en manganèse [55].

Fer: Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de synthétiser des sidérophores, des molécules chélatrices du fer, surtout en conditions de carence en cet élément, nécessaire à leur croissance [67, 68, 69]. Le terme sidérophore (du grec, porteur de fer) désigne des composés du métabolisme secondaire à faible poids moléculaire solubles dans l'eau et caractérisés par leur affinité aux ions Fe^{3+} [70, 71, 72]. Les sidérophores sont aussi parmi les composés des rhizobactéries ayant un effet sur la stimulation de la croissance [73, 74, 75, 76, 77, 78].

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents synthétisent de nombreux sidérophores chélateurs du fer ionique, qui exhibent des effets fongistatique et bactériostatique, tels que les pyoverdines, les pseudobactines, les pyochelines et l'acide salicylique [73, 74, 75, 77, 79, 80]. D'autres types de sidérophores ont été trouvés chez ces bactéries, tels que les ferribactines, les pseudomonines et les pyochelines [81, 82, 83]. Il est admis que la synthèse de sidérophores, même si les caractéristiques génotypiques sont déterminants, dépend des caractéristiques du sol, de la concentration en oligo-éléments, notamment en fer, du pH du sol et de la disponibilité du carbone et de l'azote [84, 85, 86, 87]. En plus de ces facteurs, certains métaux lourds, tels que le zinc et le cadmium semblent stimuler leur production [88, 89].

Phosphore: Le prélèvement d'autres minéraux, nécessaires pour le développement des plantes, comme le phosphore est fortement liée à l'activité des micro-

organismes telluriques [90, 91, 92, 93]. La dissolution des phosphates par les micro-organismes n'est pas liée à un phénomène passif, comme par exemple la baisse du pH due à la libération des acides organiques ; en fait les bactéries sont capables d'extraire le phosphore « assimilable » en séquestrant les cations métalliques intervenant dans son absorption et en le libérant lorsque il est lié aux argiles et à l'oxyde de fer d'aluminium. Pour que le phosphore naturel puisse servir dans le métabolisme et la croissance des plantes, il faut que les conditions de son utilisation favorisent sa dissolution, ce qui relève de la nature du sol (physique, chimique et biologique) [94, 95, 96, 97, 98, 99]. Les activités enzymatiques des *Pseudomonas* rhizosphériques peuvent contribuer, particulièrement, en l'absence de formes assimilables de phosphores dans le sol, dans l'approvisionnement de la plante en cet élément [100, 101].

Azote: Certaines espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent utiliser des oxydes d'azote; cette réduction est généralement inhibée en aérobiose et les nitrites formées sont rejetés dans le milieu et ils peuvent intervenir comme des accepteurs d'électrons et réduits en composés gazeux, tels que: les oxydes nitriques (NO), les oxydes nitreux (N₂O) et en azote libre (N₂); il s'agit de la dénitrification dissimulatrice profitable pour la plante [102, 103].

D'autres souches, de ce même groupe bactérien, stimulent la nodulation des légumineuses en association avec *Rhizobium* spp. [104, 105, 106]. Grimes et Mount [107] ont montré que la souche B72 de *P. putida* augmente de façon significative la nodulation du haricot. Ces souches sont appelées des rhizobactéries promotrices de la nodulation (NPR: Nodulating promoting Rhizobactéria) [108].

Manganèse: Les *Pseudomonas* spp. fluorescents solubilisent le manganèse grâce à des agents chélateurs, tels que les composés phénoliques et les acides organiques qui forment avec le manganèse un complexe soluble qui évite sa précipitation [109]. La réduction du manganèse du sol par les *Pseudomonas* spp. fluorescents pourrait augmenter sa disponibilité et favoriser son assimilation par la plante [110].

1.1.1.2.2 Production de substances de croissance

Il a été démontré que la stimulation de la croissance des plantes bactérisées peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance analogues aux phytohormones [31, 111]. Ces substances sont de différentes catégories, telles que les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène [112, 113, 114] et l'acide abscisique (ABA) [114, 115]. D'autres composés vitaminiques ont été également identifiés chez ces rhizobactéries [116].

1.1.1.2.2.1 Acide indole acétique (AIA)

L'acide indole -3- acétique (AIA) est reconnu comme une auxine principale chez les plantes, impliquée dans tous les aspects de leur croissance et de leur développement [117]. La production de l'AIA par les rhizobactéries a été associée avec la promotion de la croissance de la plante, surtout sur la morphogénèse des racines, leur initiation et leur élongation [118, 119, 120].

Les souches de *Pseudomonas putida* ont tendance à produire de l'acide indole acétique (AIA) [121]. Les rhizobactéries synthétisent d'une manière prédominante l'AIA à partir du tryptophane par la voie de l'acide indole-3-pyruvique (Figure 1.2) [122].

L'aptitude de synthétiser l'AIA, ou des produits apparentés, ainsi que la solubilisation des phosphates sont des caractéristiques retrouvées chez certaines souches. Ces propriétés, parmi d'autres peuvent avantager la souche dans sa compétition et son adaptation à divers écosystèmes (sol nu et sol rhizosphérique).

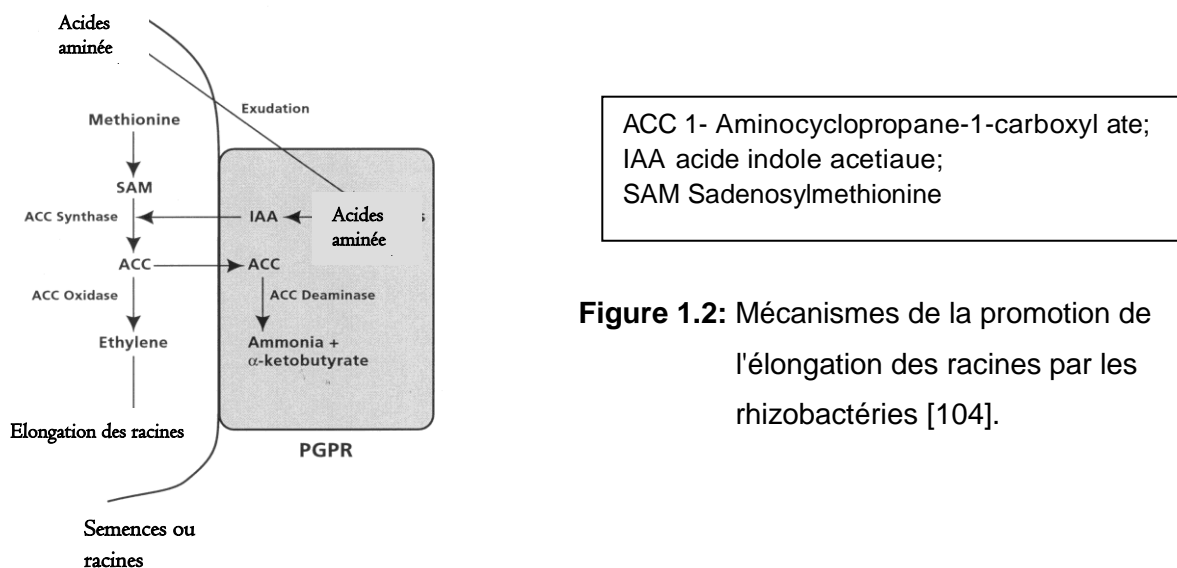


Figure 1.2: Mécanismes de la promotion de l'élongation des racines par les rhizobactéries [104].

Globalement, il n'y a pas assez d'informations sur les bases génétiques qui provoquent les variations naturelles dans la sensibilité de la racine aux auxines exogènes synthétisées par les PGPR [123]. L'auxine produite dans la rhizosphère par les rhizobactéries peut stimuler l'activité de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase, une enzyme naturellement utilisée par la plante pour former l'éthylène [121, 124].

1.1.1.2.2.2 Ethylène

L'éthylène à fortes concentrations est considéré habituellement comme un inhibiteur de la croissance des plantes, mais en faibles concentrations peut favoriser réellement la croissance chez plusieurs espèces végétales [125]. Certains PGPR synthétisent l'enzyme vitale, "ACC" (1-aminocyclopropane-1-carboxylate desaminase) qui régule la production de l'éthylène, en métabolisant l'ACC (un précurseur immédiat de la biosynthèse de l'éthylène dans les plantes) en α -ketobutyrate et en ammoniac [124].

Il est à noter que des substances exsudées par les racines des plantes peuvent être des précurseurs dans la biosynthèse de l'ACC. Les rhizobactéries possédant cette désaminase peuvent dégrader l'ACC et l'utiliser comme une source de carbone. La production de l'éthylène par les racines peut être réduite en présence des rhizobactéries productrices de l'ACC et peuvent accroître la croissance racinaire tout en inhibant l'ACC endogène [126, 124].

D'autres catégories de rhizobactéries, ne possédant pas l'ACC desaminase, mais peuvent participer dans l'accroissement de la plante. Dans ce dernier cas, il est présumé que ces bactéries possèdent certains composants pariétaux, qui sécrètent des composés agissant comme 'éliciteurs' de la croissance végétale. Les racines de la plante doivent être aptes à percevoir et reconnaître ces molécules de la même façon que la reconnaissance des éliciteurs rencontrés chez les agents pathogènes [5].

1.1.2 Actions de biocontrôle

L'état sanitaire des plantes est aussi bien conditionné par la densité des communautés microbiennes phytopathogènes, que par celle des antagonistes et même des saprophytes. L'équilibre entre ces différentes catégories microbiennes détermine directement les répercussions, favorables ou défavorables, sur la physiologie et le développement de la plante [127]. Les actions de biocontrôle se résument dans l'inhibition des capacités infectieuses des agents phytopathogènes, en inhibant leur croissance (antibiose) ou par des actions compétitives pour les niches écologiques [128].

En raison de leur caractère ubiquitaire dans les biotopes telluriques, les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été signalés en qualité d'antagonistes vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes de divers genres fongiques: *Fusarium*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*... etc. [129].

1.1.2.1 Antibiose

La production d'antibiotiques est reconnue comme un mécanisme important par lequel les agents de biocontrôle, notamment les PGPR, peuvent empêcher la prolifération et le développement des agents phytopathogènes [130, 131, 132].

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action, sur des agents fongiques telluriques. Parmi ces antibiotiques, les phenazine (acide phenazine-1- carboxylique (pca), DAPG (2-4 diacetylphloroglucinol), des pyoluteorines (plt), des pyrrolnitrines (Prn), la tropolone, l'oomycine , des viscosinamides, des tiensines et des amphisines [133, 134, 135, 136, 137, 43].

Les phenazines (pcA) et le 2.4-diacetylphloroglucinol (DAPG) sont les majeurs déterminants rapportés dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes [138, 137, 43, 139].

La production de l'acide cyanhydrique (HCN) par certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* peut aussi influencer les pathogènes telluriques [74]. Ce mécanisme est souvent rapporté chez la souche de référence CHAO, comme mécanisme potentiel dans la suppression de *Tielaviopsis basicola* sur tabac et aussi vis-à-vis d'autres champignons telluriques [140].

1.1.2.2 Compétition pour les nutriments et les niches écologiques

La répartition spatiale est un paramètre régissant les interactions entre les groupes microbiens et conditionne, donc, la compétitivité dans la rhizosphère. La compétitivité s'exerce par leur pouvoir d'adaptation aux différents milieux telluriques, par leur croissance dans la rhizosphère et leur aptitude à occuper l'espace rhizosphérique [141, 9]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent des aptitudes élevées à la colonisation de la rhizosphère de diverses espèces végétales [142, 133, 143, 144, 43].

Parmi les éléments favorisant la colonisation rhizosphérique, la compétition pour le fer ionique est fondamentale dans l'occupation des sites rhizosphériques. Il se trouve que les sidérophores des *Pseudomonas* spp. fluorescents joueraient un rôle déterminant dans la compétence rhizosphérique. Une fois les sidérophores sont émis dans le milieu extérieur, ils chélatent les ions (Fe^{3+}) les rendant inaccessibles aux autres microorganismes qui ne possèdent pas de système à forte affinité de chélation du fer [142], sachant bien que dans le sol il y a souvent carence en ces ions et leur insolubilité les rendent difficilement accessibles ou assimilables [145]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent reconnaître et utiliser les sidérophores produits par d'autres microorganismes, alors que ces dernières ne sont pas capables d'utiliser les sidérophores qu'elles produisent (Figure 1.3) [146, 147].

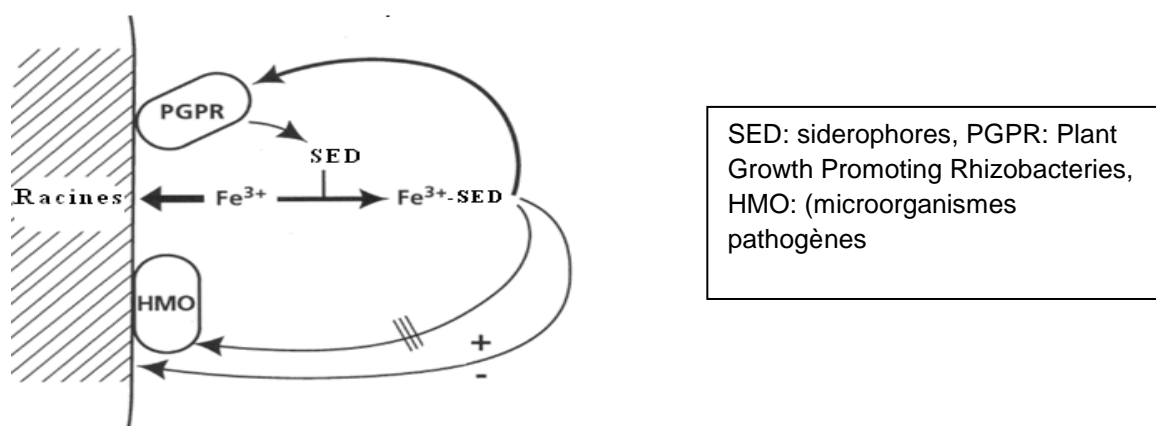


Figure 1.3 : Compétition pour le fer entre les microorganismes dans la rhizosphère: les PGPR et HMO [148].

1.1.3 Induction de la résistance chez les plantes

La résistance induite est définie comme une amélioration des capacités défensives de la plante, acquise après stimulation appropriée vis-à-vis des micro-organismes et des ravageurs nuisibles et même des stress abiotiques. Les composants de la résistance contre un agent pathogène sont déterminés par la résistance systémique induite (ISR) ou par la résistance systémique acquise (SAR) [149, 16].

L'action de l'induction de la résistance systémique, comme mécanisme de contrôle biologique, est une conséquence de l'activation des mécanismes actifs de défense de la plante qui sont stimulés par des agents inducteurs, tandis que l'antagonisme microbien présente des actions directes et parfois cumulées comme la compétition trophique et la production d'antibiotiques et/ou de sidérophores et d'HCN [150].

D'après les définitions et les explications réservées à ces deux types de résistance [151], il en ressort que l'ISR est un état induit par des microorganismes non pathogènes, activant les capacités de défense générale de la plante ; alors que la SAR est induite par des microorganismes pathogènes d'une manière spécifique et parfois localisée. Il est aussi à noter que quelques métabolites sécrétés par ces microorganismes pathogènes, ou non pathogènes, sont capables de déclencher l'induction de ces deux types de résistance [152, 147, 153].

De nombreux travaux ont rapporté l'implication active des PGPR, particulièrement *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. aeruginosa*, dans l'induction systémique de la résistance (ISR) chez diverses espèces végétales [154].

1.1.3.1 Induction de la résistance systémique

Les rhizobactéries peuvent réduire la sévérité d'une maladie à travers la stimulation de mécanismes de défense inductibles chez la plante [16]. L'induction d'une telle capacité de défense est typiquement systémique. Le traitement des racines par des PGPR induit des effets protecteurs sur les autres parties de la plante, sans migration, des bactéries induisant l'ISR à travers le système vasculaire de la plante ou à travers ses tissus [155, 156]. De tels effets protecteurs ont été mis en évidence vis-à-vis d'infections fongiques, bactériennes et virales [157, 158, 159]. Le rôle direct de souches rhizobactériennes de

PGPR en tant qu'inducteur de l'ISR, dans la réduction des maladies, a été mis en évidence en garantissant une séparation spatiale de l'agent pathogène et de l'agent inducteur de la résistance, afin d'exclure toute interaction antagoniste directe. Tel est le cas si l'on inocule les bactéries sur les racines et le pathogène sur la surface foliaire de la plante ou en utilisant des systèmes séparant les racines en deux groupes séparés (split system) [160, 161, 162, 35, 154].

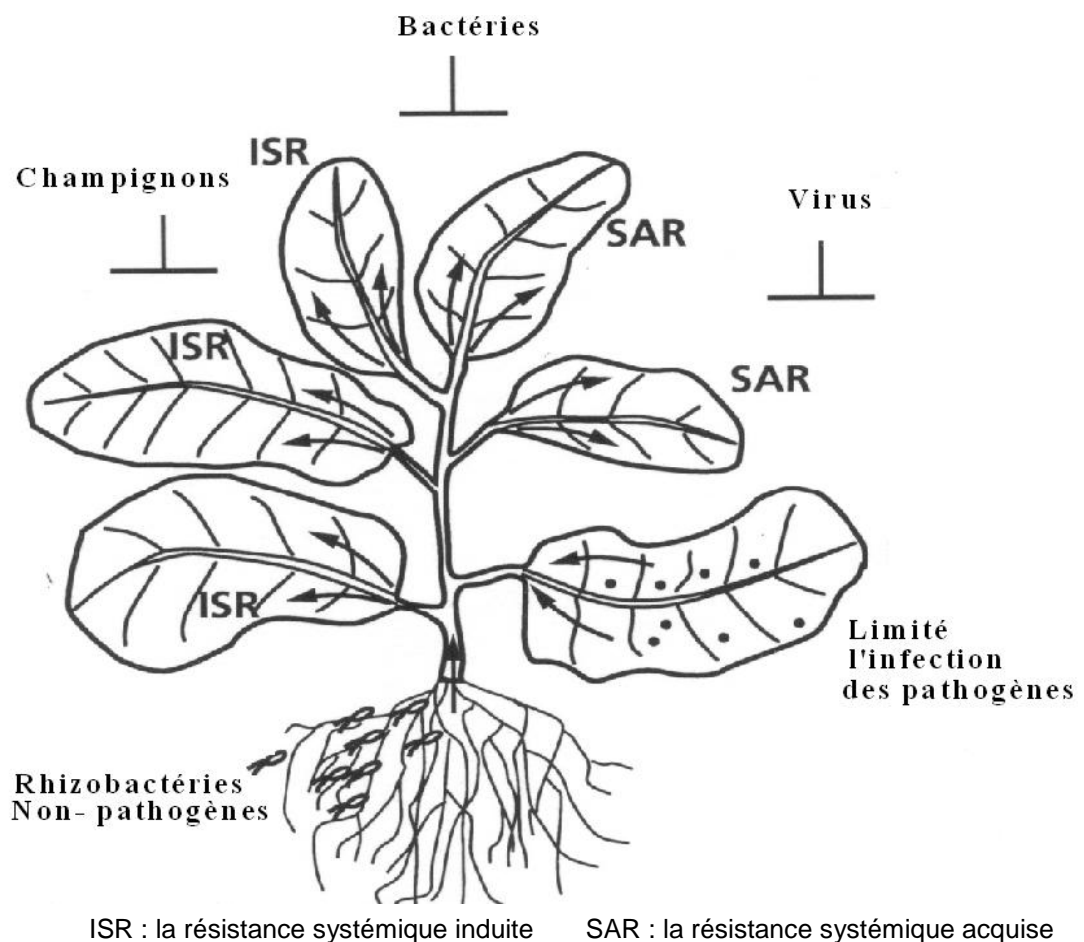


Figure 1.4 : Représentation schématique de la résistance systémique induite par les rhizobactéries contre les microorganismes pathogènes [64].

La protection conférée via l'ISR est également peu spécifique concernant la nature de l'agent infectieux contre lequel la phytoprotection est assurée. Étant donné la systémicité du phénomène, l'état induit s'exprime dans tous les organes de la plante, des racines aux feuilles et aux fruits. L'efficacité de l'ISR induite par les rhizobactéries peut même contrôler des infections causées par plusieurs types de nématodes comme *Globodera pallida* chez la pomme de terre, *Heterodera schachtii* chez la betterave sucrière

et *Meloidogyne incognita* sur le coton et la tomate. L'induction de la résistance systémique peut également être efficace pour la gestion des dégâts causés par certains insectes associés à plusieurs types de récoltes. L'ISR est donc efficace non seulement contre les pathogènes du sol comme *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* ou *Pythium aphanidermatum*, mais également contre les dommages causés par les agents pathogènes qui ciblent les parties aériennes. Parmi ces derniers, on peut citer des agents fongiques comme *Alternaria brassicicola*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lagenarium*; et des bactéries : *Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris*. A l'encontre de phytovirus de nombreux travaux ont montré l'implication de différentes souches de *Pseudomonas fluorescens* dans l'induction de la résistance systémique (Tableau 1.1) [163, 164, 165].

Tableau 1.1 : Exemples de rhizobactéries induisant l'ISR vis-à-vis des quelques phytovirus

Espèce	Souches	Pathosystème (plantehôte/pathogène)	Références
<i>P. fluorescens</i>	89-B-61	Tomate/Cucumber mosaic virus (CMV) Cucumovirus	[163].
<i>P. fluorescens</i>	CHAO	Tabac/Tobacco necrosis virus(TNV) Tombusvirus Banancier /Banana bunchy top virus (BBTV)	[166, 159]. [167].
<i>P. aeruginosa</i>	7NSK2	Tabac/Tobacco mosaic virus (TMV) Tobamovirus	[71].
<i>P. fluorescens</i>	-	Courge/zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) Potyvirus	[168].

1.1.3.2 Etapes de l'expression de l'ISR

Contrairement aux réponses mises en place par la plante suite à des attaques par les pathogènes, celles induites par des microorganismes bénéfiques sont moins connues et beaucoup de questions concernant l'ISR restent encore posées. Néanmoins, l'expression phénotypique du phénomène de l'ISR peut être divisée en trois étapes principales (Figure 1.5), qui sont : **(A)** l'élicitation, **(B)** la transmission du signal, **(C)** l'expression des mécanismes de défense de l'hôte [169].

- A.** Les rhizobactéries ou PGPR interagissent avec les racines de l'hôte et produisent des éliciteurs qui sont perçus par la plante. Cette perception par

l'hôte est considérée comme sélective et spécifique dans le processus d'élicitation.

- B.** Après la reconnaissance des déterminants d'élicitation, un signal est véhiculé dans l'ensemble de la plante afin d'alerter la transmission du signal nécessaire à la systémisation du phénomène dans la plante.
- C.** La mise en alerte de la plante au niveau systémique qui, dans la plupart des cas, n'est pas accompagnée de modifications majeures de l'activité transcriptionnelle avant l'attaque du pathogène et l'expression du ou des mécanisme(s) de défense, *sensu stricto*, induits permettant de limiter, voire d'inhiber la pénétration du pathogène dans les tissus de l'hôte végétal. Enfin, lors d'une éventuelle attaque par un agent phytopathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression, lui conférant ainsi une résistance induite par l'identification de ses fonctions physiologiques.

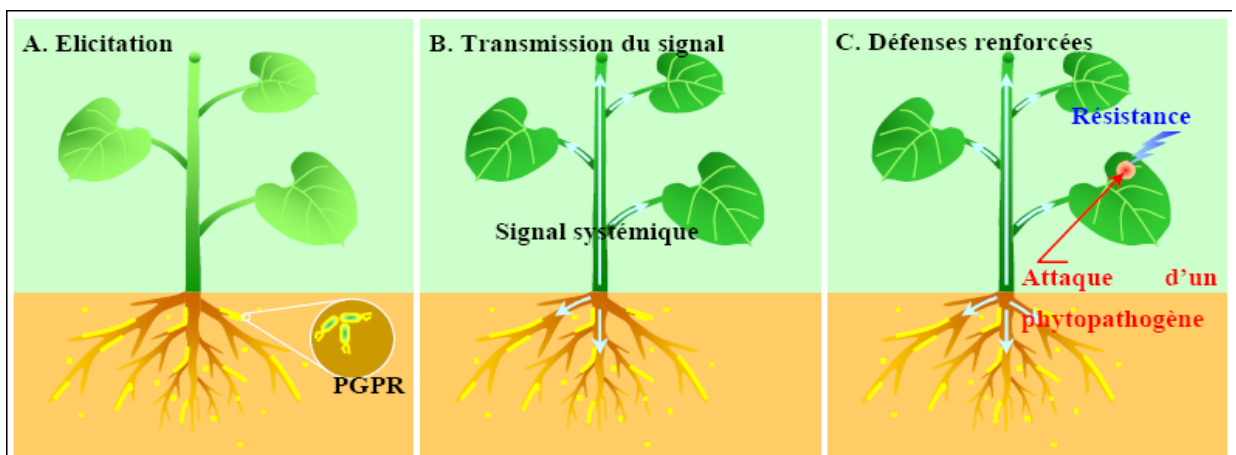


Figure 1.5 : Aspect schématique de la résistance systémique induite chez les plantes par de rhizobactéries [170].

1.1.3.3 Mécanismes d'action

L'activation des capacités défensives des plantes, sous l'effet inducteur de l'ISR, s'accompagne avec des modifications dans ses structures et ses activités physiologiques et biochimiques.

1.1.3.3.1 Modifications structurales et ultra-structurales chez l'hôte

Il est bien connu que les PGPR provoquent des modifications structurales chez la plante, en réponse aux attaques pathogènes [171, 172, 173]. Dans le cas de l'ISR, certaines études ont démontré l'initiation de réactions de défense étroitement liées à l'établissement de barrières chimiques et/ou physiques pour empêcher l'entrée des pathogènes. Les réactions induites incluent non seulement la formation de barrières structurales enrichies en callose et en lignines, mais aussi l'accumulation de composés phénoliques à potentiel antifongique direct [174].

Les barrières structurales se forment souvent dans des zones bien délimitées entre la membrane plasmique et la paroi végétale, aux sites de pénétration potentielle de l'agent pathogène [175]. Les enzymes associées à l'effet ISR participent dans le renforcement des potentialités de défense de la plante sur le plan physique (lignification), ou sur le plan chimique (quinones) en consolidant les barrières de défense naturelle de la plante [176].

La restriction de l'agent pathogène aux tissus racinaires, les plus externes, était invariablement associée à un arsenal de défense déployé très rapidement par la plante et impliquant l'élaboration massive d'appositions pariétales (AP) le long des parois végétales, et l'élaboration des papilles (P) contenant un matériel enrichi en lignine [171].

La stratégie défensive des plantes semble être non spécifique à l'agresseur. En effet, la plante attaquée par un virus, une bactérie ou un champignon pathogène, active son arsenal de défense de façon coordonnée dans l'espace et dans le temps [16].

1.1.3.3.2 Modifications physiologiques et biochimiques

La bactérisation des plantes, par les PGPR, provoquerait des modifications physiologiques et biochimiques chez diverses espèces végétales [155]. Les *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent stimuler la production de composés biochimiques liés aux mécanismes de défense de la plante hôte [174, 177, 173]. Parmi les modifications, il est a été noté un profond changement métabolique [178] incluant l'accumulation des protéines PR (Proteine Related) (protéines pathogènes - apparentées) [173, 179, 180], l'accumulation des β -1.3-glucanase, la synthèse de phytoalexines [181] et d'autres métabolites secondaires [160].

La résistance de la plante, donc l'inhibition de l'effet délétère des pathogènes, peut être perçue à travers l'activité de biosynthèse de protéines totales ou de certaines enzymes spécifiques. Les résultats de dosage d'extraits de plantes, étudiées pour l'ISR, ont révélé l'implication d'un large panel d'enzymes notamment les peroxydases, les lipoxygénases, la phénylalanine ammonia lyase (PAL), la β 1.3- glucanase et des chitinases [151, 182].

1.1.3.4 Les déterminants bactériens de l'ISR

Au contraire de la SAR, les éliciteurs produits par les PGPR impliqués dans l'ISR sont moins bien connus, mais les recherches menées ces dernières années ont permis d'identifier plusieurs molécules bactériennes jouant ce rôle [154].

1.1.3.4.1 Les composants de la surface des cellules

Les constituants pariétaux des parois cellulaires, chez les PGPR, sont considérés comme des déterminants majeurs dans l'expression de l'ISR [183, 184, 185]. Il existe plusieurs déterminants bactériens impliqués dans l'ISR; les flagelles bactériens sont nécessaires pour la mobilité et l'adhérence des bactéries sur les racines et par conséquent ils sont importants pour une colonisation efficace [31]. Il a été démontré que la flagelline (protéine du filament flagellaire) de la souche WCS358 de *P. putida* peut agir comme éliciteur de résistance systémique chez *Arabidopsis* contre *Pseudomonas syringae* [186].

Une activité élicitrice des LPS, ou plus spécifiquement de la chaîne polysaccharidique latérale O antigénique, a été mise en évidence chez différentes plantes [187, 160, 188, 189, 190, 186]. Le pouvoir éliciteur des LPS des PGPR varie avec la plante hôte; par exemple WCS 358 de *P. putida* est capable d'induire l'ISR via les LPS chez plusieurs plantes, telles que le haricot, la tomate mais pas chez le radis et *Arabidopsis* [186]. Leeman *et al.*, ([191] rapportent que les LPS des souches WCS 374 et WCS 417 sont les déterminants majeurs de l'ISR dans les conditions où le fer est disponible, mais avec sa disponibilité ces composés ne sont plus impliqués.

1.1.3.4.2 Les sidérophores

Quelques types de sidérophores connus chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de déclencher le processus de l'ISR chez diverses espèces végétales. Les sidérophores, produits par les PGPR dans des conditions de carence en fer, peuvent déclencher l'ISR chez les plantes. Les pyoverdines et la pyochéline sont des sidérophores synthétisés typiquement par le genre *Pseudomonas* pour lesquels une activité élicitrice de l'ISR a été démontrée [192]. Par exemple, la souche WCS 358 de *P. putida* peut éliciter grâce à ses pseudobactines l'ISR chez *Arabidopsis*, le haricot, la tomate et l'eucalyptus [147, 186, 193]. La souche mutante, qui ne produit plus la pseudobactine, a perdu sa capacité d'induction de l'ISR chez la tomate mais pas chez le haricot [186].

Il a été mis en évidence le rôle de la pyocyanine dans l'ISR chez le riz contre *Magnaporthe grisea* [194]. L'étude de la souche BTP1 de *P. putida* a montré que ses pyoverdines ne sont pas impliquées dans l'ISR chez le haricot [195]. Les recherches sur cette souche ont mené à la purification d'un dérivé de la benzylamine (NABD pour N,Ndimethyl- N-tetradecyl-N-benzylammonium), responsable en grande partie de l'induction de l'ISR chez le haricot, le concombre et la tomate [196, 197].

1.1.3.4.3 L'acide salicylique

Certaines souches PGPR sont capables de produire de l'acide salicylique, qui peut être responsable de l'induction de l'IRS chez les plantes [166, 198, 199]. L'acide salicylique (AS), dérivé phénolique, est considéré déjà comme un signal endogène capable de stimuler des réactions de défense chez les plantes [200].

L'introduction de deux gènes (pch A et pch B) codant pour la synthèse de l'acide salicylique chez la souche P₃ de *Pseudomonas fluorescens*, l'a rendu capable de produire l'AS, qui a amélioré significativement sa capacité d'induire la résistance chez le tabac contre le TNV [159].

Certaines souches de PGPR sont capables de produire de l'acide salicylique (AS) sous des conditions limitantes en fer, comme la souche CHAO qui produit naturellement l'AS dans de telles conditions et induit la résistance systémique chez le tabac contre le TNV [159]. Avec le même schéma de modification génétique, les souches WCS417r et

WCS358r de *Pseudomonas fluorescens* produisent l'acide salicylique, induisent la résistance systémique chez deux types d'arabidopsis (Arabidopsis naturel et NahG-gene trasformed *Arabidopsis*) [185].

1.1.3.4.4 Les antibiotiques

Comme les sidérophores, les antibiotiques peuvent jouer un rôle dans l'antagonisme microbien dans la rhizosphère, mais aussi dans la plante en stimulant sa capacité défensive [200]. Les antibiotiques sont impliqués dans l'ISR. Ainsi, un rôle dans l'induction de l'ISR de la pyocyanine a été rapporté lors du traitement de plantes de tomate par la souche 7NSK2 de *Pseudomonas aeruginosa* [202]. De même, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) produit par les souches CHA0 et Q2-87 de *Pseudomonas fluorescens* est essentiel pour induire des réactions de défense chez *Arabidopsis* et chez la tomate [202, 203, 204, 205].

1.1.3.5 Réactions comparatives entre ISR et SAR

1.1.3.5.1 Accumulation des protéines de défense (PRs)

Pour certains auteurs l'ISR n'est pas obligatoirement associée avec les protéines PR [206, 207]. Par exemple, l'ISR induite par la souche Pf1 de *P. fluorescens* chez le riz et le thé a été associée avec l'accumulation de certaines enzymes de défense, telles que la peroxidase, la polyphenol oxydase, la chitinase et la β -1,3-glucanases qui peuvent inhiber la croissance des champignons pathogènes [208, 209]. Ces composés peuvent intervenir en qualité d'eliciteurs, individuellement ou en synergie, à l'exemple de D-1.3-glucanese et les proteines PR (proteins related) [210]. Hynes et Lazorovits [211] ont montré une augmentation des protéines "PR" dans les feuilles du haricot suite à un traitement des semences par *Pseudomonas fluorescens*.

Maurhofer *et al.* [166] ont rapporté que l'IRS induite par la souche CHA0 contre le virus (TNV) chez le tabac, résulte de l'accumulation des protéines PR, de β -1.3 glucanases et des endochitinases.

1.1.3.5.2 Accumulation de phytoalexines

L'accumulation de phytoalexines antimicrobiennes a été largement décrite dans le cas de la SAR chez beaucoup d'espèces végétales; elles sont définies comme des composés antifongiques et/ou antibiotiques de faible poids moléculaire, synthétisées chez les plantes lors des stress biotiques ou abiotiques [212, 213, 214, 215, 216]. Dans le cas de l'ISR, l'accumulation de phytoalexines dans les plantes traitées par les PGPR, en tant que mécanisme de défense est encore peu connue. Cependant, certains exemples d'accumulations de phytoalexines ou des enzymes hydrolytiques sont de temps en temps rapportés chez différentes plantes [217, 218, 219, 208].

Les différents types de phytoalexines produits sont en fonction de l'activation de certaines enzymes issues de voies métaboliques distinctes. Les études biochimiques, examinant les plantes résistantes aux maladies, ont indiqué dans certains cas des activités accrues pour les principales enzymes biosynthétiques impliquées dans la production des composés phénoliques, comprenant la phénylalanine ammonia lyase (PAL) [220, 221], la phénol- β -glucosidase [222], la chalcone synthase et la chalcone isomérase [223].

1.1.3.5.3 Stimulation de la voie de lipoxigénase (LOX)

La voie métabolique de la LOX est constituée d'une suite de réactions qui transforment des acides gras polyinsaturés en un large spectre de composés aux fonctions chimiques et biologiques diverses, regroupés sous le terme d'oxylipines. Ces molécules peuvent être impliquées dans les stratégies de résistance des plantes [224, 225]. Cette voie peut être stimulée sous différentes conditions de stress, telles que des dommages mécaniques [226], en réponse au traitement avec l'AS [227], le méthyle jasmonate (MJ) [228] ou certains éliciteurs biotiques [229], tels que les organismes pathogènes [230]. Les lipoxigénases végétales peuvent être impliquées dans la croissance et le développement. La biosynthèse des molécules de contrôle, telles que l'acide jasmonique (AJ) et la traumatine, la biosynthèse des composés volatiles comme l'hexanal et l'hexenol sont impliquées dans l'attraction d'insecte, la défense et la réponse aux blessures et aux stress [224, 231, 232, 225].

Aussi, il a été suggéré que la transmission du signal de l'ISR dépend de la stimulation de la voie de lipoxygénase dans la plante et surtout de l'AJ produit par la voie des oxilipines [232, 233, 234].

1.1.3.5.4 Le « priming » ou « mise en alerte » chez les plantes

Généralement, dans la plante les réponses des défenses cellulaires impliquées dans la résistance induite peuvent ne pas être activées directement, mais seulement mises en alerte pour augmenter leur expression lors de l'infection subséquente par un agent pathogène [235, 236, 237, 238].

Dans le contexte des réactions de défense systémiques, l'interaction avec le microorganisme inducteur ne mène pas toujours directement au renforcement de la défense du végétal. Durant ces dernières années, un concept basé sur la mise en alerte des plantes ou potentialisation (priming) semble t-elle acceptée [239]. Ce phénomène dénommé « priming » a été démontré dans différentes espèces de plantes dans le cadre de la résistance contre les pathogènes (SAR et ISR), les insectes et les stress abiotiques [235, 236, 237, 238]. Cet état induit n'est pas très perceptible du point de vue moléculaire, tant que l'agression par le pathogène n'est pas ressentie; il permet cependant à l'hôte végétal de mettre en place de manière plus rapide et plus structurée les différents mécanismes de défenses et ainsi de répondre de manière plus efficace à une éventuelle agression par des pathogènes ou des insectes mais aussi à divers stress abiotiques [239]. Ce mécanisme permet à la plante de se «préparer» à une infection future sans pour autant engendrer des ressources métaboliques et énergétiques (au détriment des processus cellulaires fondamentaux) alors qu'aucune agression ne doit encore être combattue [240].

Ce phénomène de mise en alerte des réponses de défense n'est pas seulement confiné à la SAR, mais il a été également démontré dans l'ISR stimulée par les PGPR. Le priming a été rapporté pour la première fois chez l'oeillet traité par *Pseudomonas fluorescens* WCS417r chez lequel l'accumulation de phytoalexines n'est exprimée qu'après l'infection par *Fusarium oxysprum* f. sp. *danthi* [217]. De plus, il a été démontré en utilisant des mutants au niveau des principaux gènes de l'ISR, tels que *jar1-1* et *npr1-1* et l'étudié de la capacité des plantes mutantes à convertir l'ACC en éthylène après traitement des racines d'*Arabidopsis* par la souche WCS417r de *P. fluorescens*. Il a été

trouvé que cette bactérie a amorcé les plants pour produire plus d'éthylène juste après l'infection par le pathogène *P. syringae* pv. *tomato* [241]. Egalement l'expression des gènes de défense est induite localement dans les racines colonisées par la souche WCS417r de *P. fluorescens*, mais elle n'est amorcée systématiquement dans les tissus de feuilles qu'après l'infection par un agent pathogène [242].

1.1.3.5.5 Voies de transduction ISR et SAR

Les différents types de résistance systémique induite (ISR) ou acquise (SAR), selon la synthèse des travaux de Van Loon *et al.*, [243] suggèrent l'initiation par des voies de transduction similaires en partie dans les aspects de perception et différentes dans l'activation des séquences génétiques codantes (Figure 1.6).

La reconnaissance de protéines d'avirulence et éventuellement de PAMPs (Pathogen associated molecular patterns), provoque une réponse hypersensible (HR) au niveau du site d'infection; un signal est ensuite transmis à l'ensemble de la plante via une voie dépendante de l'acide salicylique (AS). Ce dernier activerait la protéine SABP2 (SA-binding protein) et provoquerait une modification du potentiel redox dans le cytoplasme. La protéine NPR1 (Non-expressor Pathogenesis-Related Genes) subirait alors un changement de conformation. Des oligomères de NPR1 migreraient dans le noyau où ils s'associeraient avec le facteur de transcription TGA pour initier la transcription des gènes de défense. Dans le cas de l'ISR induite par des rhizobactéries non pathogènes, la reconnaissance des éliciteurs activerait dans la plupart des cas une voie de transduction dépendante de la sensibilité à l'acide jasmonique (AJ) et à l'éthylène (ET). Celle-ci a été mise en évidence via l'étude de mutants (*jar1-* et *etr1-*) qui sont respectivement insensibles au jasmonate et à l'éthylène et incapables de développer l'ISR. La voie de signalisation de l'ISR converge vers celle de la SAR au niveau de la protéine NPR1, également indispensable pour le développement de l'ISR et aboutirait à une mise en alerte de la plante "priming" [243].

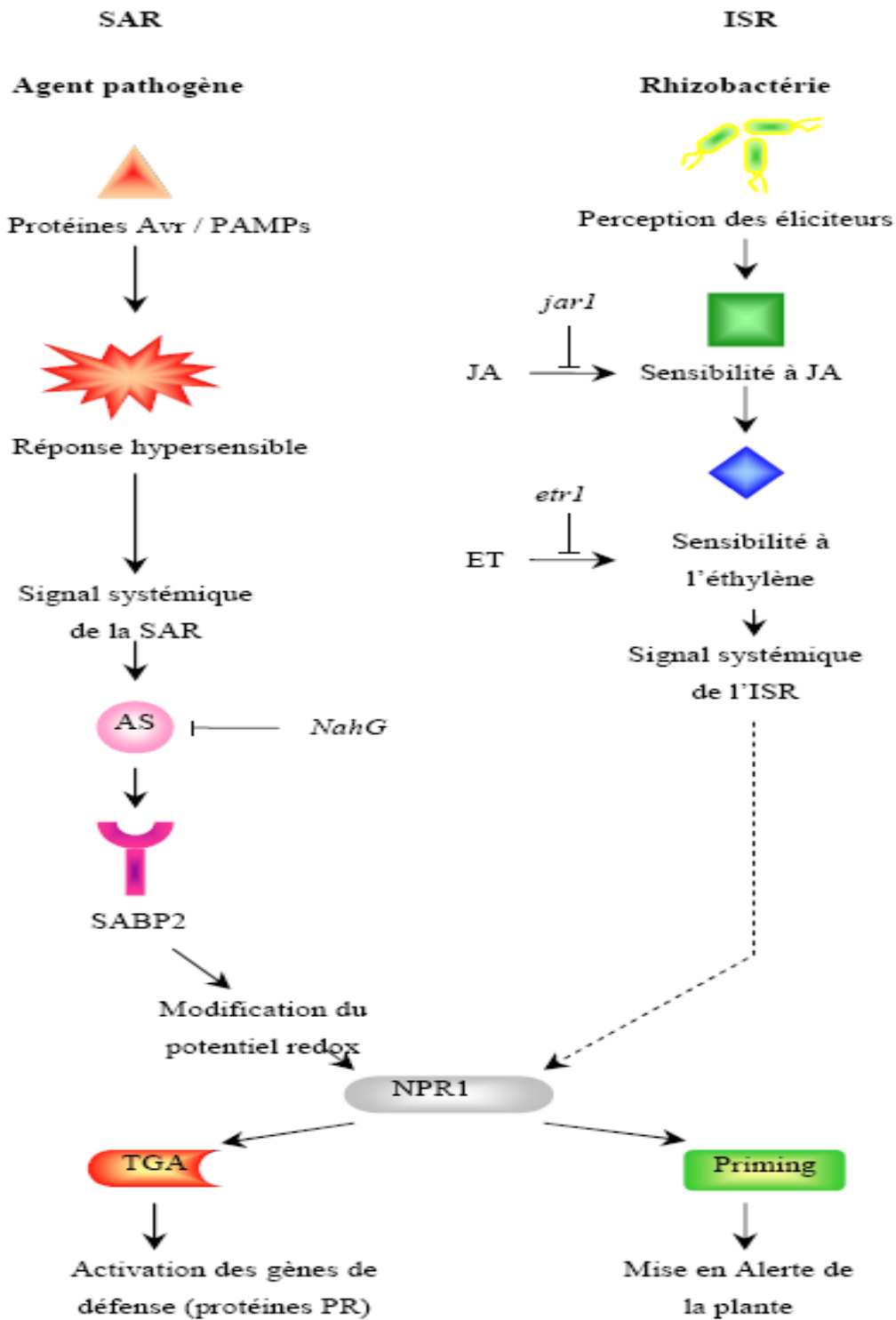


Figure 1.6: Modèle proposé des voies de transduction impliquées dans la résistance systémique induite par un pathogène (SAR) et une rhizobactérie bénéfique (ISR) [243].

CHAPITRE 2

GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE

2.1 Importance de la pomme de terre

2.2 Production de plants

2.2.1 Sélection sanitaire

2.2.2 Production de plants en Algérie

2.2.3 Maladies et ravageurs de la pomme de terre

CHAPITRE 2 GENERALITES SUR LA POMME DE TERRE

2.1 Importance de la pomme de terre

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une plante annuelle, originaire d'Amérique du Sud, cultivée depuis huit mille ans déjà. Arrivée en Europe grâce aux Espagnols au XVI^{ème} siècle, elle a rapidement gagné le reste du globe, grâce à sa valeur nutritive, sa richesse en glucides, en potassium, en fer, en protéines, en fibres, en phosphore et en vitamines B1, B6 et C, avec une combinaison d'acides aminés parfaitement adaptée aux besoins de l'homme. Les deux tiers de la production est consommée fraîche, congelée (frites) ou déshydratée, et entre 5 à 15 % de la récolte est plantée la saison suivante. Le reste sert à nourrir les animaux domestiques, à fabriquer des colles, des emballages et des enrobages de médicaments. Les déchets sont récupérés et transformés en éthanol [1].

Ces dernières années, les superficies cultivées en pomme de terre, à travers le monde, ont enregistré des évolutions très remarquables pour atteindre plus de 19 millions d'hectares récoltables, assurant une production durant l'année 2007 de plus de 321 millions de tonnes, soit un rendement théorique de 16,64 t/ha [1]. La maîtrise des techniques de conduite de cette culture, et le recours aux moyens de production modernisés font que les rendements sont très hétérogènes entre les pays producteurs; à titre d'exemple en Amérique du Nord le rendement moyen est de 36,79 t/ha, alors qu'il est de 10,86 t/ha en Afrique et de 15,69 t/ha en Asie (Tableau 2.3).

La production mondiale a évolué entre 1991 et 2007 avec une proportion de plus de 26,51%. Durant cette période nous notons la régression du volume produit en pays développés et une nette progression dans les pays en voie de développement (Tableau 2.1, Figure 2.1). Donc, la production et la demande de pomme de terre ont enregistré une forte croissance en Asie, en Afrique et en Amérique Latine où la production est passée de moins de 30 millions de tonnes, au début des années 60, à 165 millions de tonnes en 2007 (Tableau 2.3). A partir de 2005, le volume de production des pays en voie de développement a dépassé celui des pays développés, grâce à la Chine considérée

comme le premier pays producteur de pomme de terre dans le monde avec approximativement un tiers de la production mondiale (Tableau 2.2).

Tableau 2.1: Production mondiale en pommes de terre 1991-2007 (millions de tonnes) [1].

	1991	1993	1995	1997	1999	2001	2003	2005	2007
Pays développés	183,13	199,31	177,47	174,63	165,93	166,94	160,97	159,99	155,56
Pays en développement	84,86	101,95	108,50	128,72	135,15	145,92	152,11	160,12	165,15
MONDE	267,99	301,27	285,97	303,36	301,08	312,86	313,09	320,11	320,71

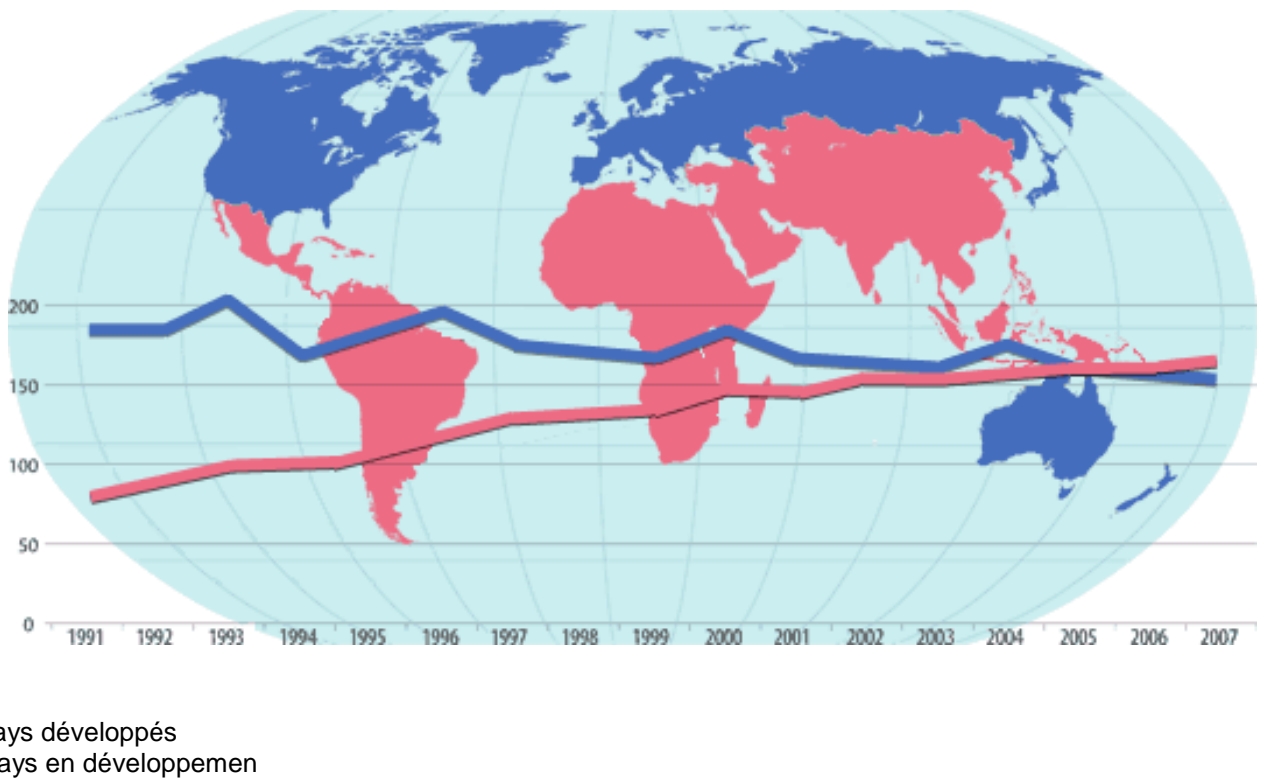


Figure 2.1: Production mondiale de pommes de terre (1991-2007) [1].

Tableau 2.2: Principaux pays producteurs de pommes de terre (2006-2007) [1],





















Quantité (t), 2007		kg/habitant, 2006	
1.  Chine	72 000 000	1.  Biélorus	835,6
2.  Féd. de Russie	36 784 200	2.  Pays-Bas	415,1
3.  Inde	26 280 000	3.  Ukraine	414,8
4.  Ukraine	19 102 300	4.  Danemark	291,1
5.  Etats-Unis	17 653 920	5.  Lettonie	286,0
6.  Allemagne	11 604 500	6.  Pologne	271,5
7.  Pologne	11 221 100	7.  Belgique	267,4
8.  Biélorus	8 744 000	8.  Lituanie	261,2
9.  Pays-Bas	7 200 000	9.  Féd. de Russie	259,0
10.  France	6 271 000	10.  Kirghizistan	219,4

Tableau 2.3: Production de pommes de terre, par région (2007) [1].

	Surface récoltée hectares	Quantité tonnes	Rendement tonnes/hectare
Afrique	1 502 695	16 323 530	10,86
Asie et Océanie	8 744 049	137 226 926	15,69
Europe	7 492 010	129 395 767	17,27
Amérique latine	971 935	16 124 302	16,58
Amérique du Nord	614 972	22 625 958	36,79
MONDE	19 325 661	321 696 483	16,64

Selon les statistiques publiées par la FAO [1], la production mondiale en pomme de terre a dépassé le seuil de 218 millions de tonnes, assurant ainsi un niveau de consommation théorique de l'ordre de 33,68 Kg/habitant. En se basant sur la densité populationnelle et le potentiel productif de chaque région, le niveau de consommation annuelle par habitant devient très disparate. Ainsi, l'européen consomme plus de pomme de terre avec une moyenne de 96,15 Kg/habitant, suivi des habitants de l'Amérique du Nord (57,94 Kg/habitant), ceux de l'Amérique latine, de l'Asie et de l'Océanie avec une moyenne variant de 23 à 26 Kg/habitant et enfin les africains avec seulement 14,18 Kg/habitant (Tableau 2.2).

Tableau 2.4: Consommation de pommes de terre, par région (2005) [1].

	Population	Consommation	
		Total denrées alimentaires (t)	kg/habitant
Afrique	905 937 000	12 850 000	14,18
Asie et Océanie	3 938 469 000	101 756 000	25,83
Europe	739 276 000	71 087 000	96,15
Amérique latine	561 344 000	13 280 000	23,65
Amérique du Nord	330 608 000	19 156 000	57,94
MONDE	6 475 634 000	218 129 000	33,68

2.2 Production de plants

En principe, Il y a trois méthodes possibles pour multiplier la pomme de terre au champ [244]: **(i)** par semis de graines, **(ii)** par boutures de tiges et **(iii)** par plantation de tubercules. Seule cette dernière technique est utilisée dans la pratique courante de la production des plants.

- (i)** L'utilisation de graines, dont chacune est génétiquement différente de l'autre, entraîne une hétérogénéité entre les plants et une récolte de tubercules disparates incompatible avec les exigences du marché. De plus, la levée donne souvent des tiges grêles avec un allongement du cycle végétatif (3 à 5 semaines en plus).
- (ii)** La plantation de boutures de tiges est théoriquement possible en plein champ, mais sa réalisation complexe la rend inexploitable et coûteuse.
- (iii)** Le tubercule n'est pas seulement un organe de réserve, c'est aussi un organe de multiplication végétative. Le tubercule est capable de se conserver dans et hors du sol, de bourgeonner en germes et d'engendrer des cultures vigoureuses et homogènes.

Le tubercule est un milieu très favorable au maintien et au développement des organismes parasites, virus, bactéries et champignons qui sont ainsi transmis à la descendance; les virus restent les organismes les plus difficiles à combattre. La plupart, en effet, ne provoque pas de symptômes sur les tubercules et ne permettent donc pas le tri-préalable des semences: ils circulent dans la sève et se multiplient dans le feuillage en provoquant des déformations (mosaïque, frisolée, enrroulement... etc) et la contamination des plantes saines [244].

Les techniques modernes de production de pommes de terre "de semences" sont mises à contribution pour accroître les volumes, dans le but de satisfaire la demande de plus en plus grandissante en semences et en plants en utilisant des vitroplants, des microtubercules, des minitubercules, des tubercules ainsi que la culture en hydroponie [245].

En comparaison avec le schéma classique de production, la sélection généalogique classique, les techniques *in vitro* assurent des avantages notables en termes de gains de temps et dans le volume de production. En effet, dans le cas des minitubercules et de la vitroculture les périodes nécessaires pour l'obtention de plants certifiés de classes "A" et "B" sont respectivement de 6 et 7 ans, alors que classiquement cette période est de 11 à 12 ans (Figure 2.2). En outre, les gains dans les quantités sont incomparables, en raison des espaces réduits sollicités par les techniques de vitroculture par rapport au champ.

2.2.1 Sélection sanitaire

La sélection sanitaire, dont le but est de maintenir les maladies à un seuil tel que défini par les normes phytosanitaires, peut donc s'exprimer très simplement à partir d'un matériel sain et le maintenir en l'état. La production du matériel de départ, par la production *in vitro* de boutures, permettra d'augmenter le taux de multiplication avec un minimum de risques de contamination. Les boutures sont issues des apex de germes de tubercules indexés et testés; elles sont d'abord cultivées sur milieu gélosé enrichi en éléments minéraux puis sont multipliées pour produire la génération de tubercules "B0" [244, 246], en faisant intervenir d'une part des éléments d'aseptie et d'autre part en impliquant la mise en place d'un environnement parfaitement contrôlé [247]. Cette vitromultiplication se poursuit jusqu'à obtenir le nombre désiré de boutures. Le dernier repiquage s'effectue hors des tubes, d'abord dans un substrat horticole, pour l'élevage en serre et la replantation sous abri insect-proof. Les plantes ainsi obtenues donnent la génération de tubercules "B1" (Figure 2.3) [244, 245]. La multiplication *in vitro* offre une autre possibilité, celle de faire tubériser directement les plantules en tubes ou dans d'autres types de conteneurs; on obtient ainsi des microtubercules, appelés aussi vitrotubercules. Ces derniers comme les autres tubercules sont le siège d'une dormance d'une durée, généralement, de six mois avant leur utilisation [244, 248].

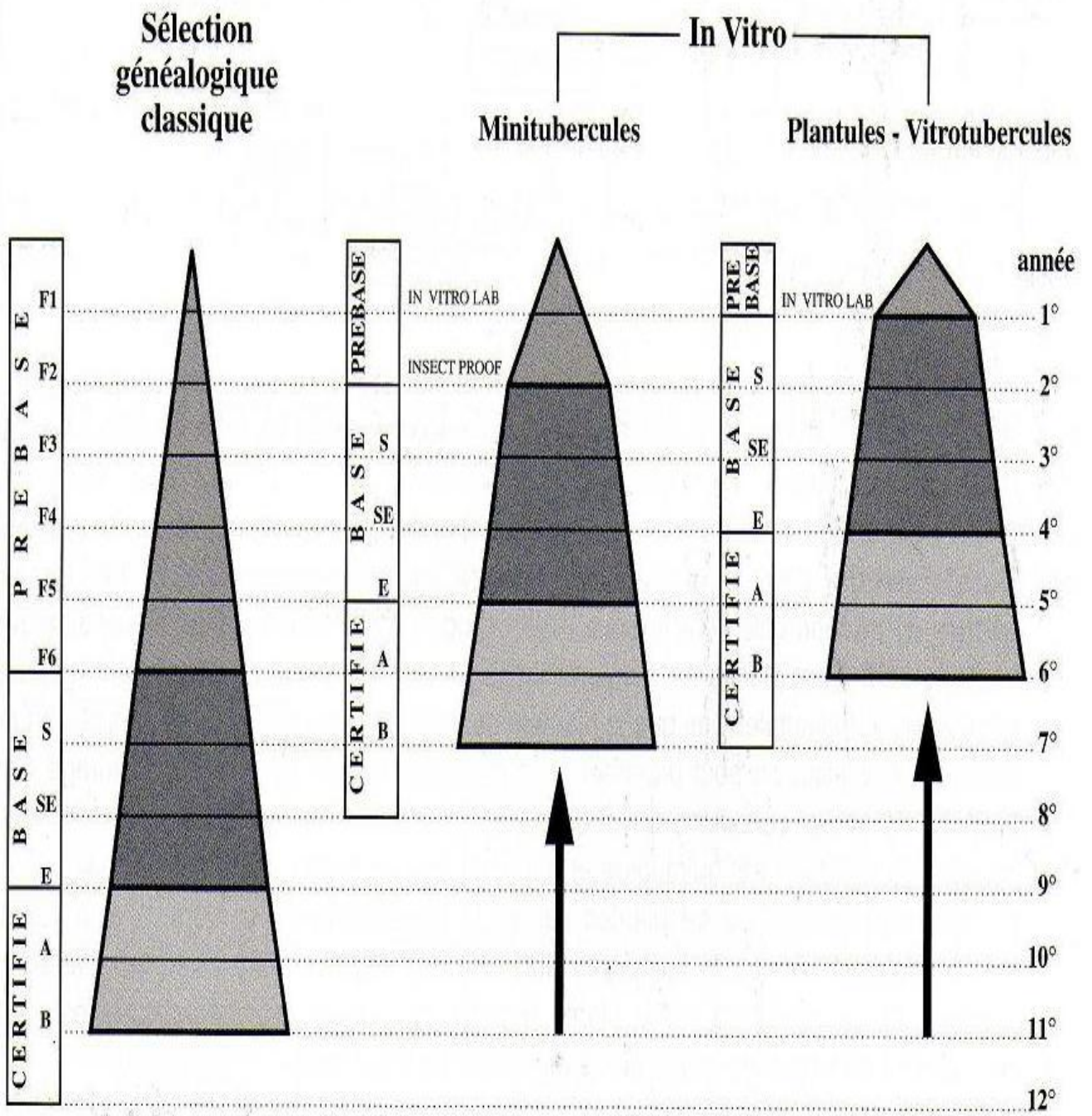


Figure 2.2: Schéma comparatif de production de plants de pomme de terre: classique et vitroculture[245].

La vérification de l'état sanitaire, avant certification, permet de s'assurer du bon état sanitaire des lots aux différents stades de la multiplication et de ne conserver que les meilleurs "sains et de bonne vigueur" pour la replantation; elle se fait à deux niveaux [249]:

1. Au champ, des notations sont effectuées, par des techniciens spécialisés, à raison de trois au minimum pour les plants de base et de deux pour la classe "A". L'état sanitaire de la parcelle ainsi contrôlée permettra, en cas de dépassement des normes fixés par la législation, de déclasser le matériel inspecté (Appendice B).
2. Les notations doivent être complétées éventuellement par des tests de laboratoire et en préculture.

L'estimation des taux d'infection de viroses se réalise soit visuellement pour le cas des plants certifiés, soit au laboratoire par des tests DAS-ELISA particulièrement pour les six virus (PLRV, PVY, PVA, PVS, PVX et PVM) pour les plants de pré-base; et pour trois virus (PLRV, PVY, PVX) chez les plants de base. Ceci n'exclut pas d'effectuer des contrôles à la demande, pour des variétés à faibles symptômes ou pour des besoins spécifiques [250, 249, 251].

2.2.2 Production de plants en Algérie

La multiplication de semences de pomme de terre en Algérie se réalise généralement selon la méthode traditionnelle, c'est-à-dire par tubercules de base Super-Elite "SE", importés afin de produire des plants de classe élite "E" et certifiés (classes "A" et "B"). Parmi les tâches assignées à la société SAGRODEV-SPA, situé à Guellal (Sétif), est d'améliorer ce schéma classique en introduisant dans le cycle de production des semences pré-base, obtenues par vitropropagation selon cinq étapes :

- La première étape consiste en la production au laboratoire de vitro-plants,
- La deuxième étape se limite à la production sous serre « insect proof » de minitubercules,
- Quant aux trois autres étapes suivantes, elles se réalisent au champ, par multiplications successives à partir de mini-tubercules pour obtenir des semences de classe super-élite "SE", de classe élite "E" et de classe "A". Il est à noter que parfois il y a lieu de production de plants de classe "B".

De plus, avec la création du CNCC (Centre National de Contrôle et de Certification) situé à El-Harrach (Alger), le schéma a été standardisé avec l'interdiction des recyclages, en exigeant des inspections périodiques des plantations au champ, l'inspection des tubercules après la récolte, l'évaluation diagnostique de l'état sanitaire des tubercules, ainsi que l'octroi de certificat pour chaque classe.

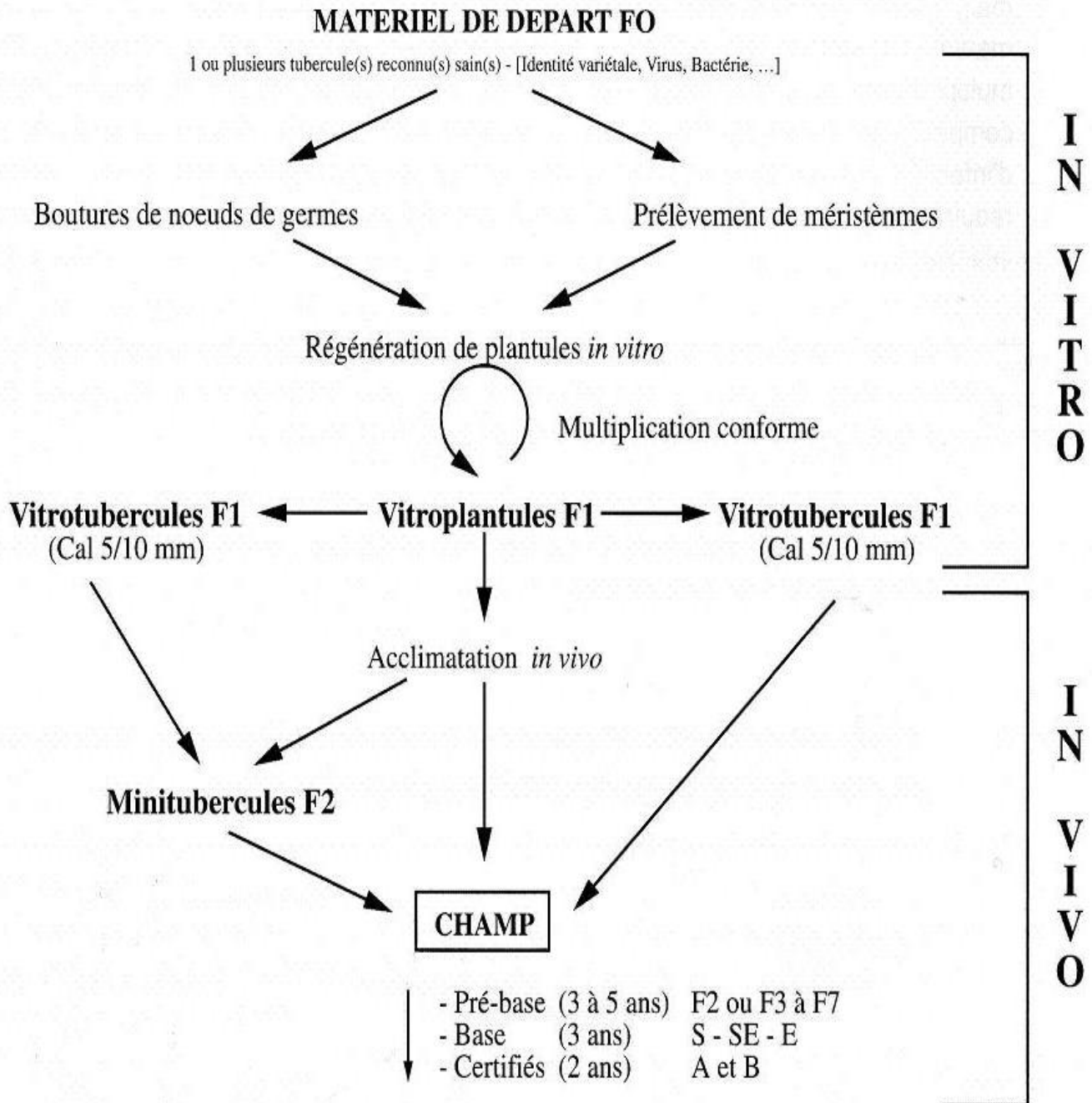


Figure 2.3: Possibilités de production in vitro de la pomme de terre [245].

2.2.3 Maladies et ravageurs de la pomme de terre

La pomme de terre est un hôte convoité par divers pathogènes (Tableau 2.5) et ravageurs (Tableau 2.6) qui affectent toutes les parties de la plante et causant des réductions qualitatives et quantitatives sur les rendements. Ce cortège de phytopathogènes, de diverses catégories: virus, viroïdes, bactéries et champignons, peut causer des affections sur toute ou des parties de la plante ; de plus, diverses maladies peuvent apparaître ou continuer à se développer sur les tubercules pendant leur conservation [252, 253].

Les virus sont parmi les pathogènes majeurs des plantes cultivées; en raison de leur dépendance des cellules hôtes, il est difficile de les détruire sans courir le risque d'endommager les plantes hôtes. Les moyens de lutte sont donc essentiellement préventifs: sélection sanitaire de semences, utilisation de variétés résistantes, assainissement de plantes infectées par thermothérapie ou culture de méristèmes. Certains génotypes possèdent des gènes de résistances vis à vis de certains virus, mais ces caractères sont extrêmement longs à être introduits dans d'autres lignées par les voies classiques de croisement et d'hybridation.

La pomme de terre peut être attaquée par un nombre important de virus, environ 40 virus virulents [254], plus on trouve ceux qui causent des maladies dites de dégénérescence: le virus de l'enroulement, le virus Y, le virus X, Le virus A, les virus latents S et M [256]. Parmi ces virus, le PVY et le PLRV sont considérés économiquement plus dommageables que les autres. Notre étude se concentre plus sur le PVY, objet de notre expérimentation dans l'essai de l'induction de la résistance systémique (ISR).

2.2.3.1 Virus Y de la pomme de terre (Potato Virus Y)

Le virus Y de la pomme de terre (PVY) est l'organisme typique du groupe potyvirus et la famille des Potyviridae. Les potyvirus forment le groupe le plus important, ils représentent environ le tiers des phytovirus et sont capables d'infecter plus de 30 familles de plantes [256, 257].

Tableau 2.5: Source des maladies de la pomme de terre et leur source de résistance [253]

Pathogènes	Source de résistance
Virus	
Alfalfa mosaic virus (AMV)	<i>Solanum palustre</i>
Andean potato latent virus	<i>S. palustre</i>
Cucumber mosaic virus (CMV)	<i>Solanum fernandezianum, Solanum stoloniferum</i>
Henbane mosaic virus	<i>S. stoloniferum</i>
Potato leaf roll virus (PLRV)	<i>Solanum chacoense, S. fernandezianum, S. palustre, Solanum sparsipilum, Solanum spegazzinii</i>
Potato virus A (PVA)	<i>Solanum polyadenium</i>
Potato virus M (PVM)	<i>S. palustre, S. sparsipilum</i>
Potato virus S (PVS)	<i>S. palustre</i>
Potato virus V (PVV)	<i>Solanum maglia</i>
Potato virus X (PVX)	<i>Solanum acaule, Solanum commersonii, Solanum lesteri, Solanum marinasense, Solanum oplocense, S. palustre, S. sparsipilum</i>
Potato virus Y (PVY)	<i>S. acaule, Solanum achacachense, Solanum acroscopicum, Solanum ambosinum, Solanum arnezii, S. chacoense, Solanum doddsii, S.fernandezianum, Solanum megistacrolobum, S. palustre, S. polyadenium, Solanum polytrichon, S. sparsipilum, S. stoloniferum, Solanum sucrense, Solanum tarnii, Solanum trifidum</i>
Potato-yellowing virus	<i>S. palustre</i>
Tobacco etch virus	<i>S. commersonii</i>
Bacteries	
<i>Clavibacter michiganensis</i>	<i>S. acaule, Solanum phureja, Solanum sanctae-rosae, Solanum stenotomum, Solanum verrucosum</i>
<i>Erwinia carotovora/ Erwinia chrysanthemi</i>	<i>Solanum bukasovii, Solanum bulbocastanum, Solanum circaeifolium, Solanum demissum, S. marinasense, S. phureja, S. stoloniferum, S. Tarijense</i>
Streptomyces	<i>scabies Solanum boliviense, S. bukasovii, Solanum canasense, Solanum multidissectum</i>
champignons	
<i>Fusarium sambucinum</i>	<i>S. boliviense, Solanum fendleri, Solanum gandarillasii, Solanum gourlayi, Solanum kurtzianum, Solanum microdontum, S. oplocense, S. sanctae-rosae, Solanum vidaurrei</i>
<i>Helminthosporium solani</i>	<i>Solanum albicans, S. chacoense, S. demissum, S. oplocense, Solanum oxycarpum, S. stoloniferum</i>
<i>Verticillium albo-atrum</i>	<i>S. chacoense</i>
<i>Verticillium dahliae</i>	<i>Solanum berthaultii, S. chacoense, S. commersonii, S. phureja, Solanum raphanifolium, S. sparsipilum, S. tarijense</i>
Oomycete	<i>S. ambosinum, S. berthaultii, Solanum brachycarpum, S. bulbocastanum, Solanum cardiophyllum, S. chacoense,</i>

Tableau 2.6: Source des ravageurs de la pomme de terre et leur source de résistance [253]

Ravageurs	Source de résistance
Nématodes	
Globodera pallida	<i>S. acaule</i> , <i>Solanum brevicaule</i> , <i>S. sparsipilum</i>
Meloidogyne arenaria	<i>S. chacoense</i>
Meloidogyne chitwoodi	<i>S. acaule</i> , <i>Solanum andreanum</i> , <i>S. boliviense</i> , <i>S. bulbocastanum</i> , <i>S. fendleri</i> , <i>Solanum hougasii</i>
Meloidogyne hapla	<i>S. bulbocastanum</i> , <i>S. chacoense</i>
Meloidogyne incognita	<i>S. chacoense</i>
Meloidogyne javanica	<i>S. chacoense</i> , <i>S. commersonii</i> , <i>S. tarijense</i>
Insectes	
Empoasca fabae	<i>S. berthaultii</i>
Leptinotarsa decemlineata	<i>S. berthaultii</i> , <i>S. chacoense</i> , <i>S. circaefolium</i> , <i>Solanum jamesii</i> , <i>Solanum neocardenasii</i> , <i>Solanum okadae</i> , <i>S. oplocense</i> , <i>S. pinnatisectum</i> , <i>S. polyadenium</i> , <i>S. tarijense</i> , <i>S. trifidum</i>
Myzus persicae	<i>S. berthaultii</i> , <i>S. bukasovii</i> , <i>S. bulbocastanum</i> , <i>Solanum chiquidenum</i> , <i>Solanum chomatophilum</i> , <i>S. circaefolium</i> , <i>Solanum etuberosum</i> , <i>S. trifidum</i>
Phthorimaea operculella	<i>S. berthaultii</i>
Thrips palmi	<i>S. chacoense</i>

2.2.3.1.1 Structure génomique des potyvirus

Les potyvirus ont une structure filamenteuse non-enveloppée de 680 à 900 nm de long et de 11 à 15 nm de large (Figure 2.4 A) [258, 259, 260]. Le génome viral est constitué d'un ARN simple brin sens, d'une longueur approximative de 10 kb, qui possède à son extrémité 3' une terminaison poly A et se lie à l'extrémité 5' à une protéine virale appelée VPg "Viral Protein genome-linked" (Figure 2.4 B). L'ARN viral code pour une polyprotéine maturée en 10 protéines fonctionnelles impliquées dans les différentes étapes du cycle infectieux (Figure 2.4 C): clivage de la polyprotéine, réplication du génome viral, mouvement de cellule-à-cellule, mouvement longue distance, transmission par pucerons et inhibition du « RNA silencing », etc... [256]. L'ARN des potyvirus, comme celui des autres phytovirus de type *Picornia* associés (népovirus et comovirus), est traduit en un polypeptide qui est ensuite mûri par clivage protéolytique pour exprimer les protéines virales [259].

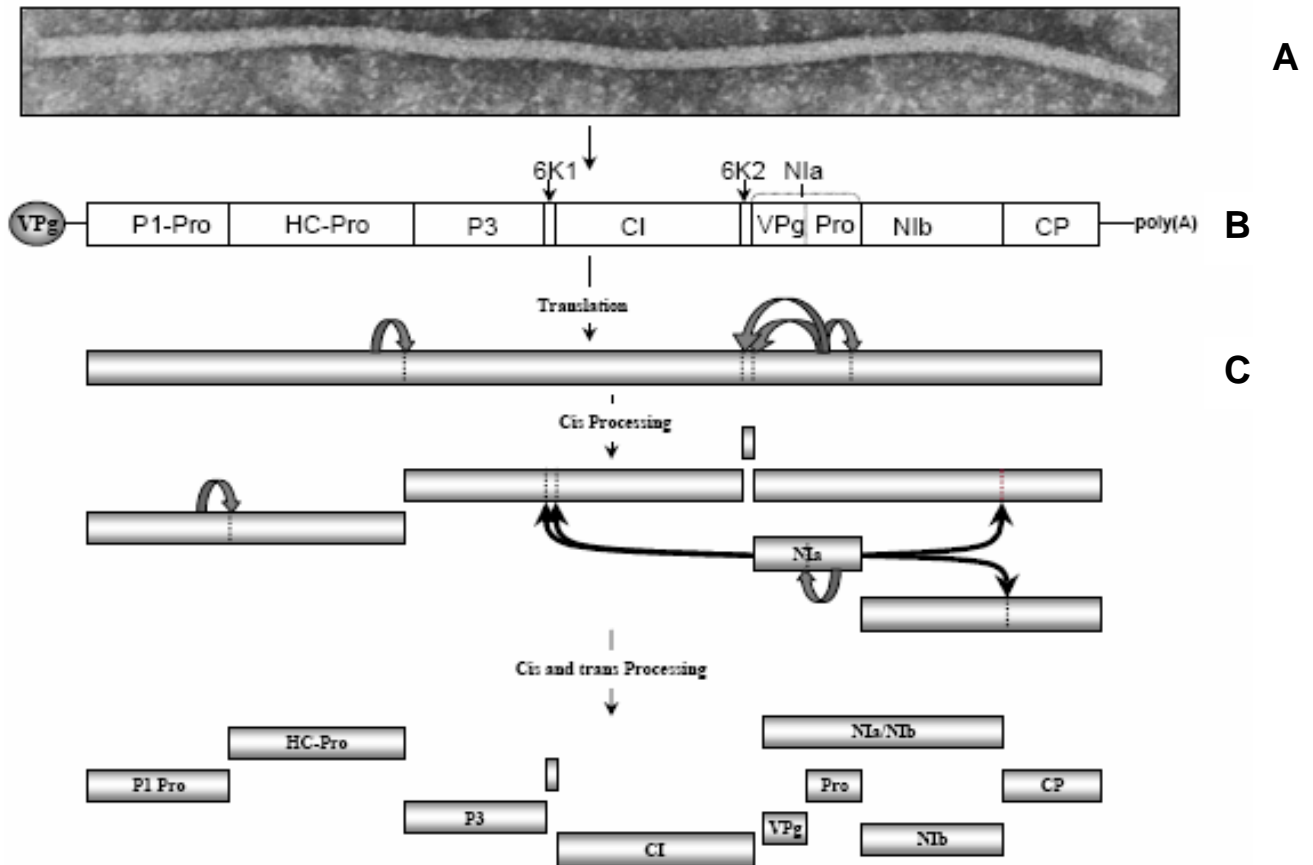


Figure 2.4 : Structure du génome viral des potyvirus [256].

2.2.3.1.2 Variabilité des souches de PVY

Le PVY est l'un des pathogènes les plus importants des plantes du point de vue économique [261, 256, 262], car il parasite de nombreuses solanacées d'intérêt agronomique, comme le tabac, la tomate, le poivron et en particulier la pomme de terre [263, 264]. Chez cette dernière, les rendements peuvent être diminués de 10 à 80 % selon la souche virale, le cultivar et la période d'infection. Une infection précoce du tabac peut induire une perte de rendement d'environ 30 %. La maladie des nécroses des nervures, causée par la souche N sur certaines variétés de tabac, peut entraîner une perte totale de la récolte en cette plante. [265].

Selon l'hôte, l'origine de leur isolement, les isolats de PVY se classent en quatre souches différentes, correspondant aux souches de pomme de terre, de piment, de tabac ou de tomate. Au sein de la souche de pomme de terre, les isolats se caractérisent sur la

base de leurs propriétés biologiques (symptômes et réponses à différentes sources de résistance). Cette caractérisation a permis de définir différents groupes de souches de ce virus. Ainsi, trois groupes chez la pomme de terre ont été identifiés, qui sont définis par le caractère systémique ou local des symptômes induits sur *Nicotiana tabacum* et sur *Solanum tuberosum*:

- PVY^O (o=old) [266]: Les isolats PVY^O induisent seulement des symptômes de marbrure et de mosaïque sur tabac, une mosaïque légère à grave et une chute des feuilles sur pomme de terre [267, 268].
- PVY^C (stipple-streak strains: Souches à stries nécrotiques en pointillés) [263]. Les isolats PVY^C induisent des symptômes de stries nécrotiques sur certains cultivars de pomme de terre [2, 270].
- PVY^N (n=new ou necrotic) [271]: Les isolats du groupe PVY^N induisent une nécrose des nervures sur les feuilles de *N. tabacum* cv. xanthi et une très légère marbrure, avec rarement des feuilles nécrotiques sur pomme de terre [272].

Les isolats PVY^N et PVY^O sont responsables d'importantes pertes allant jusqu'à 40-70 % dans le cas des pommes de terre. Ainsi, la détection et l'identification efficace des isolats nécrotiques de PVY et non nécrotiques dans les cultures de pomme de terre constituent un problème majeur pour les producteurs [273].

La caractérisation des isolats de PVY issus de pomme de terre, tout d'abord, repose sur des tests biologiques; cependant, une telle approche prend à la fois du temps et de l'espace et n'est pas facilement adaptable que ce soit pour un diagnostic rapide ou pour un test à grande échelle. Pour répondre à des finalités d'un test fiable et rapide, des tests immuno-enzymatiques en sandwich à double ou triple anticorps (DAS- ou TAS-ELISA), utilisant des anticorps polyclonaux et/ou monoclonaux s'avèrent plus que nécessaire [274, 275, 277, 278, 279]. D'autres approches peuvent être sollicitées, telles que l'approche immuno-microscopie électronique [280] ou par agglutination au latex [281].

Globalement, aucun de ces tests ne s'est avéré capable de discriminer les isolats pouvant ou non d'induire des nécroses [283, 283, 284]. L'émergence de nouveaux variants de PVY^N, incluant les isolats PVY^{NTN} (NTN pour new tuber necrosis : nécrose en tache annulaire sur tubercule) [285, 286, 287] et les isolats PVY^N-W [288] a mis en défaut les limites sérologiques disponibles. En effet, les anticorps monoclonaux et/ou polyclonaux

spécifiques de PVY placent les isolats PVY^N-W (N=new ou necrotic) dans le groupe PVY⁰. A la différence d'autres groupes de souches, la souche "NTN" peut constituer un problème important dans certaines régions dans la mesure où elle déprécie fortement l'aspect des tubercules commercialisés. De plus, les outils sérologiques ne sont pas en mesure de faire la distinction entre les isolats PVY^{N™} et les isolats PVY^N [289].

En complément des outils sérologiques décrit ci-dessus, des tests moléculaires ont été développés par différentes équipes, mais qui ne sont pas en mesure de caractériser précisément les isolats de PVY inducteurs de nécroses. Pour résoudre ce problème, des outils moléculaires plus rapides, fiables et plus spécifique pour la détection de ce type de virus ont été développés. En d'autres termes, l'invention apporte un test permettant une telle discrimination entre les différents isolats et plus particulièrement une détection très sensible des PVY, selon leurs différentes propriétés biologiques (par exemple, nécrose (Y^N) ou marbrure (Y⁰)) liées aux propriétés biologiques réelles utilisées dans la classification du PVY [290].

Le diagnostic dans de telles situations fait appel aux techniques génomiques directes, utilisant les produits d'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) et la recherche d'éventuels marqueurs moléculaires associés directement à la virulence.

2.2.3.1.3 Transmission et stratégies de lutte

La transmission de PVY, comme les autres potyvirus, se réalise souvent par les pucerons (*Myzus persicae*...etc) selon le mode non-persistant. [291]. L'infection provoque des anomalies de coloration des feuilles (mosaïques, jaunissement des nervures), des déformations foliaires (frisolées), des nécroses nervaires pouvant conduire à la nécrose de la plante entière; et donc à une réduction importante de la taille de la plante malade et une perte de productivité (Figure 2.5).

Le virus PVY peut induire sur les tubercules de certaines variétés des nécrosés internes ou externes qui apparaissent au moment de la récolte, ou en cours de conservation (Figure 2.5) [292]. Les fleurs, les graines et les fruits sont aussi affectés par de nombreux potyvirus, ce qui a pour conséquence une réduction de leur fertilité et leur implication dans la transmission.

En fait, les réactions dépendant du type de souche virales de la variété, du caractère de l'attaque primaire ou secondaire de l'infection, ainsi que des conditions de l'environnement [252]. Le virus peut simplement se transmettre via la descendance d'une plante infectée (transmission verticale); ainsi les tubercules récoltés sur un plant infecté par PVY sont généralement tous contaminés; une fois replantés la nouvelle plante sera porteuse de l'infection. Ce mode de dissémination est efficacement combattu par la mise en place de systèmes de production de semences ou de plants strictement contrôlés, dans lesquels l'élimination de lots des plants porteurs d'une infection dépassant les normes admises constitue une règle de base [244]. La seconde stratégie de dissémination par vexion est celle où le virus passe d'une plante à l'autre grâce à des vecteurs (transmission dite horizontale) [293].

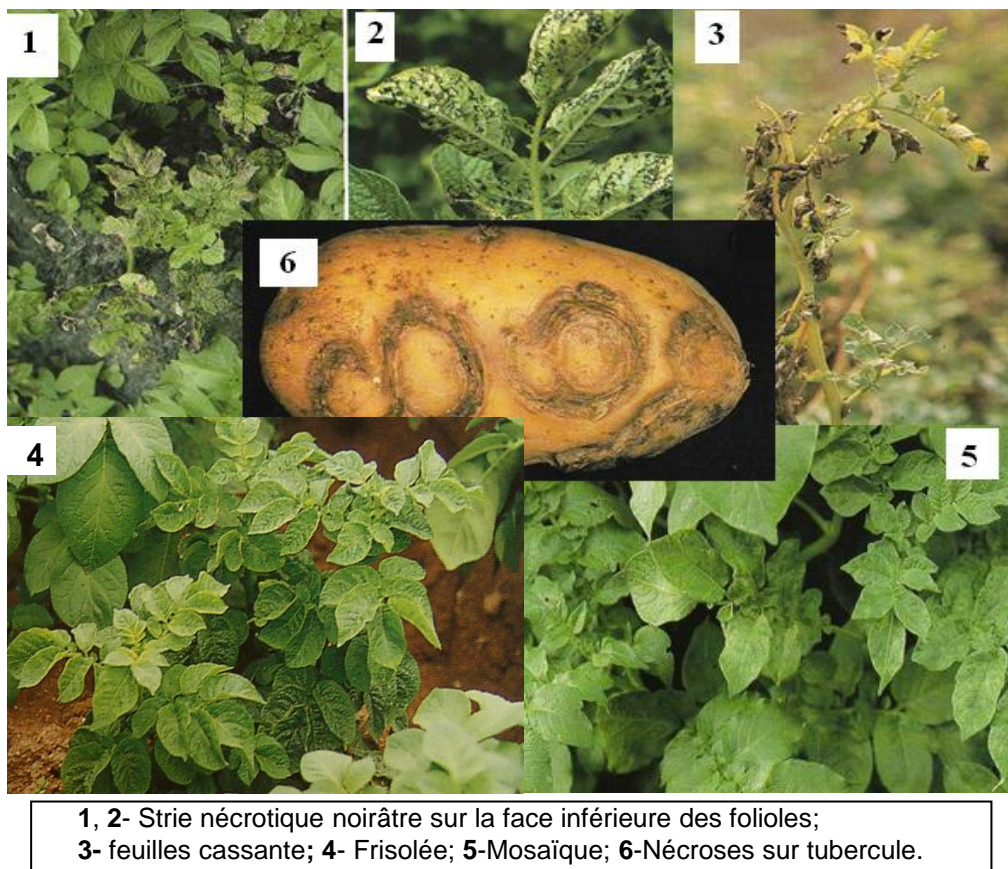


Figure 2.5 : Symptômes de virus Y de la pomme de terre (PVY) [249].

La lutte contre ce second type de dissémination repose essentiellement sur la mise en œuvre de techniques ou pratiques culturales visant à empêcher la réalisation de ce transfert. Il s'agira de supprimer ou de limiter les sources de virus grâce à la plantation de

lots de tubercules sains dans un environnement où elles sont absentes ou de les éliminer, grâce à des épurations, réalisées précocement dès la levée des cultures. Il s'agira également d'implanter les parcelles de multiplication dans des régions où les vecteurs ne sont pas nombreux ou de les éliminer par l'emploi de substances actives. L'utilisation combinée de ces techniques permet généralement l'obtention de lots de plants possédant une qualité virologique satisfaisante.

Contrairement aux infections fongiques ou bactériennes, où les moyens de lutte sont directs, contre les virus, ils sont quasiment inexistantes. L'élimination et la sélection de cultivars résistants aux virus, les plus fréquents dans la zone de culture, restent les stratégies les plus préconisées. En raison de l'internationalisation du marché semencier, il est de plus en plus indispensable pour les sélectionneurs de créer des variétés multi-résistantes [294].

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

- 3.1 Présentation des expérimentations
- 3.2 Isolats bactériens
- 3.3 Essais de phytostimulation de vitroplants
 - 3.3.1 Obtention de vitroplants
 - 3.3.2 Contrôle virologique par DAS- ELISA
 - 3.3.3 Test DAS- ELISA
 - 3.3.4 Bactérisation
 - 3.3.5 Dispositif expérimental
 - 3.3.6 Analyse statistique
 - 3.3.7 Paramètres étudiés
- 3.4 Essais de phytostimulation de plants issus de tubercules
 - 3.4.1 Origine des tubercules
 - 3.4.2 Sol
 - 3.4.3 Bactérisation
 - 3.4.4 Dispositif expérimental
 - 3.4.5 Paramètres étudiés
 - 3.4.6 Analyse statistique
 - 3.4.7 Test de viabilité des bactéries
- 3.5 Essai de l'induction systémique de la résistance (ISR)
 - 3.5.1 Les tubercules de pomme de terre
 - 3.5.2 Sol
 - 3.5.3 Bactérisation
 - 3.5.4 Préparation de l'inoculum viral
 - 3.5.5 Inoculation mécanique
 - 3.5.6 Dispositif expérimental
 - 3.5.7 Paramètres étudiés
 - 3.5.8 Test de viabilité
 - 3.5.9 Test de préculture

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

3.1 Présentation des expérimentations

Les expérimentations ont été réalisées en trois étapes indépendantes, pour la mise en évidence des effets bénéfiques de souches de *Pseudomonas fluorescens* associées à la biotisation de la pomme de terre:

- 1) Essais de phytostimulation de vitroplants,
- 2) Essais de phytostimulation de plants issus de tubercules,
- 3) Induction de la résistance systémique chez des plants de pomme de terre vis-à-vis du PVY (Potato virus Y).

3.2 Isolats bactériens

Les souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* utilisées dans notre travail, font partie de la collection microbienne du laboratoire de phytopathologie (Département d'Agronomie, Université Saad Dahlab – Blida). Ces souches ont été isolées à partir de rhizosphères de quelques arbres fruitiers à noyaux, du palmier dattier et du tabac (Tableau 3.1). La souche CHAO est utilisée à titre de souche de référence internationale [129, 295].

La pureté des souches bactériennes à été vérifiée sur le milieu B de King [296] (Appendice C) et conservées à 4°C.

Tableau 3.1 : Origine des souches de *Pseudomonas fluorescens*.

Souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Origine végétale	Origine géographique	Année d'isolement	Observations
P64	Rhizosphère de l'abricotier	(Mitidja - Blida)	1996	Collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida.
S20	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)	2001	Collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida.
CHAO	Rhizosphère du tabac	Suisse	1986	Envoi du Pr.K. Keel laboratoire de phytomédecine, Zurich, Suisse).

3.3 Essais de phytostimulation de vitroplants

3.3.1 Obtention de vitroplants

Après lavage à l'eau courante et leur désinfection par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (6°) pendant 20 min suivi d'un rinçage, les tubercules séchées ont été mis en prégermination à 20°C. A partir de tubercules prégermés, des apex de germes de 2-3 mm ont été découpés aseptiquement et désinfectés avec la solution de Javex (5 ml de l'eau de Javel + 2 ml de tween 20). Après trois lavages successifs à l'eau distillée stérile et séchage sur papier absorbant stérile, les fragments d'apex sont mis en culture sur le milieu Murashige et Skoog (MS) [297] (Appendice C) en tubes à essai (Pyrex 150 x 24 mm) et déposés en chambre de culture à 22°C (photopériode de 16 h de lumière, 8 h d'obscurité).

3.3.2 Contrôle virologique par DAS- ELISA

Lors de la première micropropagation, les microboutures de la partie médiane du vitroplant ont été réservées pour effectuer le contrôle sérologique des cinq virus de la pomme de terre recommandés par la législation, à savoir: le virus de l'enroulement (PLRV:

Potato Leaf Roll Virus), le virus Y (PVY: Potato Virus Y), le virus A (PVA: Potato Virus A), le virus X (PVX: Potato Virus X) et le virus S (PVS: Potato Virus S).

Les vitroplants "F₁" indemnes d'infections virales ont été multipliés par microbouturage avec un coefficient de multiplication de 5 sur le milieu MS, dans les mêmes conditions citées précédemment (cf: 3.3.1).

3.3.3 Test DAS- ELISA

La détection des cinq virus (PLRV, PVY, PVA, PVS, PVX) a été réalisée en utilisant le protocole DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich) recommandé par BIOREBA (France), sur des microplaques de titration "Nunc", certifiées de 96 puits avec un volume utile de 200 µl/puit. Le principe de ce test repose sur le marquage des anticorps par une enzyme qui sera révélée par la suite par un substrat spécifique selon les phases suivantes (Appendice D):

1. **Phase immobilisée - sensibilisation des microplaques par l'anticorps spécifique:** Diluer au 1/1000 les anticorps de coating (IgG) dans le tampon de coating et remplir les puits des plaques de microtitrage avec 200 µl/puit. Les plaques sont couvertes et laissées en incubation pendant 4h à 30°C dans une étuve humidifiée. Entre chaque étape du protocole ELISA, les plaques sont vidées et lavées trois fois avec le tampon de lavage PBST (PBS, 0.05 %, v/v Tween 20), en les tapant sur papier absorbant pour éliminer toutes les gouttelettes y adhérentes.
2. **Addition de l'antigène (échantillons à tester, témoin positif et témoin négatif):** Diluer l'extrait végétal au 1/20 dans le tampon et ajouter 200 µl/puit. L'incubation se réalise à 4 °C sans oublier le témoin positif et négatif. Sur chaque plaque de titration, les puits périphériques sont laissés vides et le tampon de l'extraction est versé (200 µl/puit) dans six puits du côté d'introduction de la plaque pour sa lecture.
3. **Addition de l'anticorps lié à l'enzyme (anticorps conjugués à une phosphatase alcaline):** Diluer au 1/1000 les anticorps liés à l'enzyme dans le tampon et remplir les puits des plaques de microtitrage avec 200 µl/puit. Les plaques sont couvertes et laissées en incubation pendant 5h à 30°C dans une étuve humidifiée.

4. **Addition du substrat de l'enzyme et lecture:** Les pastilles (1 mg) de substrat pNPP (para-Nitro-Phenyl-Phosphate) ont été diluées dans un (1) ml de tampon de substrat et chaque puit est rempli avec 200 μ l. Après incubation de 30 mn à la température ambiante et en obscurité, la réaction est observée et le développement de la coloration est noté entre 30 et 120 mn visuellement et par la lecture de l'absorbance en utilisant un lecteur de plaque de microtitrage ($\lambda = 405$ nm).

La densité optique (DO) finale représente la moyenne des DO enregistrées dans les deux puits réservés à chaque échantillon.

3.3.4 Bactérisation

La bactérisation consiste en l'application des souches de *Pseudomonas fluorescens* (Tableau 3.1) sous forme d'inoculum liquide, afin d'assurer son adsorbance et son adhésion sur le matériel végétal à traiter sans inhiber la reprise des explants. Donc, les différentes techniques ont pour objet la comparaison de la densité bactérienne appliquée.

Afin de s'assurer du développement de nos souches bactériennes dans le milieu utilisé pour les étapes de vitroculture, en l'occurrence le milieu MS, nous avons testé leur croissance dans ce milieu. A cet effet, des boîtes Magenta contenant 25 ml du milieu MS, où nous déposons des disques en papier filtre stérile imprégnés de suspension bactériennes (10^6 - 10^7 CFU/ml). Chaque boîte a été divisée en diagonale où un secteur a été réservé aux microboutures et l'autre pour les disques (imprégnés d'inoculum bactérien).

La bactérisation a été réalisée avec les deux souches bactériennes P64 et CHAO et leur mélange (P64 + CHAO). L'inoculum a été préparé avec des crèmes bactériennes de 24 h cultivées sur le milieu KB (Appendice C).

En raison de la fragilité des explants, utilisés en vitroculture, nous avons expérimenté trois techniques de préparation de l'inoculum bactérien:

1. Mise en suspension de la crème bactérienne dans de l'eau distillée stérile, en assurant une agitation mécanique à 100 tr/mn.

2. Selon cette technique précédente (1) en subissant une centrifugation (2000 tr/mn) pendant une quinzaine de minutes.
3. Dans ce troisième protocole, préconisé par Ait Barka *et al.*, [62], la crème bactérienne est mise en suspension dans 25 ml du milieu KB "liquide" (Appendice C). Après incubation (48 h à 25°C), la suspension bactérienne obtenue a subi un lavage avec la solution tampon phosphatée (PBS) (pH 6) et centrifugation (3000 g, 15 mn) à 20°C (Figure 3.1).

Dans ces trois techniques, la concentration des inoculums bactériens a été ajustée (10^7 CFU/ml) à l'aide d'un spectrophotomètre (Shumazdu) étalonné au préalable ($\lambda = 620$ nm). Les opérations de bactérisation ont été réalisées par trempage des microboutures (1cm), découpées préalablement et aseptiquement, dans les inoculums bactériens pendant une minute. Pour le cas des témoins, la même démarche a été adoptée, mais le trempage s'est effectué dans des solutions respectives à chaque technique (eau distillée stérile ou PBS) sans la présence de bactéries. Après séchage sur papier absorbant stérile, les microboutures sont repiquées sur le milieu MS en tubes (Figure 3.2) [62].

3.3.5 Dispositif expérimental

Dans cet essai, nous avons expérimenté l'interaction de deux facteurs où avec douze (12) répétitions, en randomisation totale, pour chaque traitement. En plus des témoins, l'essai contient les neuf traitements issus de l'interaction des deux facteurs:

- T1: Témoin eau distillée stérile.
- T2: Témoin PBS (solution tampon phosphaté).
- T3, T4, T5: La souche P64 additionnée, respectivement, à l'eau distillée stérile avec centrifugation, à l'eau distillée stérile sans centrifugation et au PBS.
- T6, T7, T8: La souche CHAO additionnée, respectivement, à l'eau distillée stérile avec centrifugation, à l'eau distillée stérile sans centrifugation et au PBS.
- T9, T10, T11: Le mélange (CHAO + P64) additionné, respectivement, à l'eau distillée stérile avec centrifugation, à l'eau distillée stérile sans centrifugation et au PBS.

3.3.6 Analyse statistique

Les données quantitatives de chaque paramètre étudié ont subi une analyse de variance (ANOVA), en mesurant la variabilité inter-traitement (entre les douze répétitions de chaque traitement) et intra-traitement (entre les onze traitements étudiés). Dans le cas de différence significative ($P < 0,05$), le test de Newman-Keuls classe les traitements en groupes homogènes selon le risque d'erreur $\alpha=5\%$.

3.3.7 Paramètres étudiés

Les effets de la bactérisation, sur la promotion du développement des vitroplants, ont été évalués après 15 j et 30 j du repiquage; il s'agit de mesurer :

- Hauteur des plants du collet jusqu' à l'extrémité apicale.
- Dénombrement des feuilles et des racines.
- Longueur des racines.
- Evaluation de la croissance bactérienne.



1- Préparation des suspensions bactériennes et des témoins dans les conditions aseptiques



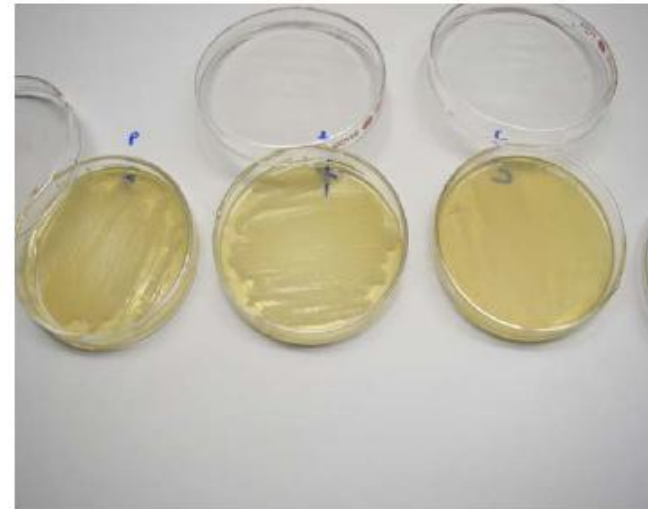
2- Les explants mis dans les suspensions bactériennes et les témoins



3- Séchage des explants sur papiers et absorbant stérile



4 - Repiquage des explants sur le milieu gélosé MS



5 - Vérification de la viabilité des souches bactérienne.

Figure 3.1. Schéma des étapes de la biotisation des explants de la pomme de terre en vitroculture

3.4 Essais de phytostimulation de plants issus de tubercules

3.4.1 Origine des tubercules

Pour assurer le maximum d'homogénéité morphologique, nous avons sélectionné des tubercules variété Désirée (Appendice E), pré-base, classe "G1" ayant des calibres de 35 - 40 mm, indemnes de maladies, notamment les virus précités (cf: 2.2.2). Ces tubercules récoltés en 2005 au niveau de la société Agro-Développement (SAGODEV – Sétif), ont été certifiés par les services du CNCC "Centre National de Certification des semences et plants" – El Harrach – Alger).

Les tubercules ont été désinfectés par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (6°) pendant 20 mn, puis rincés abondamment à l'eau distillée stérile et séchés sur papier filtre absorbant. Les tubercules sont déposés dans des clayettes pour prégermination (Figure 3.2).



Figure 3.2: Tubercules "G1" de la variété Désirée.

3.4.2 Sol

Dans cette étape expérimentale, nous avons utilisé des sols prélevés au niveau des champs de la société Agro - Développement "SAGRODEV" (Sétif):

- A.** Sol cultivé régulièrement en pomme de terre, depuis au moins dix années.
- B.** Sol **A** après une désinfection, pour éliminer ou inhiber l'effet de la microflore indigène, par passage au pasteurisateur (6 h à 80–100° C).
- C.** Sol non cultivé jachère depuis au moins quinze années.

Nous avons utilisé ces variantes en sols, pour mettre en évidence l'effet éventuel de la microflore indigène tellurique adaptée à la culture de pomme de terre. Avant d'entamer nos essais, des échantillons de chaque sol (des trois variantes) ont été analysés au niveau du laboratoire de pédologie (INA- El.Harrach). Ces analyses montrent que les sols sont de nature argilo-limoneuse, d'un pH allant de 6,93 à 7,20 et une composition organo-minérale convenable pour la culture de pomme de terre (Tableau 3.2).

Tableau 3.2 : Caractéristiques physicochimiques des sols.

Caractéristiques	Sol A	Sol B	Sol C
pH	6.93	7.01	7.20
Conductivité électrique (CE) mmhos/cm	0.20	0.24	0.18
CaCO ₃ %	3.03	2.00	2.46
Matière organique (M.O %)	3.14	2.46	1.99
Phosphore ppm	10.15	14.25	15.95
Potassium meq/mg	0.63	0.69	0.39
Azote %	0.089	0.099	0.060
Argile(%)	30.15	33.25	29.75
Limon fin (LF) (%)	29.24	26.75	23.15
Limon Grossier (LG) (%)	13.44	14.10	25.25
Sable fin (SF) (%)	15.19	15.35	15.09
Sable Grossier (LS) (%)	11.98	10.55	06.76

Les lots de sols (A, B, C) ont été répartis dans des pots en plastique noirs (5 kg), remplis au 2/3, munis avec une ouverture centrale divisant le pot en deux parties (Figure 3.3). Ces pots ont été choisis pour faciliter la récupération des parties souterraines (stolons, tubercules, racines) pour les analyses ultérieures.



Figure 3.3 : Pot muni d'une ouverture centrale le divisant en deux parties.

3.4.3 Bactérisation

Les inocula bactériens, des trois souches (P64, S20 et CHAO) (Tableau 3.1), ont été préparés sous forme de suspensions dans de l'eau distillée stérile à la concentration 10^6 - 10^7 CFU/ml. Les étapes de préparation sont identiques à celles déjà citées (cf: 3.3.4).

Selon les techniques décrites par Digat [298], l'inoculum bactérien a été préparé sous forme de pâte composée de tourbe et de suspension bactérienne: 100 à 120 g de tourbe stérile sont mélangés avec un volume de 250 ml de la suspension bactérienne. L'inoculum bactérien, ainsi préparé, a été déposé à l'aide d'une cuillère à soupe (5g), au lieu de dépôt du tubercule (lit de semence) (Figure 3.4). Les pots sont recouverts (1/3 de leur contenance) avec le sol respectif de chaque essai (A, B ou C) (cf: 3.4.2).



1– Inoculum bactérien (pâte composée de tourbe et de suspension bactérienne);
2- Tubercule, 3- Lit de semence (tourbe+ suspension bactérienne), 4- Sol.

Figure 3.4 : Méthode de la bactérisation appliquée.

3.4.4 Dispositif expérimental

L'essai est factoriel, représenté par l'interaction de deux facteurs:

- Facteur 1: le sol, avec trois variantes (A, B, et C).
- Facteur 2: les souches bactériennes, avec trois variantes (P64, S20 et CHAO).

L'interaction de ces deux facteurs (9 traitements) en plus des trois témoins respectifs, constituent les douze traitements de chaque bloc. L'essai a été réalisé en trois répétitions en adoptant un dispositif en blocs aléatoires complets. Au total notre dispositif expérimental est composé de 360 plants, soit dix répétitions par traitement et par bloc (10 × 12 × 3) (Figure 3.5).

Les traitements en question sont:

- T1, T2, T3: Plants témoins non bactérisés plantés, respectivement, dans les sols B, C ou A.
- T4, T5, T6: Plants bactérisés avec la souche P64 et plantés, respectivement, dans les sols B, C ou A.
- T7, T8, T9: Plants bactérisés avec la souche S20 et plantés, respectivement, dans les sols B, C ou A.
- T10, T11, T12: Plants bactérisés avec la souche CHAO et plantés, respectivement, dans les sols B, C ou A.



Figure 3.5: Dispositif expérimental de l'essai de phytostimulation des plants issus de tubercules de pomme de terre.

3.4.5 Paramètres étudiés

En plus du taux de levée, l'évaluation des effets de la bactérisation sur la phytostimulation du développement de la pomme de terre a été effectuée par des mensurations sur des paramètres de croissance et de production. Les mensurations ont été réalisées en trois périodes:

1. **Première coupe:** Après quarante (40) jours de la plantation.
2. **Deuxième coupe:** Après cinquante (50) jours de la plantation.
3. **Troisième coupe:** Après soixante cinq (65) jours de la plantation.

Des mensurations ont été réalisées sur trois plants, choisis aléatoirement, pour les coupes (1) et (2) et le reste des plants pour la coupe (3):

Taux de levée: L'estimation du taux de levée des tubercules consiste à effectuer le comptage des plantules levées dans chaque traitement, en assurant un suivi quotidien, pendant un mois.

Mensurations sur les tiges: Après dépotage, chaque plant est débarrassé du sol adhérent et nous procédons au comptage des tiges et la mesure de leur hauteur. La partie aérienne (tige + feuilles), fraîchement coupée au niveau du collet, a été immédiatement pesée pour déterminer son poids frais. Le poids sec a été déterminé, pour chaque plant, après séjour à l'étuve pendant cinq (5) jours à une température de 80°C.

Mensurations racinaires: Les racines sont secouées, pour éliminer le substrat adhérent, et étalées soigneusement. La longueur des racines est mesurée à partir de la fin de l'extrémité basale du collet jusqu'à l'extrémité du chevelu racinaire. Les racines fraîchement découpées ont été immédiatement pesées pour déterminer le poids frais. Le poids sec a été déterminé, pour chaque plant, après séjour à l'étuve pendant cinq (5) jours à une température de 80°C.

Nombre de stolons et ébauches des tubercules: Le comptage des stolons et des ébauches a été effectué immédiatement après le dépotage des plants.

Mensurations sur les tubercules: Après dépotage et comptage des tubercules par plant; les tubercules fraîchement récoltés ont été immédiatement pesés pour déterminer leur poids frais. Le poids sec est déterminé pour chaque plant après séjour à l'étuve pendant cinq (5) jours à une température moyenne de 80°C.

3.4.6 Analyse statistique

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée, en considérant l'essai factoriel ($\alpha=5\%$). La mise en évidence de différences significatives concerne l'effet de chaque facteur contrôlé (F1: Sol, F2: Souche bactérienne) et de leur interaction (F1 x F2). L'effet de bloc est considéré comme aléatoire. Dans le cas de différence significative ($P < 0,05$), le test de Newman-Keuls ($\alpha=5\%$) a groupé les traitements similaires dans des groupes homogènes.

3.4.7 Test de viabilité des bactéries

Ce test a été effectué sur les traitements bactérisés, pour chaque essai, afin de vérifier la viabilité des souches bactériennes appliquées. L'intérêt du test de viabilité est de s'assurer de la réussite de la colonisation des substrats et des racines par les souches bactériennes appliquées.

Des échantillons de sol et de racines sont prélevés des traitements bactérisés avec les souches S20, P64 et CHAO. De chaque échantillon un (1) g de sol a été mis en suspension dans 9 ml d'eau distillée stérile; après agitation et la réalisation d'une série de dilution de dix en dix, des ensemencements ont été réalisés sur le milieu KB avec les dilutions de 10^{-7} à 10^{-10} .

Les échantillons de racines ont été secoués légèrement pour éliminer le sol adhérent, et déposés directement sur le milieu KB en boîte de Pétri. Le développement des bactéries a été évalué après incubation de 24 h à 48 h à 25°C. Une comparaison a été réalisée avec les échantillons prélevés des traitements non bactérisés. Le comptage consiste à localiser les boîtes ayant développées des colonies individualisées dénombrables, entre 30 à 600 colonies. Les dénombrements finaux expriment la moyenne de trois répétitions.

3.5 Essai de l'induction systémique de la résistance (ISR)

3.5.1 Les tubercules de pomme de terre

Les tubercules utilisés dans cet essai sont issus des mêmes lots de l'essai de phytostimulation (cf: 3.4.1).

3.5.2 Sol

Le sol est prélevé à partir de parcelles nues, du même lieu de prélèvement du sol **C** (cf: 3.4.2). Ce sol a été désinfecté à l'aide d'un Pasteurisateur (80-100°C) pendant 6 h et réparti dans des pots (cf: 3.4.2).

3.5.3 Bactérisation

La bactérisation a été réalisée avec les trois souches bactériennes P64, S20 et CHAO. La préparation des suspensions bactériennes et la méthode de bactérisation ont été réalisées de la même façon que celles de l'essai de phytostimulation (cf: 3.4.3). Les pots ont été immédiatement recouverts par un tissu à mailles très fines (insect proof) pour éviter leur contact avec d'éventuels vecteurs (pucerons) (Figures 3.6 et 3.9).



1 - Insect proof recouvrant les plants.

Figure 3.6: Disposition des plants de l'essai de l'induction de la résistance systémique (ISR).

3.5.4 Préparation de l'inoculum viral

Le choix des plants virosés, sur champ, a été effectué sur la base de la présence des symptômes typiques (mosaïques) de virus Y de la pomme de terre PVY (Figure 3.7). La confirmation de cette virose a été réalisée par le test sérologique (DAS-ELISA), selon la même technique pratiquée précédemment (cf: 3.3.3).

Le feuillage du plant virosé est broyé en présence d'un tampon phosphaté (0.1 M, pH 7.4) (4ml/1g de poids frais) (Appendice C) auquel est ajouté 0.2 % de 2-mecaptoéthanol et du charbon actif [299].



Figure 3.7 : Plants de pomme de terre infectés par PVY (var. Désirée, G2 déclassé).

3.5.5 Inoculation mécanique

Les opérations de l'inoculation mécanique (Figures 3.8 et 3.9) ont été réalisées sur des plants âgés de quatre semaines issus de tubercules bactérisés. L'inoculum mélangé au carborundum a été appliqué par frottement sur la face supérieure des feuilles à l'aide

de cotons-tiges. Après un repos de 2 mn, le rinçage s'effectue avec de l'eau distillée stérile; les plants ainsi inoculés sont recouverts par un tissu à mailles très fines (insect-proof) et laissés en incubation dans les conditions de champs. Le suivi du développement de la virose a été effectué avec des observations quotidiennes pendant une période de trois mois.



Figure 3.8: Inoculation mécanique du feuillage avec le virus PVY

3.5.6 Dispositif expérimental

L'essai a été conduit en trois blocs aléatoires complets. Dans chaque bloc figure les huit (8) traitements étudiés, à raison de 10 plants par traitement. Au total notre dispositif est composé de 240 plants (8×3×10).

Les traitements en question sont :

- T1: Plants témoins non bactérisés et non inoculés par PVY.
- T2: Plants témoins non bactérisés et inoculés par PVY.
- T3, T4: Plants bactérisés avec la souche P64, respectivement, non inoculés par PVY et inoculés par PVY.
- T5, T6: Plants bactérisés avec la souche CHAO, respectivement, non inoculés par PVY et inoculés par PVY.
- T7, T8: Plants bactérisés avec la souche S20, respectivement, non inoculés par PVY et inoculés par PVY.

3.5.7 Paramètres étudiés

3.5.7.1 Nombre de plants malades

Pendant une période de trois mois, avec des notations quotidiennes, les observations ont été portées sur le développement et l'extériorisation des symptômes de PVY. Les observations consistent à réaliser un suivi du développement et de l'évolution de la mosaïque selon le compartiment foliaire affecté (supérieur, médian, inférieur). Sur la base de la symptomatologie typique de cette virose, nous avons adapté une échelle pour évaluer le taux d'infection et la sévérité de la maladie:

0. Pas de symptômes.
1. Mosaïque sur une partie.
2. Mosaïque sur deux parties.
3. Mosaïque généralisée.
4. Tâches nécrotiques.
5. Nécrose des nervures.
6. Frisolée.
7. Mosaïque sur nouvelles tiges.
8. Mortalité du plant.

Le plant est considéré malade s'il présente au moins le niveau 1 de l'échelle adoptée.

- Le taux d'infection

Le taux d'infection (I %) correspond au pourcentage des plants malades par rapport à la totalité des plans testés.

$$I (\%) = (\text{Nombre de plants malades} / \text{Nombre total de plants observés}) \times 100.$$

I (%) : Taux d'infection (en pourcentage).

- Sévérité de la maladie

La gravité de la maladie est appréciée à travers la sévérité des symptômes, selon la formule décrite par Fuch et Défago [300].

$$S (\%) = \Sigma(E \times a / T \times N) 100.$$

S: Sévérité de la maladie exprimée en pourcentage.

N: Nombre total de plants observés.

T: valeur du degré le plus haut (8) de l'échelle.

E: Classe de symptôme qui varie de 0 à 8 selon l'échelle.

a: Nombre de plants malades à la classe considérée.

3.5.8 Test de viabilité.

Ce test a été effectué sur les traitements bactérisés, de la même façon que celle de l'essai de la phytostimulation (cf: 3.4.7)

3.5.9 Test de préculture

Il est conseillé, pour s'assurer des infections virales par PVY, de procéder à des vérifications via des contrôles sur la descendance (test de préculture).

Les tubercules récoltés de chaque traitement ont été conservés avec le sol y adhérent à la température ambiante. Après levée de dormance, ces tubercules ont été replantés dans un substrat désinfecté (1/3 sable et 2/3 tourbe) et déposés en salle de préculture à l'abri d'éventuels vecteurs de viroses. Après 40 jours de la plantation, des observations symptomatologiques ont été effectuées, selon la même méthode adoptée lors du premier essai (cf: 3.5.7.1).

Les tests sérologiques (DAS-ELISA), selon le même protocole précédemment cité (cf: 3.3.3), ont été effectués avec des échantillons composé de feuillage à partir de chaque traitement.

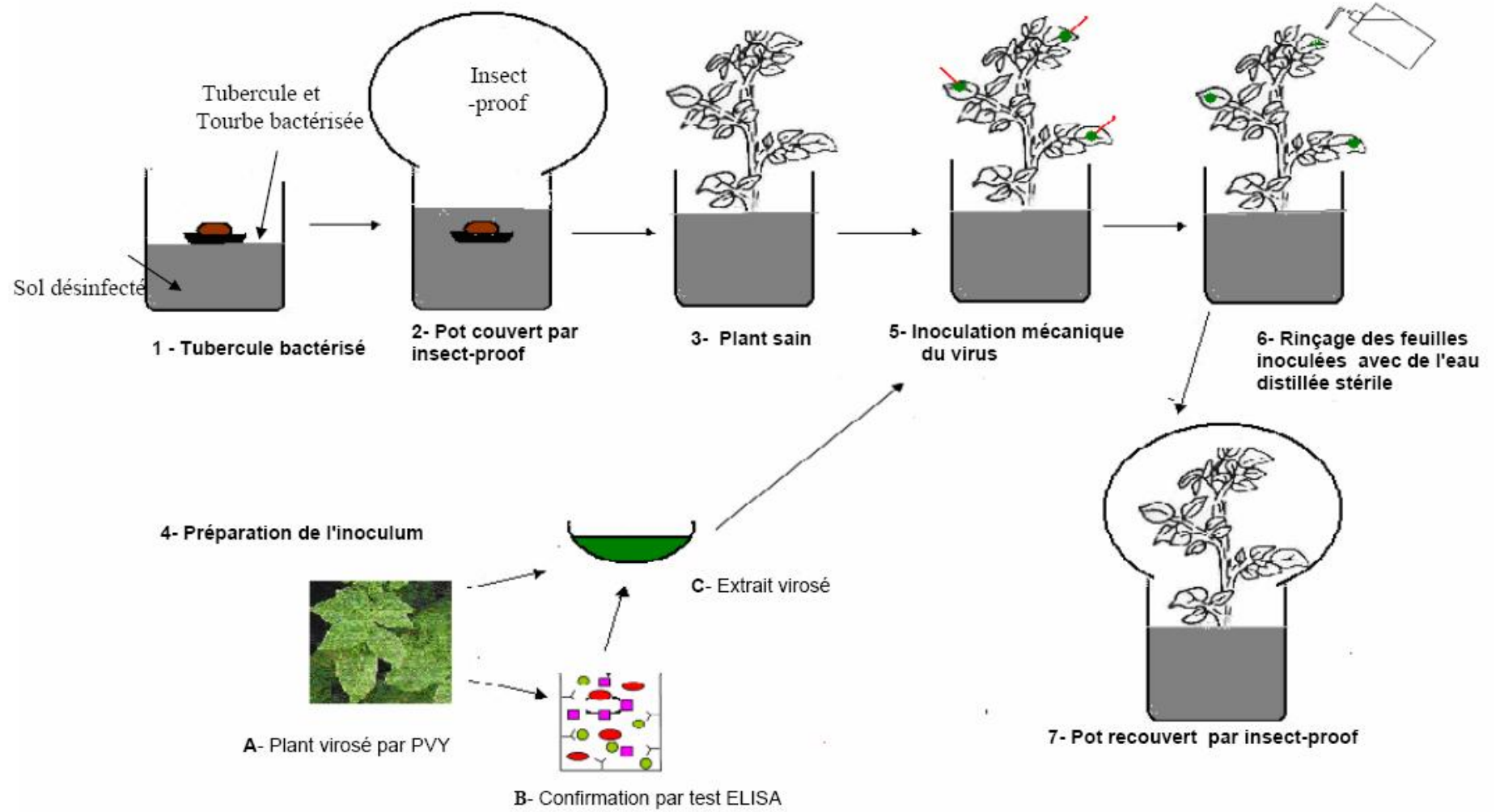


Figure 3.9: Protocole de bactérisation et d'inoculation.

CHAPITRE .4

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Phytostimulation des vitroplants

4.1.1 Paramètres de croissance.

4.1.2 Discussion

4.2 Phytostimulation des plants issus de tubercules

4.2.1 Taux de levée

4.2.2 Paramètres de croissance des tiges.

4.2.3 Paramètre de croissance de la partie souterraine

4.2.4 Paramètre de production

4.2.5 Test de viabilité des bactéries

4.2.6 Quantification des gains

4.2.7 Discussion

4.3 Induction de la résistance systémique (IRS)

4.3.1 Confirmation de l'infection par PVY

4.3.2 Taux d'infection

4.3.3 Sévérité de la maladie

4.3.4 Test préculture.

4.3.3 Discussion

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DUSCUSSIONS

4.1 Phytostimulation des vitroplants

Les résultats du test préliminaire de vérification du développement bactérien dans le milieu de vitroculture ont montré une croissance suffisante, apparente à l'œil nu, à la proximité des racines. Comparativement avec le témoin, nous avons noté une croissance appréciable des vitroplants et de même pour les souches bactériennes sur le milieu MS. Aussi, il a été noté un bon développement racinaire (Figure 4.1). Dans la partie racinaire, la croissance bactérienne apparaît sous forme d'un biofilm «film bactérien» entourant une partie des racines, sans inhiber le développement des vitroplants; au contraire la présence de ce film bactérien procure un meilleur développement racinaire.

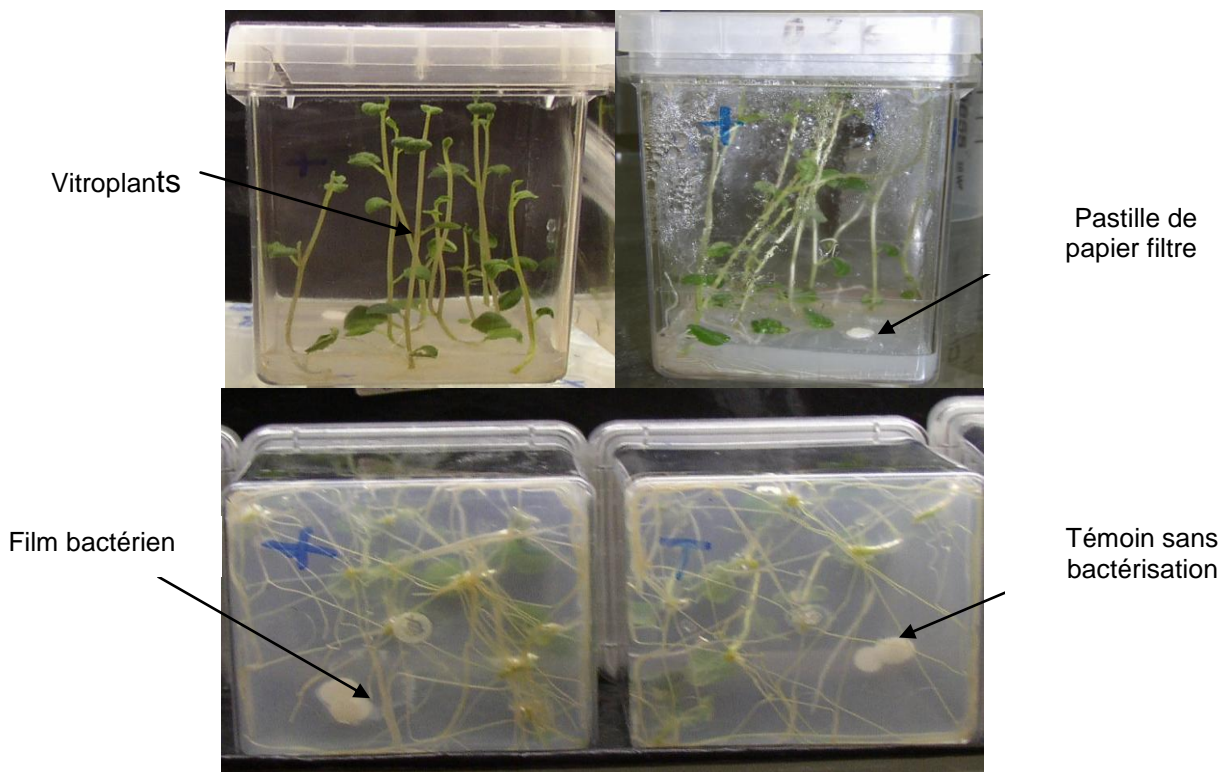


Figure 4.1: Développement des vitroplants et des bactéries sur le milieu MS

4.1.1 Paramètres de croissance

L'effet de la bactérisation sur le développement des vitroplants a été étudié en deux périodes, après 15 et 30 jours du repiquage. Les effets positifs de la bactérisation ont été nettement exprimés chez les vitroplants bactérisés, avec des inoculums préparés en eau distillée stérile après centrifugation (Tableau 4.1). Dans ce cas, le nombre de feuilles a augmenté avec des proportions de 8 à 27 % et de 12 à 40 %, respectivement, lors de la première période (15 j) et de la deuxième période (30 j) des mensurations (Figures 4.2).

Le même constat s'est reproduit avec la hauteur des vitroplants où les gains ont atteint 40 % de plus par rapport au témoin (Figures 4.3 et 4.4).

Avec les inoculums préparés en PBS (tampon phosphaté) les gains en nombre de feuilles sont moindres (4 à 9 %). En utilisant, le PBS, les inoculums composés des deux souches (CHAO+P64) ont provoqué une inhibition totale du développement des vitroplants (Figure 4.6).

En ce qui concerne le développement racinaire, nous n'avons constaté aucun effet notable par rapport aux témoins respectifs. Ceci s'explique par la forte variation enregistrée dans les différentes répétitions de chaque traitement (Tableau 4.2).

Ces résultats présentent une proportionnalité relative par rapport à la croissance bactérienne observée dans les traitements étudiés. Globalement la croissance est très intense avec les inoculums apportés en eau distillée stérile après centrifugation (Tableau 4.2).

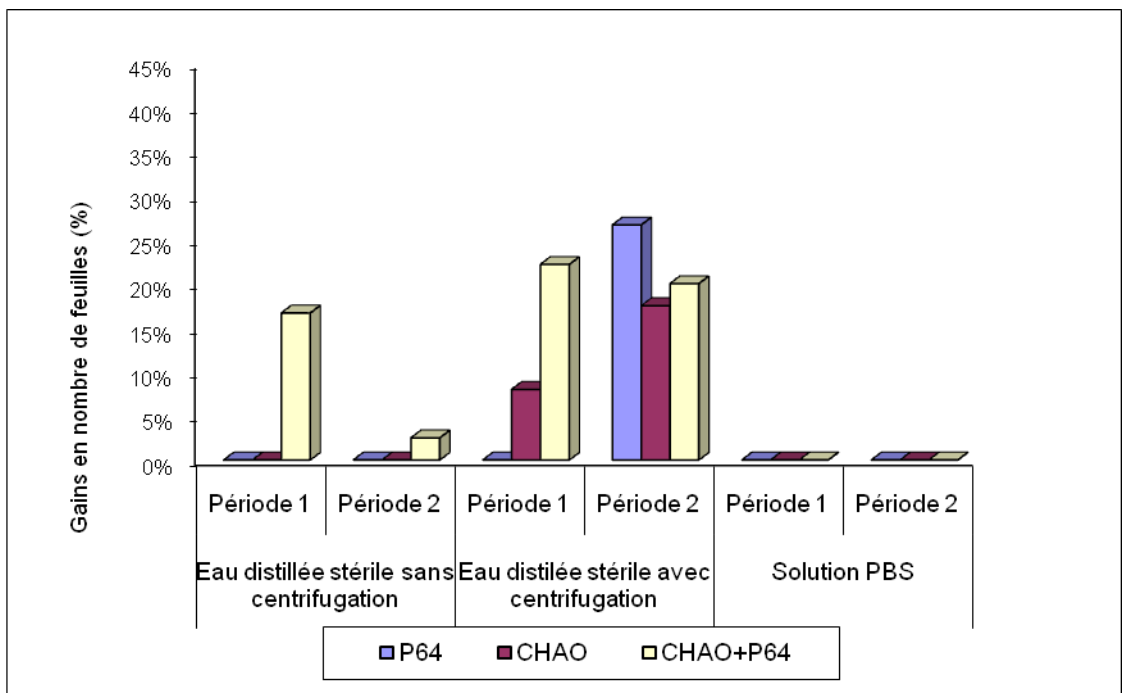
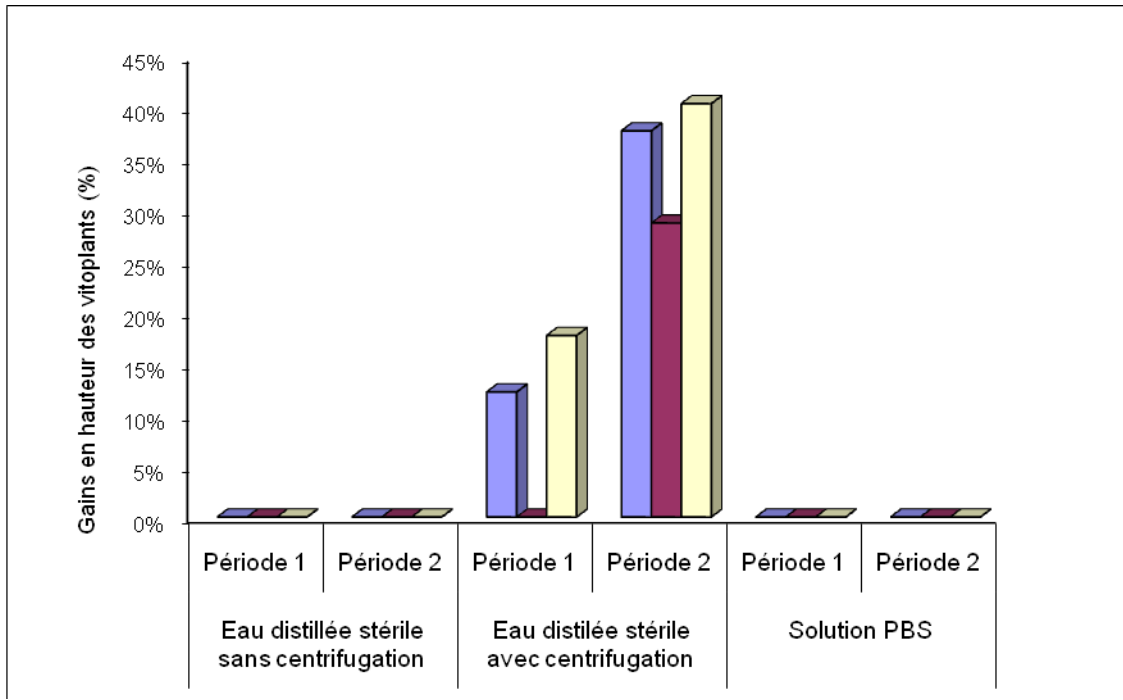


Figure 4.2: Gains en hauteur et en nombre de feuilles des vitroplants.

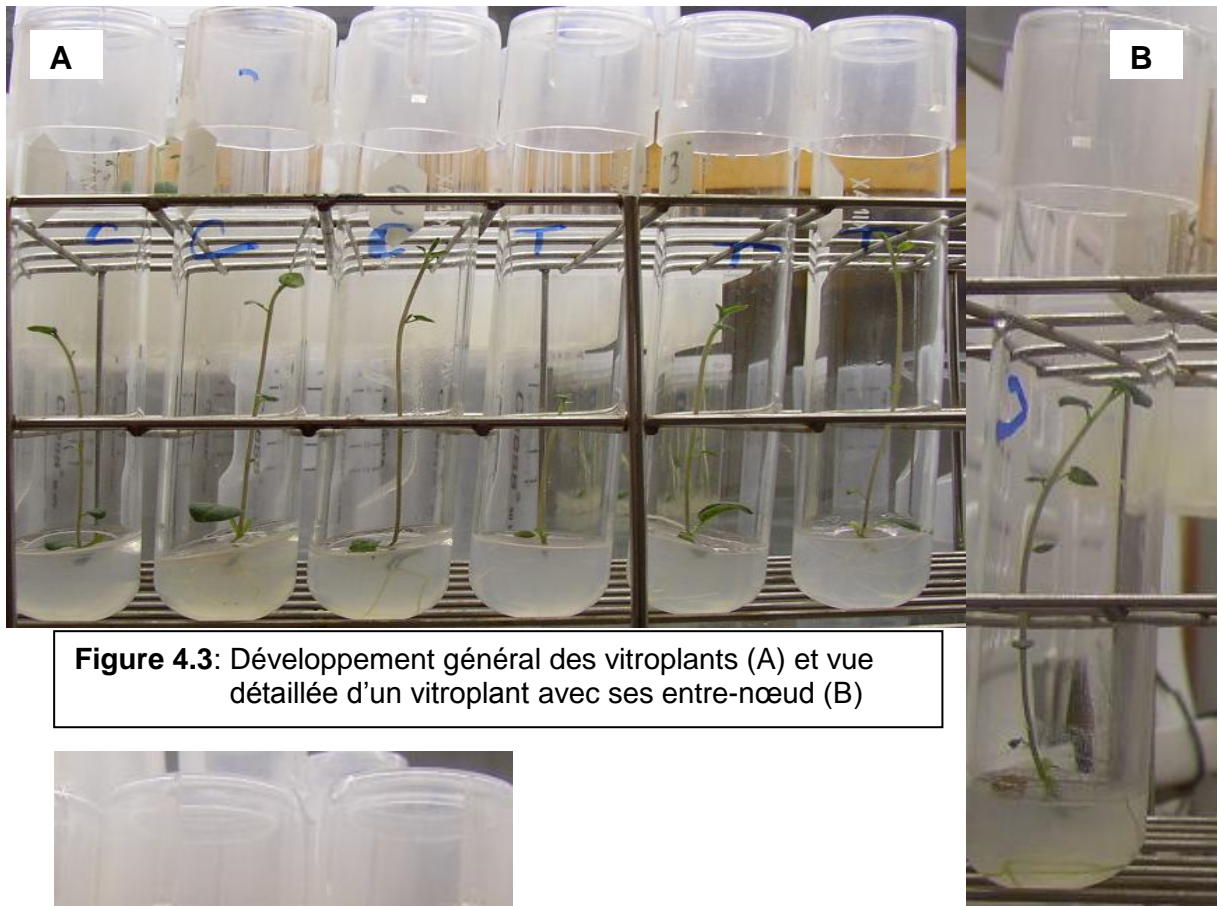


Figure 4.3: Développement général des vitroplants (A) et vue détaillée d'un vitroplant avec ses entre-nœud (B)

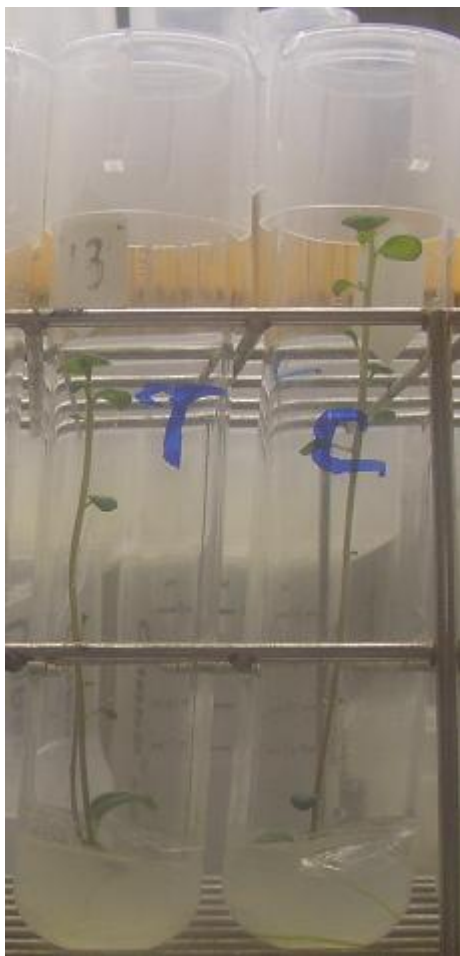


Figure 4.4: Vue comparative entre vitroplant bactérisé (C: CHAO) et non bactérisé (T: Témoin)

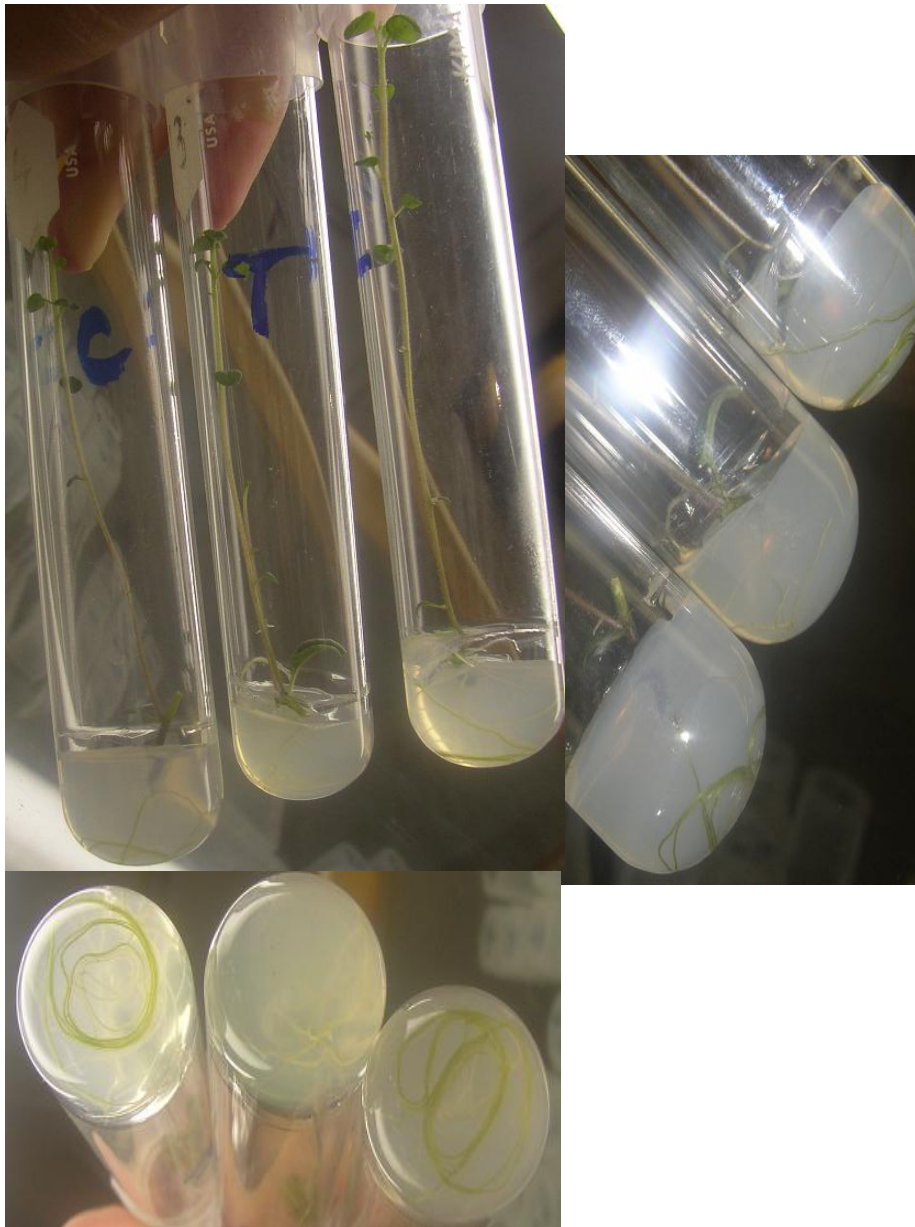


Figure 4.5: Vues de face, latérale et de dessous, montrant le développement des différentes parties de vitroplants bactérisés.

Tableau 4.1: Nombre de feuilles et hauteur des vitroplants

Traitements		Eau distillée stérile						Témoin	PBS			
		sans centrifugation			après centrifugation				P64	CHAO	CHAO +P64	Témoin
		P64	CHAO	CHAO +P64	P64	CHAO	CHAO +P64					
Nombre de feuilles	Période1	2,75 ± 0,45*	3,11 ± 0,60	4,17 ± 0,64	3,33 ± 0,52	3,86 ± 0,74	4,36 ± 0,76	3,57 ± 0,79	3,8 ± 0,45	3,75 ± 0,46	ND	3,5 ± 0,53
	Période2	4,50 ± 0,52	4,67 ± 0,71	5,13 ± 0,99	6,33 ± 0,82	5,88 ± 0,83	6,00 ± 0,76	5,00 ± 1,00	6,40 ± 0,55	6,50 ± 0,53	ND	6,13 ± 0,99
Hauteur de tiges	Période1	4,17 ± 0,61	4,04 ± 0,54	4,82 ± 1,16	5,70 ± 0,74	5,02 ± 1,33	5,98 ± 0,91	5,08 ± 0,78	4,38 b ± 1,2	2,20 c ± 0,71	ND	5,69 a ± 0,96
	Période2	6,28 c ** ± 1,01	5,44 c ± 0,99	6,10 c ± 1,89	13,00 a ± 1,70	12,15 a ± 0,99	13,25 a ± 1,5	9,44 b ± 1,61	7,66 a ± 1,72	6,60 b ± 0,71	ND	8,61 a ± 1,3

ND Non donné

(*) Ecart type

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

Période1: 15 jours

Période2: 30 jours

Tableau 4.2: Développement des racines et croissance bactérien

Traitements		Eau distillée stérile						Témoin	PBS			
		sans centrifugation			après centrifugation				P64	CHAO	CHAO +P64	Témoin
		P64	CHAO	CHAO +P64	P64	CHAO	CHAO +P64					
Développement des racines	Période1	1-4 (+++)	1-5 (+)	1-4 (+)	1-4 (+++)	1 (+)	1-4 (+++)	1-4 (+)	0,00 (-)	1-4 (++)	0,00 (-)	1-4 (+++)
	Période2	1-4 (+++)	1-5 (+++)	1-4 (+++)	2-4 (+++)	1 (+)	2-4 (++,+++)	1-4 (++,+++)	0,00 (-)	1-4 (++,+++)	0,00 (-)	2-4 (+++)
Croissance bactérienne	Période1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+,++)	(+)	(-)	(++)	(+)	(++++)	(-)
	Période2	(+)	(+)	(+)	(++)	(+,++)	(+)	—(-)—	(+++)	(++,+++)	(++++)	(-)

(-) Pas de développement racinaire

(+) Racines peu développées

(++) Racines bien développées

(+++) Racines très bien développées

Période1: 15 jours

Période2: 30 jours

(-) Pas de développement bactérien

(+) Bactéries peu développées

(++) Bactéries bien développées

(+++) Bactéries très bien développées

4.1.2 Discussion

La biotisation des explants, utilisés en vitroculture, a mis en évidence des situations d'accroissement de développement des vitroplants. Les accroissements concernent, particulièrement, les augmentations enregistrées sur les parties racinaires en croissance et de nombre et sur les parties aériennes relatives aux feuilles et aux tiges formées.

Les vitroplants, observés dans les tubes bactérisés, ont montré une meilleure densité racinaire "chevelu racinaire" et une élongation plus prolongée dans le milieu de culture. Les vitroplants bactérisés avec la souche CHAO ont développé jusqu'à cinq ramifications racinaires; chez les autres bactérisations le nombre de racines varie de 2 à 4.

Les travaux de recherche de biotisation réalisés en condition de vitroculture sont moindres par rapport aux essais effectués sur des plants entiers; néanmoins, il a été rapporté que l'utilisation des rhizobactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus* et *Serratia* dans la biotisation de vitroplants d'*Arabidopsis thaliana*, induit des incidences positives très notables *in vitro* et *in vivo* [301]. D'autres essais ont démontré des effets de phytostimulation, induisant des changements morphologiques chez des vitroplants de tomate, de piment, de concombre, de melon et de pomme de terre [31].

La croissance bactérienne, apparue sous forme d'un biofilm adhérent étroitement aux racines, peut affecter le développement des vitroplants. Selon les variantes étudiées, relatives à la qualité de l'inoculum appliqué (suspension bactérienne en eau distillée stérile et sans centrifugation, ou préparés dans une solution de PBS), il a été observé dans le cas du PBS que la bactérisation simultanée avec les deux souches CHAO et P64 provoque une inhibition totale du développement des vitroplants. Ceci dénote soit une concentration trop élevée en inoculum bactérien, après une bonne prolifération dans de telles conditions, ou un effet négatif du PBS sur le développement du système racinaire chez les vitroplants. Ces effets inhibiteurs ont été notés en présence de la souche P64.

Sur la partie aérienne, nous n'avons pas noté une analogie de croissance par rapport au développement racinaire. En effet même dans les cas signalés ci-dessus, d'inhibition de développement racinaire (cas des plants bactérisés avec la souche P64), il y a un développement équilibré en nombre de feuilles et en hauteur des tiges formées, mais avec une moindre vigueur par rapport aux autres vitroplants bactérisés.

La comparaison des périodes étudiées (15 j et 30 j) dans le cas de la phytostimulation donne des résultats pratiquement similaires selon les souches bactériennes.

Dans les études de Persello-Cartieaux *et al.*, [31] il a été mis en évidence une corrélation entre la concentration bactérienne, dans le milieu de vitroculture, et la stimulation ou l'inhibition du développement racinaire. Ces auteurs ont suggéré que les rhizobactéries peuvent synthétiser des nutriments facilement assimilables par les racines, ayant comme conséquence une meilleure disponibilité pour les vitroplants.

Dans nos essais, nous avons constaté avec la souche P64 une forte densité bactérienne, inhibant partiellement ou totalement le développement racinaire et parfois provoquant la formation de nécroses autour des extrémités des microboutures (Figure 4.6).

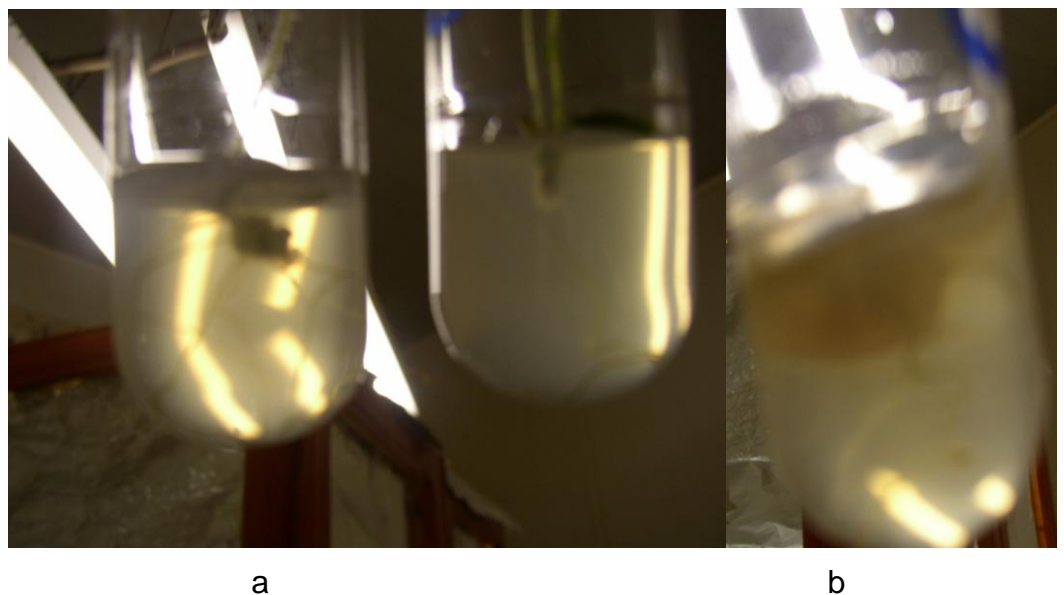


Figure 4.6: Développement de nécroses au point d'émission racinaire (a) et formation d'un film bactérien adhérent aux racines (b)

Dans ce contexte, Ryu *et al.*, [301] ont démontré que la distance séparant le dépôt bactérien (point d'application de l'inoculum initial) influence le niveau de formation des nœuds foliaires. Leurs résultats montrent que la masse foliaire décroît en s'éloignant des points d'inoculation, situés à 2, à 4 et à 6 cm. Dans notre expérimentation, les racines des vitroplants s'orientent, préférentiellement, vers les points de dépôt des inoculums (Figure 4.5). Ces orientations laissent apparaître la formation de biofilms bactériens autour des racines, une meilleure densité et une vigueur racinaire par rapport aux témoins non bactérisés (Figure 4.7).

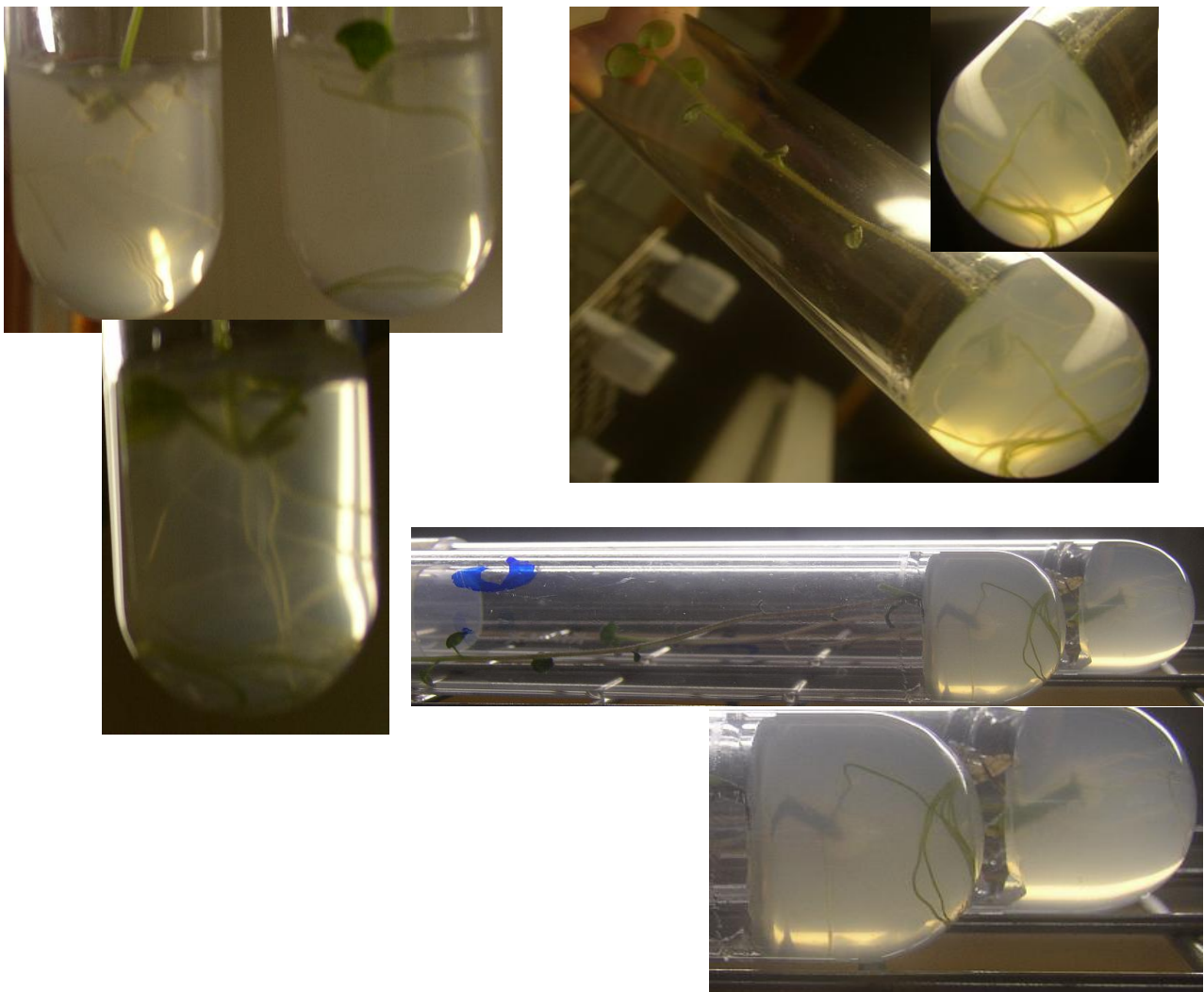


Figure 4.7: Développement des parties aérienne et racinaires chez les vitroplants bactérisés.

Les travaux précédents [301] signalent la participation effective des métabolites synthétisés par les rhizobactéries et leur diffusion dans la gélose (milieu de vitroculture).

Dans les explications avancées, dans la quasi-totalité, des travaux de recherche cités précédemment, il en ressort que les modes d'action induisant la phytostimulation des vitroplants sont de deux ordres: **(i)** les rhizobactéries participent indirectement en activant la dégradation des éléments composant le milieu de culture, **(ii)** les rhizobactéries synthétisent des métabolites à effet direct sur la croissance de vitroplants.

- Pour le premier point, il s'agit surtout d'activer particulièrement la disponibilité en phosphore assimilable, du fait que le milieu de culture est assez riche en d'autres éléments majeurs tels que le carbone et l'azote [301].
- Certaines rhizobactéries secrètent des phytases extracellulaires capables de dégrader les phytates, tel que myso-inositol incorporé dans le milieu MS de vitroculture. Ceci a été clairement démontré, par l'utilisation de souches bactériennes déficientes en synthèse de phytase (phytase -), qui ne stimulent pas la croissance des vitroplants, comparativement aux souches sauvages (phytase +) [113].
- Parmi les substances actives, dans la phytostimulation, l'acide indole acétique (AIA), l'éthylène, les auxines, et les gibbérellines et l'acide salicylique (AS) synthétisés par les rhizobactéries jouent un rôle analogue aux propres phytohormones de la plante. Ces hormones bactériens stimulent directement l'accroissement des parties aériennes et racinaires [301]. Dans les travaux de Pitts *et al.*, [302], il a été démontré l'effet épistatique entre les gènes de production de l'éthylène et des auxines chez les rhizobactéries par rapport à leurs effet phytostimulateurs; alors que les travaux de Eliasson *et al.*, [303] ont dénoté le contraire, c'est-à-dire une indépendance entre ces deux composés.

Suite à la biotisation de vitroplants, de plusieurs espèces végétales (pêcher, amandier...), l'étape d'acclimatation se montre plus facile en présence de rhizobactéries dans le substrat, accompagnée d'une amélioration de la croissance globale des plantes biotisées [61]. L'inoculation de ces plants, produits en conditions axéniques, permet l'établissement d'une niche biologique bénéfique au niveau de la rhizosphère. La biotisation peut, par exclusion compétitive, bloquer des sites contre une éventuelle

colonisation par des agents pathogènes. Le plant biotisé introduit en pépinière possédera un environnement moins propice au développement de micro-organismes pathogènes.

L'introduction de microorganismes dits bénéfiques dans le substrat d'acclimatation de plants micropropagés augmente le taux de reprise des vitroplants et leur vigueur. L'amélioration de l'enracinement des plants peut résulter de la modification de leur architecture lors de la phase d'acclimatation. L'effet de *Pseudomonas fluorescens* procure une ramification plus importante du système racinaire des plants biotisés [65]. Ces effets sont dépendants de l'espèce végétale et des complexes microbiens utilisés [65, 61].

4.2 Phytostimulation des plants issus de tubercules

Il à rappeler que les effets de phytostimulation ont été évalués dans nos essais à trois périodes différentes, qui correspondent à 40 jours (coupe 1), à 50 jours (coupe 2) et à 65 jours (coupe 3) après la bactérisation. Les trois essais étudiés ont été réalisés avec une variabilité dans le sol:

Essai **A**- sol cultivé en pomme de terre, depuis au moins dix année.

Essai **B**- sol identique à l'essai **A**, mais ayant subi une désinfection.

Essai **C**- sol nu, non cultivé.

Pour les différentes coupes et dans les trois essais, l'effet de la bactérisation est étudié à travers des variables exprimant la croissance et la production.

4.2.1 Taux de levée

Dans les trois essais (A, B, C), nous constatons que malgré que les taux finaux de levée (après 30 j) sont quantitativement identiques (Tableau 4.3) entre les traitements bactérisés et leurs témoins respectifs, néanmoins les cinétiques d'évolution sont nettement différentes.

En terme de vitesse de levée, un écart a été observé entre les 17^{ème} jour et 19^{ème} jour. En effet, dès le 17^{ème} jours, marquant le début de la levée, dans la quasi-totalité des traitements les tubercules bactérisés ont montré des taux de levée supérieurs aux témoins, surtout dans les essais A et C. La comparaison des cinétiques de levée des trois essais a montré, globalement, une vitesse plus rapide dans les essais B et C que dans l'essai A (Figure 4.8).

Les actions des bactéries montrent une stabilité relative chez les souches P64 et CHAO, en assurant les maximums de stimulation de la levée dans les essais B et A. La souche S20 a exprimé ses meilleures activités dans l'essai B, alors que son action est moindre dans l'essai C, dont les résultats enregistrés sont comparables aux témoins non bactérisés (Figure 4.8).

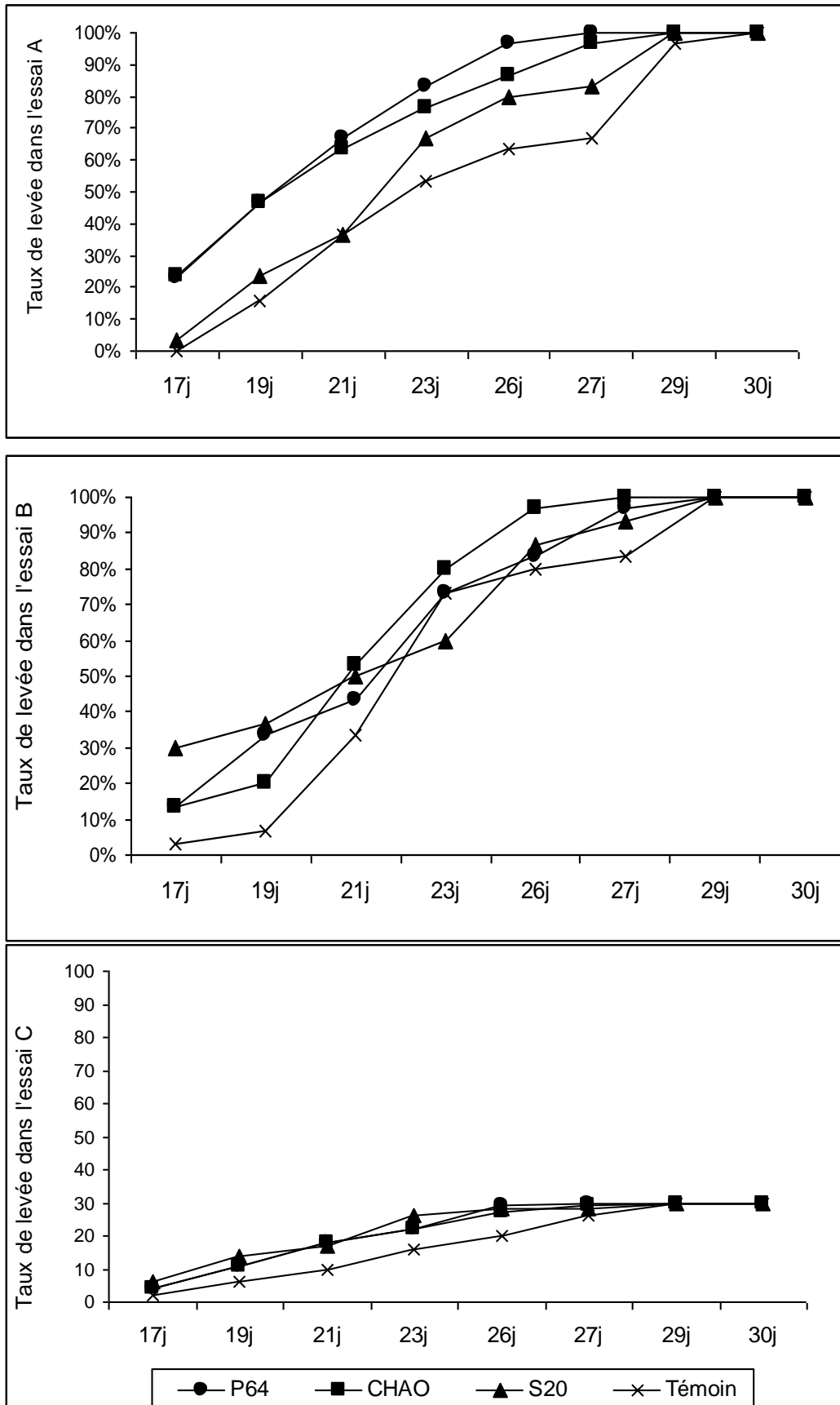
Tableau 4.3: Taux de levée dans les trois essais

Périodes	Essai A: Sol cultivé en pomme de terre				Essai B: Sol cultivé en pomme de terre et désinfecté				Essai C: Sol non cultivé			
	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin
J17	7 ^a	7	1	0	4 ^a	4	9	1	4	4	6	2
	23 ^b	23	3	0	13 ^b	13	30	3	13	13	20	7
J19	14	14	7	6	10	6	11	2	11	11	14	6
	47	47	23	20	33	20	37	7	37	37	47	20
J21	20	19	11	11	13	16	15	10	18	18	17	10
	67	63	37	37	43	53	50	33	60	60	57	33
J23	25	23	20	16	22	24	18	22	22	22	26	16
	83	77	67	53	73	80	60	73	73	73	87	53
J26	29	26	24	19	25	29	26	24	29	27	28	20
	97	87	80	63	83	97	87	80	97	90	93	67
J27	30	29	25	20	29	30	30	25	30	29	28	26
	100	97	83	67	97	100	100	83	100	97	93	87
J29	30	30	30	29	30	30	30	30	30	30	30	30
	100	100	100	97	100	100	100	100	100	100	100	100
J30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

a: nombre de plants levés;

b: pourcentage de levée

J: jours



Essai A: Sol cultivé en pomme de terre, Essai B: sol A désinfecté, Essai C: Sol non cultivé

Figure 4.8: Taux de levée (%) dans les trois essais (A, B, C).

4.2.2 Paramètres de croissance des tiges

- **Nombre de tiges:** Globalement, le nombre de tiges, dans les trois coupes réalisées, n'a pas montré de variance significative à travers les trois essais (Tableau 4.4). Une exception a été observée dans le cas de la bactérisation avec les souches P64 et S20, où les valeurs sont légèrement supérieures par rapport aux autres traitements.
- **Hauteur de la tige:** Les mensurations relatives à la hauteur des tiges montrent qu'avec les deux premières coupes les différences ne sont pas significatives. Lors de la troisième coupe des variances notables ont été enregistrées chez les plants bactérisés, par rapport à leurs témoins respectifs. la hauteur maximale moyenne (36,00 cm) a été notée chez les plants bactérisés avec la souche S20 dans l'essai A (Tableau 4.4).
- **Poids frais des tiges:** Les pesées en poids frais ont montré des différences très notables entre les plants bactérisés et ceux non bactérisés (témoins). les différences sont significatives au niveau des trois essais (A, B, C) et durant les trois périodes de mensuration. Les effets maximums ont été enregistrés avec la souche CHAO, dans l'essai B, avec les trois coupes. La souche P64 a montré des résultats rapprochées à la souche précédente, mais avec des effets variables selon les essais (Tableau 4.4).
- **Poids sec des tiges:** Les observations concernant les poids secs des tiges ont montré des différences significatives pour les trois coupes dans l'essai B, dans la première et la troisième coupe pour l'essai C et seulement avec la troisième coupe pour l'essai A. Nous constatons les effets des souches bactériennes sont presque similaires dans les trois essais (Tableau 4.4).

4.2.3 Paramètre de croissance des racines

- **Longueur des racines:** A quelques exceptions, les longueurs racinaires n'ont pas montré de différences notables entre les différents traitements étudiés. Les mesures réalisées sont surtout différentielles lors de la première coupe, dans les essais A et B (Tableau 4.5).

Tableau 4.4: Paramètres de croissance de la tige

Traitements	Essai A: Sol déjà cultivé en pomme de terre				Essai B: Sol déjà cultivé en pomme de terre et désinfecté				Essai C: Sol nu, non cultivé				
	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	
Nombre de tige	1C	2.50 ± 0.84*	2.40 ± 0.55	2.38 ± 0.78	2.25 ± 0.5	2.4 ± 0.89*	2.33 ± 1.21	2.33 ± 0.52	2.00 ± 0.00	2.50 ± 0.00	2.25 ± 0.5	2.33 ± 0.52	2.00 ± 0.71
	2C	2.60 ± 0.89	2.50 ± 0.58	2.50 ± 1.31	2.33 ± 0.52	2.57 ± 1.13	2.40 ± 0.55	2.88 ± 1.24	2.00 ± 1.11	2.50 ± 0.58	2.63 ± 1.00	2.33 ± 0.58	2.00 ± 0.00
	3C	2.67 ± 1.3	2.60 ± 0.00	2.63 ± 0.75	2.33 ± 0.58	2.60 ± 0.5	2.67 ± 1.00	3.38 ± 1.46	2.00 ± 0.00	3.13 ± 0.75	2.63 ± 0.46	3.00 ± 0.76	2.00 ± 0.76
Hauteur des tiges	1C	10,43 ± 2,15	10,33 ± 0,82	10,13 ± 0,63	10,20 ± 0,45	10,56 ± 0,98	11,71 ± 2,36	11,43 ± 2,07	10,18 ± 1,14	10,57 ± 0,98	11,50 ± 1,05	10,21 ± 0,99	10,30 ± 0,67
	2C	19,50 ± 0,50	21,33 ± 2,08	17,50 ± 1,91	19,20 ± 3,56	21,83 ± 0,75	22,33 ± 3,88	22,75 ± 3,40	21,70 ± 1,99	21,20 ± 2,39	22,67 ± 3,97	19,20 ± 3,83	17,25 ± 1,44
	3C	34,40 ^{ab} ± 3,65	28,83 ^b ± 5,42	36,00 ^a ± 2,58	27,25 ^b ± 4,03	28,75 ^b ± 4,65	35,43 ^a ± 2,94	31,20 ^{ab} ± 2,17	24,83 ^b ± 2,93	29,00 ± 3,24	30,50 ± 1,22	33,00 ± 4,06	28,00 ± 4,52

(*) ecar type (**) Les valeurs suivies de la même de la lettre appartiennent au même groupe homogène, selon le test de Newman-Keuls au risque $\alpha=5\%$.
 1C: Premier coupe (40 jours après plantation) 2C :deuxième coupe (50 jours après plantation) 3C: troisième coupe (65 jours après plantation)

Tableau 4.4: Paramètres de croissance de la tige (suite)

Traitements	Essai A: Sol cultivé en pomme de terre				Essai B: Sol cultivé en pomme de terre et désinfecté				Essai C: Sol nu, non cultivé				
	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	
Poids frais des tiges	1C	33.87a**	20.64b	21.67b	18.16b	34.97 b	47.36 a	31.89 b	18.23 c	34.82 a	29.70 b	21.43 c	16.06 d
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		3.50*	3.72	2.53	1.39	3.33*	2.00	4.78	1.80	2.24	4.29	1.17	3.03
	2C	45.35b	57.73a	46.98b	35.20c	70.30 b	89.44 a	69.08 b	57.95 c	50.07 b	69.71a	30.17 c	36.59 c
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		4.15	5.39	4.58	0.16	3.89	6.43	4.45	3.49	10.77	1.40	3.92	4.76
	3C	71.62 a	59.39 c	65.54 b	54.80c	86.04 a	94.69a	76.48 b	59.42 c	65.67 b	61.75 c	79.65 a	53.39 d
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2.37	2.33	2.31	6.27	5.68	4.05	1.02	4.22	1.38	1.02	1.12	2.87
Poids sec des tiges	1C	2.45	2.45	2.70	2.38	3.95 a	3.87b	3.14 c	2.15 c	3.24 b	3.50 a	2.86c	2.00 d
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.21	0.38	0.32	1.30	0.89	1.64	1.20	1.19	1.07	1.30	1.48	1.21
	2C	6.72	6.23	5.87	4.90	9.56 a	7.63 b	6.89 bc	5.66 c	6.65	6.01	5.75	4.29
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2.97	1.90	1.88	2.38	2.92	2.25	1.21	2.17	2.49	3.79	1.50	2.81
	3C	10.11a	8.70 bc	8.98 b	7.63 c	13.66 a	12.57a	11.50 a	7.63b	8.16 c	9.40 b	12.78 a	6.22 d
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1.57	1.61	0.40	1.00	1.63	2.57	1.24	1.67	1.11	2.23	1.42	1.36

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

1C: Premier coupe (40 jours après plantation)

2C: deuxième coupe (50 jours après plantation)

3C: troisième coupe (65 jours après

plantation)

- **Poids frais des racines:** La comparaison des poids des systèmes racinaires montre des différences significatives entre les plants bactérisés et ceux non bactérisés. Ce constat est rapporté lors des trois coupes dans les trois essais. Les poids frais racinaires les plus importants ont été obtenus chez les racines bactérisés avec la souche S20 (Tableau 4.5).
- **Poids sec des racines:** Le poids sec racinaires présent des différences notables dans certaines situations de bactérisation, notamment, avec l'application des souches CHAO et S20 dans les trois conditions expérimentales étudiées (A, B ou C) (Tableau 4.5).

4.2.4 Paramètre de production

- **Nombre de stolons et des ébauches:** Le nombre de stolons et des ébauches était variable entre les différents traitements bactérisés par rapport à leurs témoins respectifs. Ceci, surtout est mis en évidence dans les essais A et C lors de la dernière coupe (Tableau 4.6).
- **Nombre de tubercules:** En termes de nombre de tubercules formés, nous n'avons pas noté des différences notables, à l'exception des traitements bactérisés dans le cas du sol de l'essai A. Ceci a été démontré par des effets de la bactérisation avec la souche CHAO (Tableau 4.6).
- **Poids frais des tubercules:** Les plants bactérisés ont développé des tubercules présentant des poids frais supérieurs à ceux des plants non bactérisés. Dans l'essai B à la deuxième coupe le poids moyens dépasse 70 g/tubercule, alors que chez le témoin est d'environ 40 g/tubercule. Dans l'essai C, correspondant au sol non cultivé, à la deuxième coupe le poids frais maximal (99,80 g/tubercule) a été noté chez les plants bactérisés par la souche CHAO (Tableau 4.6).
- **Poids sec des tubercule:** Les mesures en poids sec de tubercules on montré que les différences sont surtout significatives avec les plants bactérisés par la souche P64. Les plants bactérisés avec la souche S20 ont monté des poids secs moindres, surtout dans l'essai B correspondant au sol cultivé en pomme de terre et désinfecté (Tableau 4.6).

Tableau 4. 5: Paramètres de croissance des racines

Traitements	Essai A: Sol cultivé en pomme de terre				Essai B: Sol cultivé en pomme de terre et désinfecté				Essai C: Sol nu, non cultivé				
	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	
Longueur des racines	1C	51,00a	46,00 b	55,00a	32,00c	42,75b	54,00 a	41,00 b	31,50 c	41,20	44,00	43,33	40,33
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		4,33	2,16	8,66	5,71	2,75	5,23	7,02	1,91	5,63	2,16	3,05	4,16
	2C	56,50	54,60	51,75	55,00	47,66 b	54,17 a	52,33ab	41,00 c	54,00 b	51,00 b	56,33 a	52,50 b
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		5,72	4,15	3,51	6,27	2,08	3,25	2,51	1,73	1,83	1,73	1,15	3,53
	3C	57,75 b	63,50 a	52,33 c	48,00 d	53,40 b	54,40ab	57,33 a	51,00 b	56,67 c	64,67 b	64,00 a	52,33 d
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		3,20	2,82	0,70	1,00	4,61	2,50	2,08	1,00	3,06	4,24	1,41	3,78
Poids frais des racines	1C	8,76	9,80	8,66	7,72	8,34	8,63	8,98	5,49	10,60	9,65	10,31	7,14
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		3,19	2,65	1,90	3,26	1,48	1,58	5,03	1,31	3,05	2,34	3,93	2,13
	2C	16,33 b	12,88 b	23,66 a	12,02 b	19,05 a	19,43 a	21,47 a	15,00 b	13,47 b	15,96 a	13,33 b	12,69 b
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		3,20	0,80	3,76	2,00	1,67	3,74	5,02	1,00	0,33	0,98	4,68	2,65
	3C	18,33 b	19,55 b	35,22 a	13,85 a	38,88 a	31,58 a	22,46b	17,81 c	15,67 b	18,50 a	19,56 a	13,13 b
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2,57	2,12	3,09	1,07	4,31	3,58	1,30	3,69	1,06	2,19	2,24	2,09
Poids sec des racines	1C	3,03	2,93	2,77	2,87	2,68 b	3,28 a	1,89 c	1,85 c	3,23	3,04	3,07	2,27
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,92	0,23	1,50	1,39	1,31	1,56	0,39	0,76	1,30	1,02	0,98	0,68
	2C	5,39 b	6,26	7,38	5,81	7,83ab	8,77 a	7,59 ab	6,79ab	5,39	5,56	6,31	5,32
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2,62	2,47	2,09	1,23	2,15	2,66	2,24	1,09	0,24	1,37	2,77	2,37
	3C	5,78	5,83	7,48	5,76	7,65 ab	8,29 a	7,34ab	7,17 b	6,34	5,49	5,95	4,49
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1,13	0,65	2,79	2,56	1,89	2,12	0,70	1,83	1,67	2,78	2,25	1,25

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

1C: Premier coupe (40 jours après plantation)

2C: deuxième coupe (50 jours après plantation) 3C: troisième coupe (65 jours après plantation)

Tableau 4.6: Paramètres de production

Traitement	Essai A : Sol cultivé en pomme de terre				Essai B : Sol cultivé en pomme de terre et désinfecté				Essai C : Sol nu, non cultivé				
	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	P64	CHAO	S20	Témoin	
Nombre de stolons		7.00	5.83	6.71	6.40	7.17 b	5.20 c	8.00 a	5.125 c	7.33	7.14	6.83	5.67
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1C	1.83	.60	1.11	1.52	1.60*	0.45	0.76	0.83	1.53	1.07	1.47	0.82
		3.60 b	7.00 a	6.20 a	3.80 b	6.75	6.86	7.67	6.00	5.00 b	7.25 a	3.00 c	5.80 b
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2C	0.89	1.00	1.64	1.48	1.71	1.35	1.53	0.82	2.00	2.06	1.00	0.84
	5.00 a	5.00 a	5.33 a	2.33 b	7.60	7.33	7.29	6.50	6.67 a	6.00 a	5.40 a	2.20 b	
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
3C	1.00	1.00	1.53	0.58	1.14	1.15	1.11	1.29		1.41	0.55	0.45	
Nombre de tubercules		3.40 ab	3.75 ab	4.29 a	2.75 b	3.67	4.25	3.50	3.00	4.00	5.00	3.29	2.63
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2C	0.89	1.26	1.5	0.96	1.53*	2.5	2.12	3.46	2.00	2.56	2.21	1.00
		5.29ab	6.00 a	5.33 ab	3.88 b	6.67	6.50	6.33	5.00	6.29	5.43	6.20	4.44
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3C	2.21	0.82	1.58	2.44	2.42	2.82	3.98	1.00	2.21	1.81	2.74	1.88
Poids frais des tubercules		30.72 a	23.94 b	17.55 b	15.45 b	33.98 b	31.34 a	11.22 c	24.55 b	38.36 a	29.15 b	27.27 b	22.28 c
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2C	0.51	4.65	0.18	1.58	7.58	2.38	0.01	2.55	0.38	3.27	3.53	2.09
		58.17 b	71.42 a	76.53 a	44.35 c	77.85 a	81.43 a	76.61 a	46.47 b	56.60 b	99.83 a	84.53 a	38.53 c
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3C	1.2	9.59	9.02	3.57	6.72	6.66	1.16	7.17	3.60	8.34	7.50	2.06
Poids sec des tubercules		8.93 a	3.96 b	3.47 c	2.21 c	4.54	3.51	1.57	3.44	3.74	4.60	3.79	2.35
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2C	4.22	2.58	1.11	1.66	1.85	1.99	0.74	1.80	1.46	2.99	1.28	1.55
		12.33 a	10.68ab	11.77ab	8.90 b	14.50a	10.63b	11.70b	6.52c	11.67 a	11.19 a	11.29 a	8.52 b
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3C	3.73	2.15	3.32	2.37	3.13	2.17	3.15	1.27	2.20	2.76	3.30	2.05

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

1C: Premier coupe (40 jours après plantation) 2C: deuxième coupe (50 jours après plantation) 3C: troisième coupe (65 jours après plantation)

4.2.5 Test de viabilité des bactéries

Par rapport à l'inoculum de bactérisation appliqué initialement (J_0) à la concentration de 10^6 CFU/g de sol, nous constatons que les concentrations évaluées à la fin de notre expérimentation (J_{90}) sont de l'ordre de 10^5 à 10^7 CFU/g de sol. Ces seuils témoignent d'une stabilité et même parfois d'une augmentation relative des populations bactériennes dans le sol rhizosphérique. Nous avons constaté sur les fragments de racines déposés sur le milieu de culture, une prolifération bactérienne intense, montrant la formation d'une couche adhérente étroitement aux racines (Figures 4.9 et 4.10).

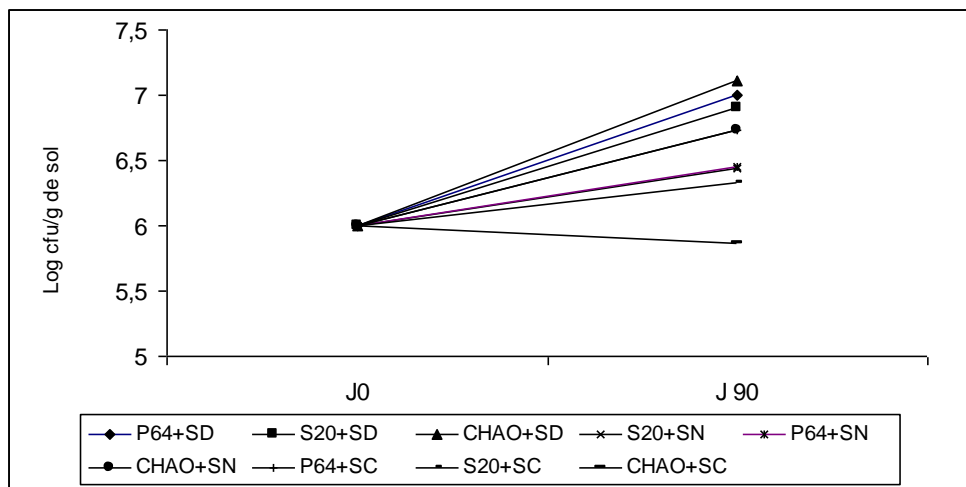
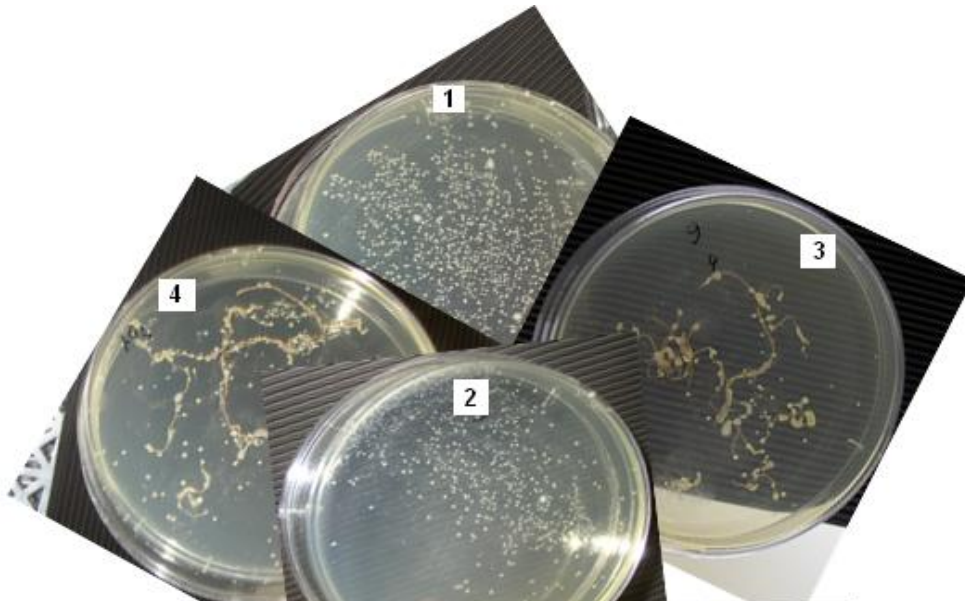


Figure 4.9: Evolution des populations bactériennes en fonction du temps



- 1, 2: Boîte présentant des colonies bactériennes ;
 3, 4: Fragments de racines entourés de colonies bactérienne.

Figure 4.10: densité bactériennes et leur adhérence sur les racines.

4.2.6 Quantification des gains

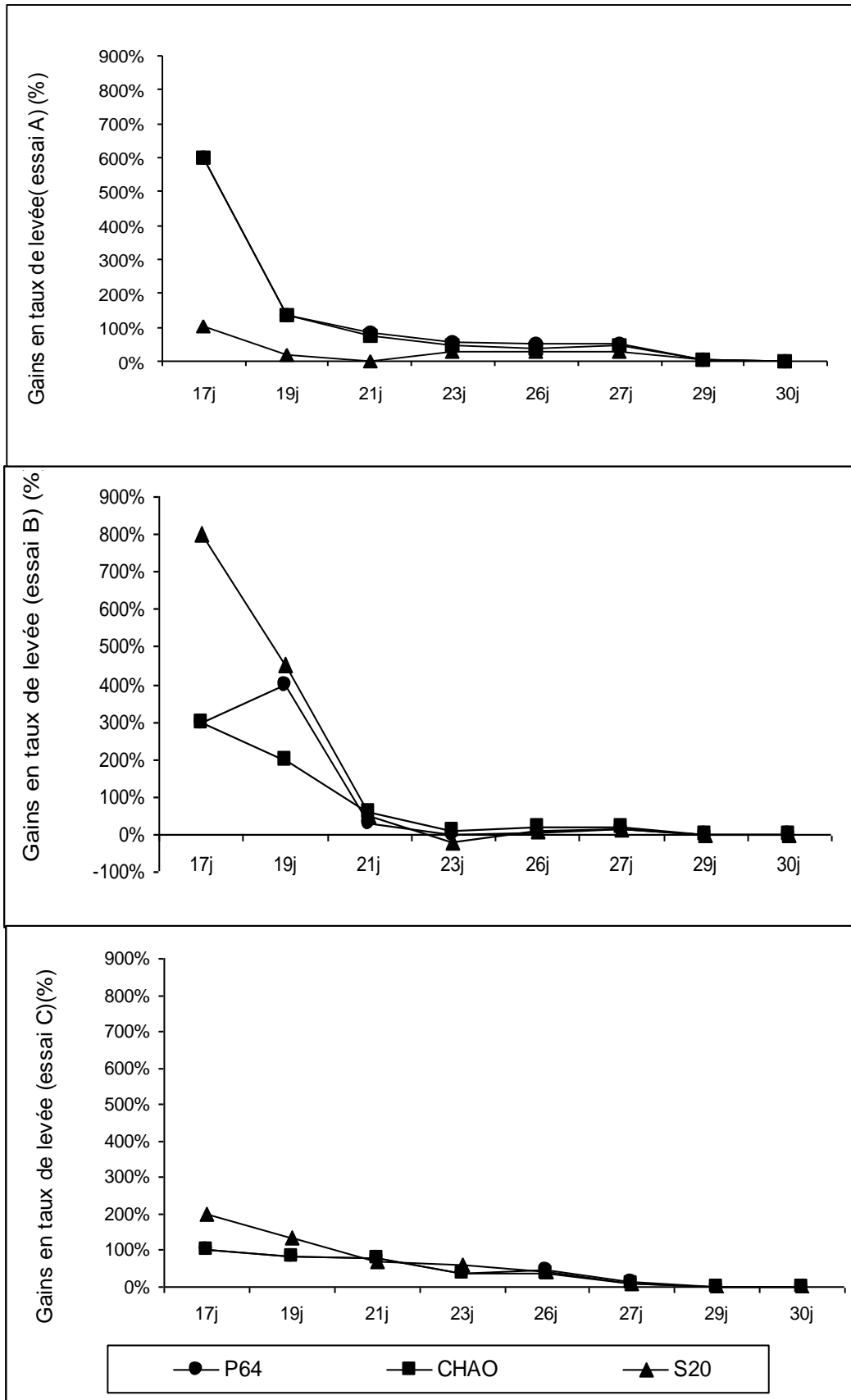
La quantification des gains, après étude comparative entre les traitements bactérisés et leurs témoins, montre que les effets sont très notables au début des observations, c'est-à-dire entre les 2^{ème} et 3^{ème} semaines ayant suivi la plantation. En effet, nous constatons que les gains sont six à huit fois de plus: cas des souches P64 et CHAO dans l'essai A (600 %) et la souche S20 dans l'essai B (800 %). Dans l'essai C les gains sont moindres par rapport aux essais précédents, mais restent appréciables avec la souche S20 (200 %) et avec les souches P64 et CHAO (100 %) (Figure 4.11).

Pour l'ensemble des paramètres évalués (de croissance et de production), les taux de gains varient de 1 % jusqu'à 305 %, sachant bien que les conditions dans lesquelles nos essais ont été réalisées (la conduite en pot), ne sont pas assez favorables pour une croissance végétale optimale.

Nos résultats montrent l'obtention de gains en phytomasse aérienne, surtout dans le cas des essais B et C, qui varient de 6 à 50 % en nombre de tiges (Figure 4.12); de 1 à 43 % en hauteur (Figure 4.12); de 8 à 160 % en poids frais (Figure 4.13), et de 3 à 106 % en poids secs (Figure 4.13)

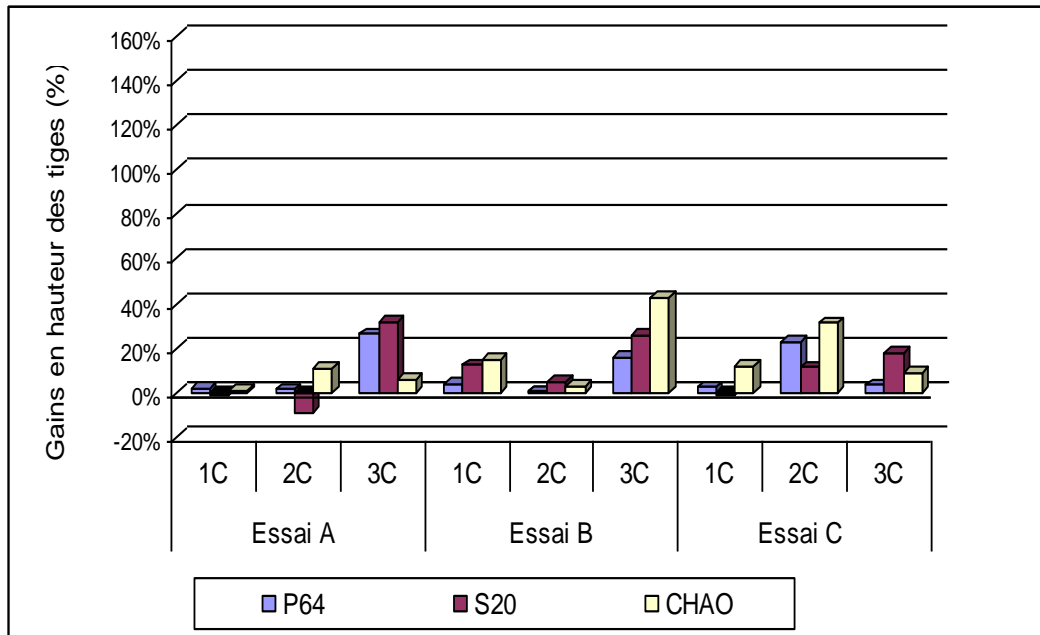
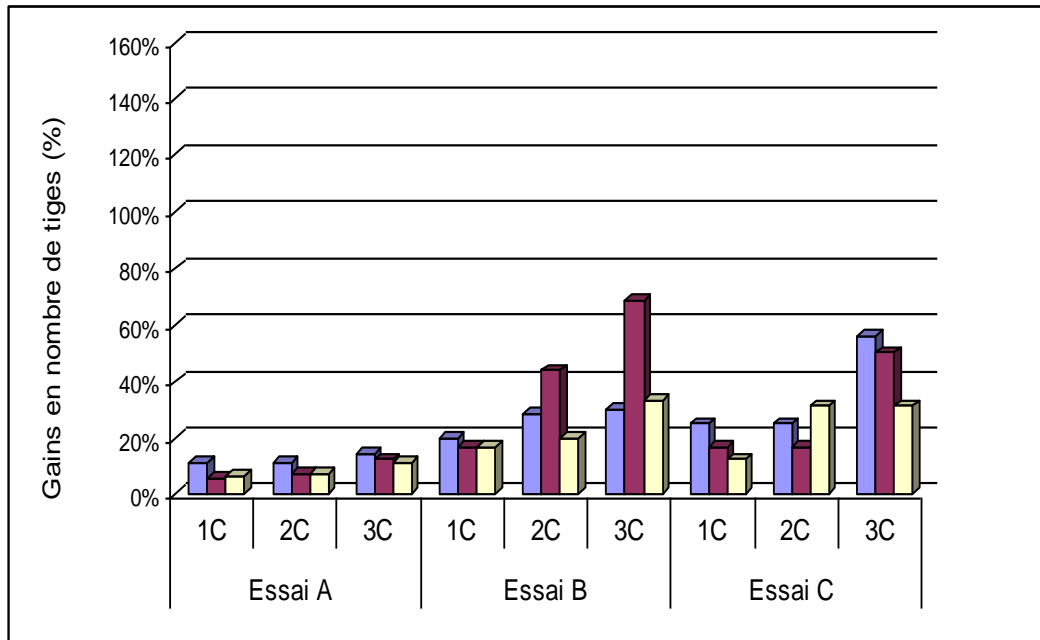
La phytostimulation a été aussi notable au niveau de la partie souterraine. Les gains en volume racinaire sont assez appréciables, atteignant des niveaux en longueur (72 %), en poids frais (154 %) et en poids sec (77 %) (Figure 4.14). Avec les mensurations effectuées sur les stolons, nous constatons qu'il y a des gains en nombre allant de 1 à 40 % (essai A), de 5 à 129 % (essai B), de 21 à 203 % (essai C) (Figure 4.15). Ces résultats montrent que les gains sont plus importants dans l'expérimentation menée en sol C. En terme de production, les gains sont aussi appréciables en nombre de tubercules (90 %), de leur poids frais (191 %), et de leur poids sec (305 %) (Figure 4.16).

Même si la phytostimulation a été enregistrée sur la partie aérienne, le constat général fait ressortir que les effets de biostimulation sont plus importants au niveau de la partie souterraine.



Essai A: Sol cultivé en pomme de terre, Essai B: sol A désinfecté, Essai C: Sol non cultivé

Figure 4.11: Gains en taux de levée (%) dans les trois essais (A, B, C).



Essai A: sol cultivé en pomme de terre

Essai B: sol A désinfecté

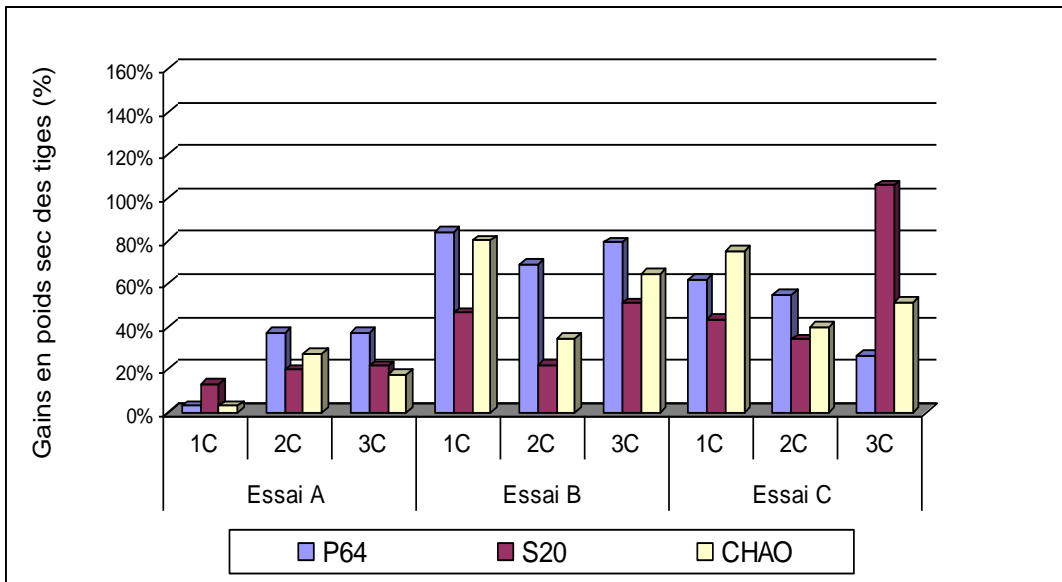
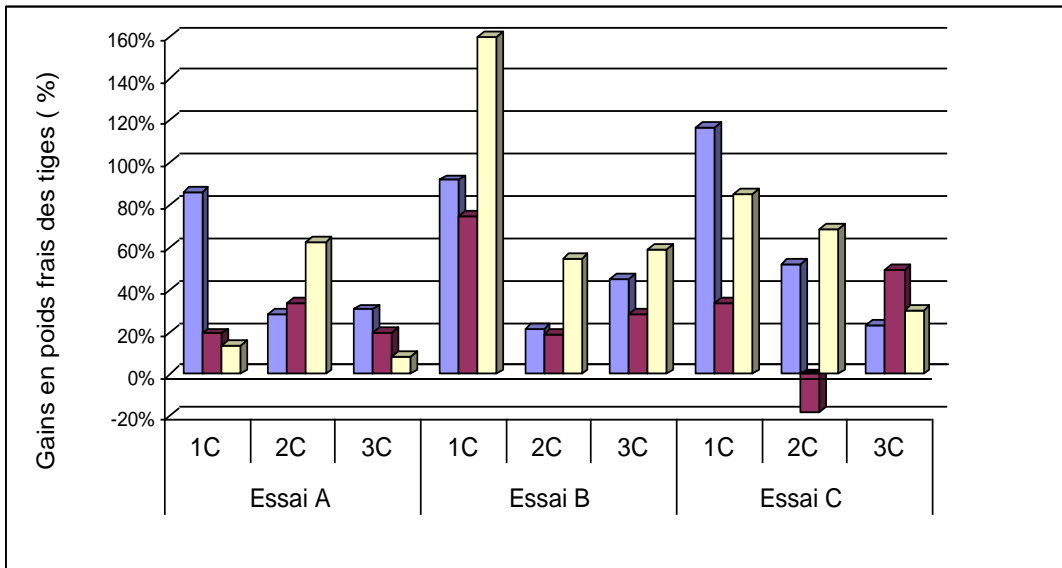
Essai C: sol non cultivé

1C : Premier coupe: (40 jours après plantation)

2C :deuxième coupe: (50 jours après plantation)

3C :troisième coupe: (65 jours après plantation)

Figure 4.12: Gains (%) nombre et hauteur des tiges



Essai A: sol cultivé en pomme de terre

Essai B: sol A désinfecté

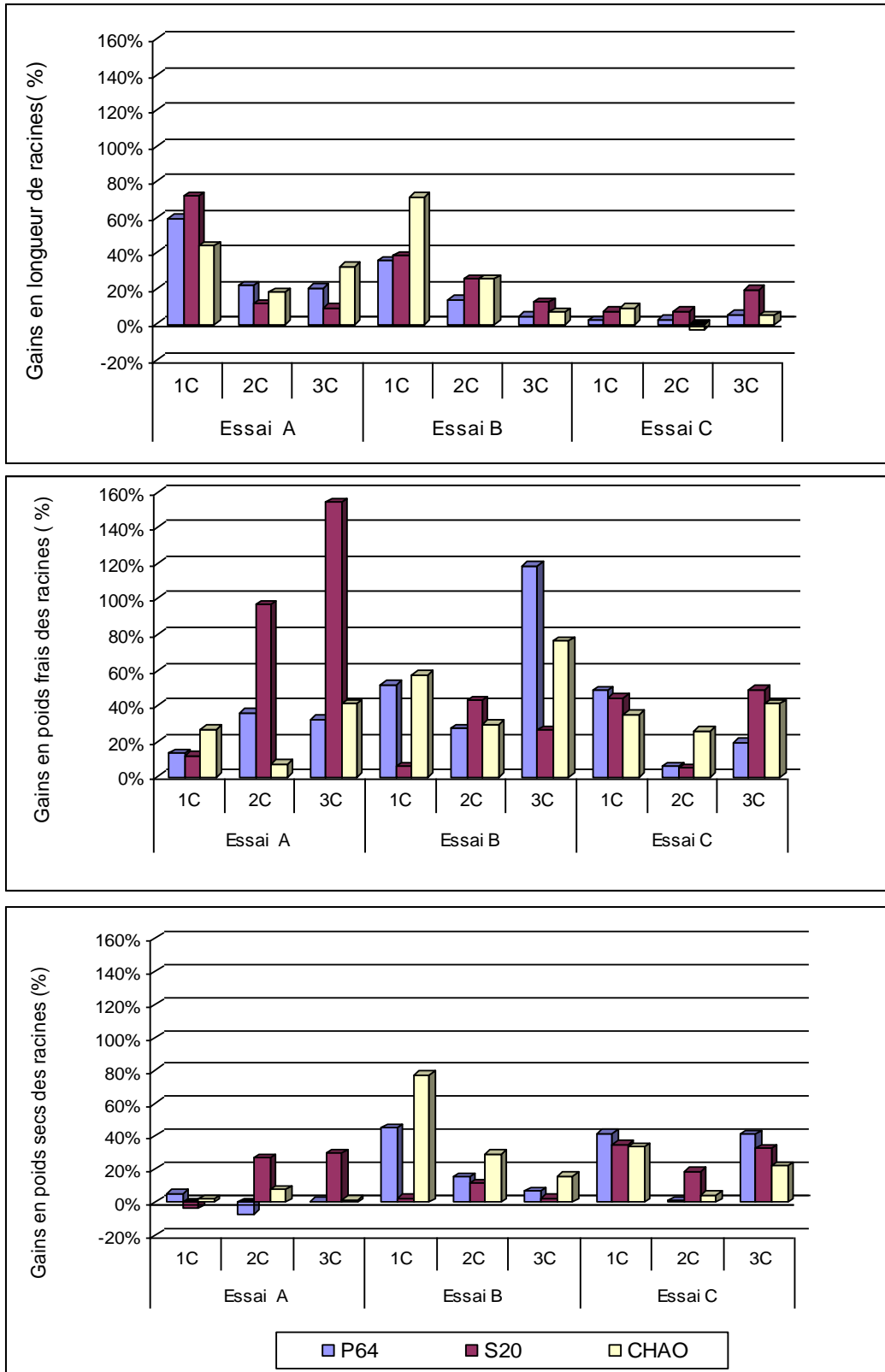
Essai C: sol non cultivé

1C : Premier coupe: (40 jours après plantation)

2C :deuxième coupe: (50 jours après plantation)

3C :troisième coupe: (65 jours après plantation)

Figure 4.13: Gains (%) en poids frais et sec des tiges



Essai A: sol cultivé en pomme de terre

1C : Premier coupe: (40 jours après plantation)

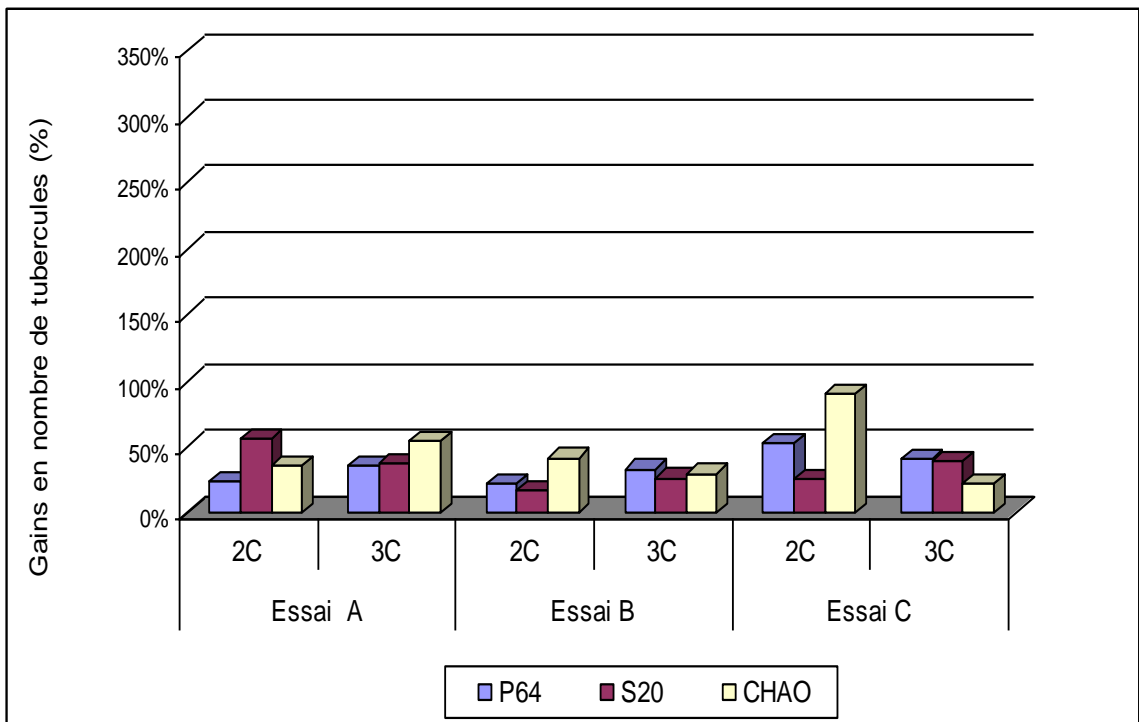
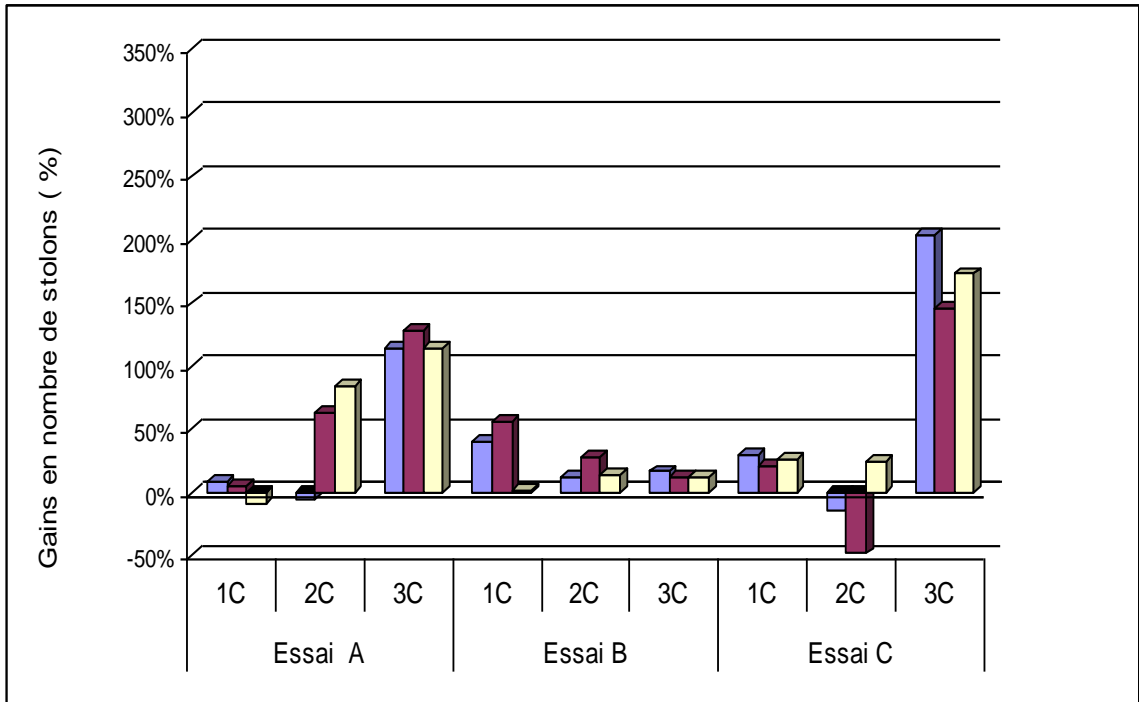
Essai B: sol A désinfecté

2C :deuxième coupe: (50 jours après plantation)

Essai C: sol non cultivé

3C :troisième coupe: (65 jours après plantation)

Figure 4.14: Gains (%) en volume racinaire.



Essai A: sol cultivé en pomme de terre

Essai B: sol A désinfecté

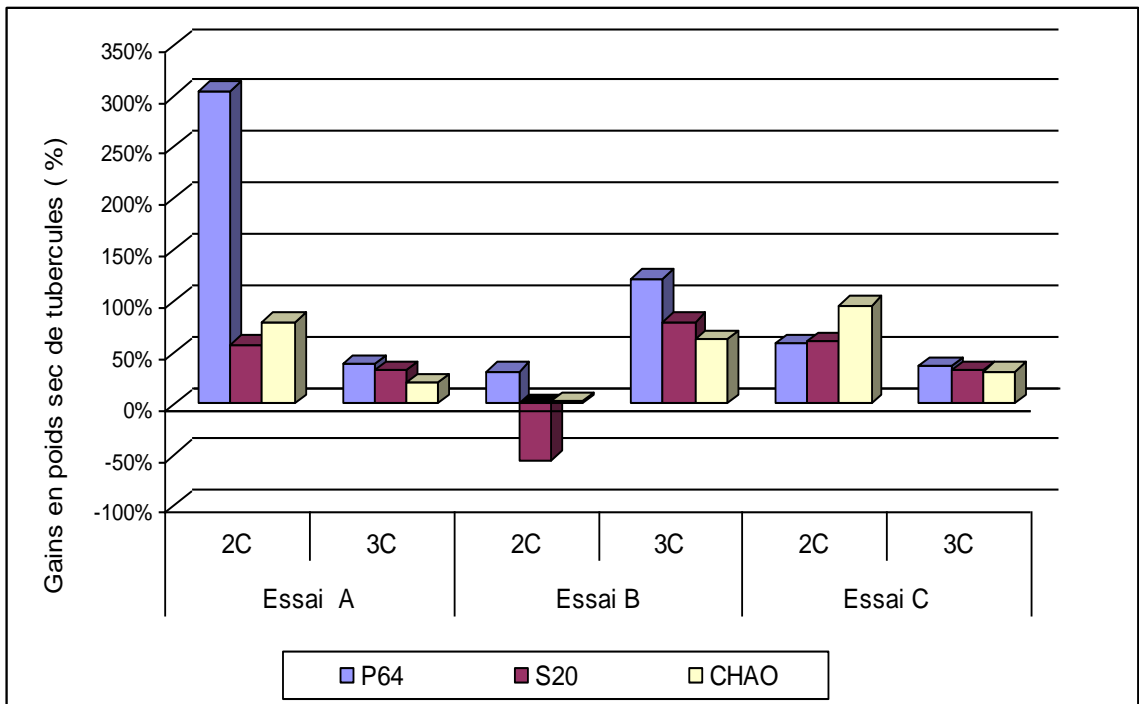
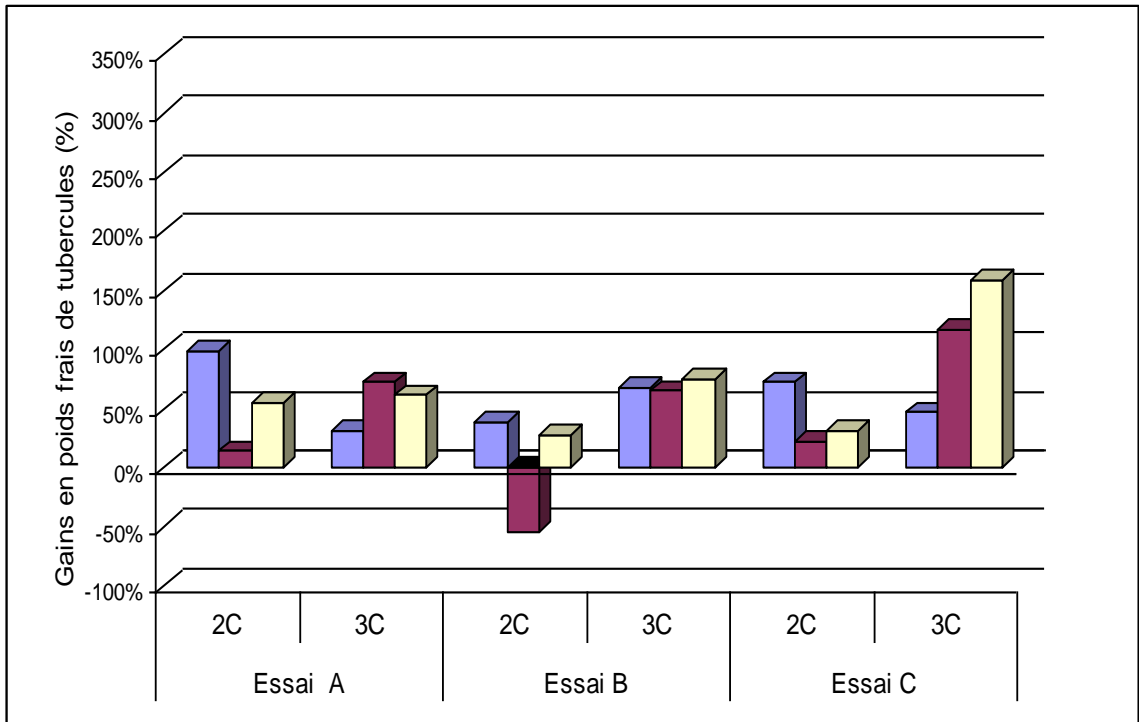
Essai C: sol non cultivé

1C : Premier coupe: (40 jours après plantation)

2C :deuxième coupe: (50 jours après plantation)

3C :troisième coupe: (65 jours après plantation)

Figure 4.15: Gains (%) en nombre de stolons et en tubercules.



Essai A: sol cultivé en pomme de terre

Essai B: sol A désinfecté

Essai C: sol non cultivé

1C : Premier coupe: (40 jours après plantation)

2C :deuxième coupe: (50 jours après plantation)

3C :troisième coupe: (65 jours après plantation)

Figure 4.16: Gains (%) en poids frais et en poids sec des tubercules.

4.2.7 Discussion

D'une manière générale les résultats obtenus, dans notre expérimentation, mettent en évidence les effets bénéfiques de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* sur la phytostimulation des plants de pomme de terre. Cette stimulation de la croissance s'est traduite par des gains en cinétique et en taux de levée, et en phytomasse par rapport au témoin. De nombreux travaux ont mis en évidence les effets directs de diverses souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur l'accélération et l'obtention de gains en levée. Kloepper et *al.*, [12] ont obtenu des gains de 80 % chez la pomme de terre. Chez d'autres espèces végétales les gains sont 50 % avec le soja [304], et de 30 à 60 % avec le maïs [50].

La biostimulation induite par les PGPR est la conséquence de synthèse de métabolites secondaires analogues aux phytohormones et à l'amélioration de l'alimentation hydrominérale de la plante [305, 306]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent agir directement sur la plante en modifiant positivement sa physiologie, tout en améliorant son bilan minérale, et son métabolisme en induisant meilleure résistance [160].

Les mécanismes proposés par lesquels les PGPR stimulent la croissance des plantes, incluent la synthèse bactérienne d'hormones analogue à ceux des végétaux, tels que l'AIA [84, 307, 308, 120]; les cytokinines [309]; les gibbérellines et même des vitamines [57]. En cas de manque en éthylène produit par la plante, il peut être remplacé par l'ACC (Aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase) d'origine bactérienne [104]. L'acide gibbérellique agit en permettant la croissance d'un plus grand nombre de germes et en stimulant la différenciation des stolons [310]. Les germes de tubercules poursuivent leur croissance au-dessus du sol en devenant des tiges feuillées, ce qui rend assez rapidement la plante autotrophe [306].

L'amélioration des acquisitions hydrominérales se réalise par l'évaluation de la disponibilité des éléments nutritifs assimilables par les plantes, surtout que la pomme de terre se classe parmi les plantes très exigeantes en azote, en phosphore et en potassium. Une bonne alimentation en potasse est nécessaire pour améliorer la qualité des tubercules (abaissement de la teneur en sucres réducteurs et de la sensibilité au brunissement enzymatique) et réduit leur sensibilité aux endommagements (noircissement interne en particulier) [311].

Le fer ionique est considéré parmi les mécanismes susceptibles d'être influencé par la présence des PGPR dans le sol. Pour la plante, les besoins en cet élément sont considérés comme les plus élevés, entre les oligoéléments; allant à des niveaux de 100 g/ha et qui peut être bloqué en cas de fortes alcalinité ou acidité dans le sol [311]. L'intervention des sidérophores microbiens, et en particulier ceux des *Pseudomonas* fluorescents, peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer. Si l'excrétion de sidérophores par les rhizobactéries est abondante, la plante trouvera à sa disposition du Fe^{+++} chélaté qu'elle pourra assimiler facilement [312] sous forme de complexe fer-sidérophore [313].

L'azote est le facteur déterminant du rendement de la culture, il favorise dans un premier temps le développement du feuillage, puis la formation et le grossissement des tubercules [310]. Chez les PGPR, il s'agit surtout de la dénitrification dissimulatrice qui augmente la biodisponibilité en cet élément sous sa forme assimilable par la plante [35].

L'acide phosphorique est un facteur de précocité et favorise le développement racinaire et augmente le nombre de tubercules par plant [314]. Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol [91, 92]. Le phosphore est souvent immobilisé sous forme de phosphates insolubles (phosphates de calcium, de fer ou d'aluminium...) [315]. La souche (P221) de *Pseudomonas fluorescens* est capable, en conditions contrôlées, de transformer le phosphore total en phosphate assimilable par les céréales [316]. De son côté, Lemanceau [6] pense que les *Pseudomonas* spp. fluorescents, augmenteraient la concentration en phosphore soluble dans le sol, soit par minéralisation des phosphates organiques, grâce à des phosphatases, soit par solubilisation des phosphates inorganiques sous l'effet d'acides libres.

Les résultats du test de viabilité microbienne, dans les essais de la phytostimulation des tubercules montrent que nos souches bactériennes inoculées (P64, CHAO, et S20) ont réussi à coloniser intensivement les différents types de sols expérimentés (A, B et C). La colonisation intensive de la surface de la plante et de la rhizosphère par les rhizobactéries, améliore la croissance et le développement des plantes [27, 31, 317]. La colonisation rhizosphérique peut empêcher les agents pathogènes de s'installer sur ou dans les plantes. Cependant, les interactions directes et indirectes, entre les rhizobactéries et les pathogènes, réduisent le développement et la sévérité des maladies [318].

Les PGPR doivent être présents sur les racines en nombre suffisant pour induire des effets bénéfiques sur les plantes afin de pouvoir instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère [26, 43]. Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant le potentiel colonisateur d'une souche, telles que la mobilité (présence d'un flagelle) [319], le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines, en tant que sources de carbone et d'azote, sont des caractéristiques recherchées chez les souches bactériennes bénéfiques [320, 321, 322].

D'après Digat [298], une souche bactérienne stimulatrice pour qu'elle soit efficace, elle doit pouvoir parvenir à coloniser efficacement la spermosphère et/ou la rhizosphère. Donc, la capacité de coloniser les racines par les PGPR est considérée comme un critère déterminant, de l'efficacité de l'inoculum dans la stimulation de la croissance et le biocontrôle des maladies [130].

La compétence rhizosphérique chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents dépend de leurs caractéristiques intrinsèques, donc génotypiques et des conditions rhizosphériques. Ces dernières sont déterminées par le sol, la plante et la flore tellurique. D'ailleurs, la colonisation rhizosphérique dépend, aussi bien de la concentration bactérienne apportée que de la technique de bactérisation utilisée. La nature du support des inoculats-bactériens, introduits au niveau de la rhizosphère ou sur les semences, joue un rôle important dans le maintien de la viabilité des bactéries [35]. Généralement la durabilité de la résistance pour les PGPR diffère d'une culture à une autre et aussi selon les souches bactériennes appliquées [115].

Les bactéries bénéfiques peuvent être apportées par l'inoculation des semences selon diverses techniques, tels que le trempage, le pelliculage, l'enrobage ou l'encapsulation. Les plantules peuvent être bactérisées par trempage des racines dans une suspension bactérienne lors de la transplantation du végétal. Les sols et les substrats de culture peuvent être bactérisés par des inoculums bactériens formulés dans des préparations conditionnées [323].

La présence de la microflore indigène dans le sol naturel (essai C) présente un effet relativement négatif sur la croissance du végétal dans notre cas, avec la pomme de terre, illustré par la courbe d'évaluation de l'émergence des témoins non bactérisés dans les trois essais A, B et C. Cependant, les effets bénéfiques des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, les plus importants sur la promotion de la croissance ont été observés

au niveau du sol naturel. En effet, les écarts entre les paramètres de croissance mesurés chez les plants bactérisés et les plants témoins (non bactérisés) sont plus importants dans le sol naturel (essai A), par rapport aux sols désinfectés (essai B) et non cultivés (essai C) [35].

La stimulation de la croissance des plantes par *Pseudomonas* spp. fluorescents dans un sol désinfecté, en éliminant l'effet indirect de bioprotection, peut être dûe à la production de régulateurs de la croissance végétale, ou à une stimulation de l'assimilation des éléments nutritifs [324]. Dans certains sols intensivement cultivés où les rotations de cultures ne sont pas fréquentes, on parle de "fatigue des sols", la microflore résidente exerce à la longue un effet dépressif sur le végétal. Les *Pseudomonas* bénéfiques sont capables de déplacer et parfois de remplacer la microflore concurrente délétère ou parasite [325].

Dans les sols nus (non cultivées), ces rhizobactéries peuvent se rencontrer à des densités de 10^3 à 10^5 CFU/g de sol sec, associées particulièrement aux constituants organiques [326]; alors que dans les sols cultivés, elles peuvent atteindre des proportions élevées, associées aux surfaces racinaires des plantes (10^6 à 10^8 CFU/g de racines) [327].

4.3 Induction de la résistance systémique (IRS)

4.3.1 Confirmation de l'infection par PVY

Le test DAS-ELISA réalisé sur le plant virosé, utilisé comme source d'inoculum viral et se caractérisant par la symptomatologie typique (Figure 3.6) du virus Y de la pomme de terre PVY (Potato Y Virus), a montré la présence effective de ce virus. Les résultats montrent l'absence des principaux virus de la pomme de terre recherchés (PLRV, PVA, PVS, PVS) et la présence du PVY (test positif) (Tableau 4.7).

Tableau 4.7: Résultats du test sérologique DAS- ELISA

Virus recherchés	PLRV	PVY	PVA	PVS	PVX
Réaction	-	+	-	-	-

-: réaction négative (absence de virus)

+: réaction positive (présence de virus)

4.3.2 Taux d'infection

Le développement des symptômes, révélateurs de l'infection par PVY, a commencé après 32 j de l'inoculation. Cette initiation de la maladie a été caractérisée par un taux d'infection élevé chez le témoin (plants non bactérisés) (56,66 %), alors que chez les traitements bactérisés en dépit de la présence du virus les niveaux d'infection étaient relativement faibles. Ceci est notable avec les traitements (P64 + PVY) et (CHAO + PVY) où les taux d'infections sont similaires et de l'ordre de 6,66 %. Dans le cas de l'application de la souche S20, en association avec PVY, l'infection (26,66 %) était supérieure aux précédents traitements, mais toujours en deçà des niveaux de l'infection du témoin (Tableau 4.8, Figure 4.17)).

Durant toute la période de notre suivi, nous avons constaté que malgré l'évolution des taux d'infection chez l'ensemble de nos traitements, ceux bactérisés restent toujours relativement inférieurs par rapport au témoin (Figure 4.18). La comparaison des effets des souches bactériennes montre que la cinétique d'infection chez les plants bactérisés par la souche P64 est lente par rapport aux deux autres souches bactériennes. Ce constat est observable, particulièrement, aux périodes de notation correspondants aux 37 j, 42 j et au 47 j. La notation finale montre un taux d'infection identique (93,33 %) entre le témoin et le traitement (S20 + PVY), alors que les autres traitements sont de 73,33 % (P64 + PVY) et de 86,66 % (CHAO + PVY) (Figure 4.18).

Tableau 4.8: Evolution du taux d'infection et les valeurs de la sévérité de la maladie (%) en fonction du temps

Jours après inoculation	Témoin PVY		P64 + PVY		CHAO + PVY		S20 + PVY	
	Taux d'infection	Sévérité	Taux d'infection	Sévérité	Taux d'infection	Sévérité	Taux d'infection	Sévérité
32j	56,66 c*	7,08 c	6,66 a	0,83 a	6,66 a	0,83 a	26,66 b	3,33 b
37j	63,33 c	15,41 c	33,33 a	4,58 a	46,66 b	6,66 a	46,66 b	8,16 b
42j	80 d	26,25 d	43,33 a	6,25 a	70 c	10,41 b	66,66 b	12,5 c
47j	90 c	33,75 d	50 a	7,5 a	83,33 b	17,08 b	83,33 b	19,58 c
52j	93,33 c	39,58 d	73,33 a	16,26 a	86,66 b	22,5 b	93,33 c	31,25 c
Préculture	50 b	13,00 c	50 b	6,00 b	40 a	5,00 a	60 c	8,00 c

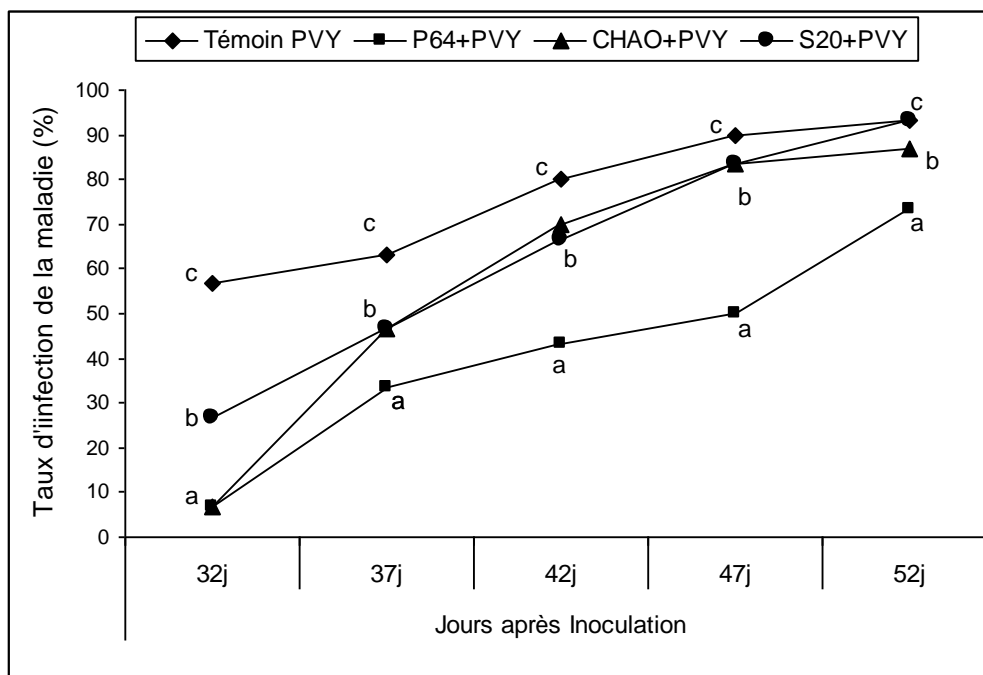
j: jours

PVY: le virus Y de la pomme de terre

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



Figure 4.17: Symptômes de virus Y de la pomme de terre (Potato Virus Y) PVY sur des plants de l'essai de l'ISR: 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9 Plants malades; 2, 6 Plants sains.



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

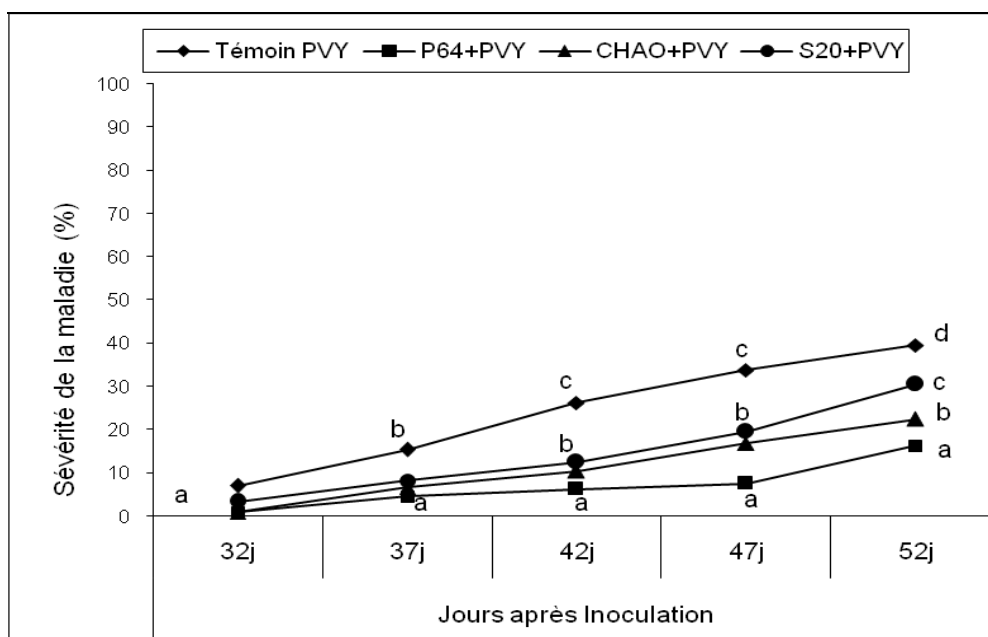
Figure 4.18: Taux d'infection par PVY

4.3.3 Sévérité de la maladie

L'estimation de la sévérité, des infections par PVY, a montré une variabilité notable chez nos traitements dès le début de la maladie, notamment après la troisième observation (42 j). Même après le signalement des débuts des infections (entre 32 j et 42 j), la sévérité reste faible en ne dépassant pas 12,5 %, alors que chez le témoin était de 26,25 % (Figure 4.19).

En phase finale (52 j), les différences étaient très notables par rapport au témoin. En effet, le taux de ce dernier était de 39,58 %, alors que nos traitements bactérisés ont montré des niveaux largement inférieurs. Les taux de sévérité étaient de l'ordre de 16,26 % (a) (P64 + PVY), 22,5 % (b) (CHAO + PVY). Pour le cas particulier des plants bactérisés avec la souche S20, même si le niveau d'infection est pratiquement similaire au témoin, la sévérité reste faible par rapport à ce dernier.

Juste au début des signalisations des infections, nous avons noté de faibles sévérités chez les plants bactérisés par rapports au témoin. Ceci s'est exprimé avec des taux qui variaient de 0,83 à 3,33 % pour les premiers et à 7,08 % pour le témoin. Le même rythme d'évolution a été noté après 37 j de l'inoculation (Figure 4.19).



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

Figure 4.19: Sévérité de la maladie.

4.3.4 Test préculture

Les résultats obtenus, après la réalisation de test préculture, montrent qu'après 40 j de la bactérisation initiale des tubercules, les niveaux d'infection que ce soit chez le témoin ou les traitements bactérisés sont assez élevés (de 40 à 60 %).

L'examen des résultats concernant la sévérité de la virose, en question, montre qu'il n'y a pas de concordance des valeurs notées, via le test ELISA, par rapport aux niveaux d'infection cités précédemment. En effet le témoin avec un taux d'infection de 50 % a exprimé une sévérité plus élevée (13 %). Dans les mêmes conditions, les traitements bactérisés, même avec des taux d'infection rapprochés au témoin, les sévérités enregistrées étaient de loin moindre, exprimant des symptômes ne dépassant pas le niveau 1 (mosaïque sur une partie) de l'échelle d'évaluation (cf: 3.5.7.1) (Figure 4.20). En termes d'expression symptomatologique, les plants témoins ont développé des frisolées, alors que les plants bactérisés ont montré des symptômes moins prononcés, (mosaïques). Ce constat symptomatologique a été confirmé par le biais du test ELISA, où les densités optique (DO) obtenues confirment une corrélation entre les niveaux de sévérité avec les charges virales dans les échantillons analysés (Tableau 4.9, Figure 4.21).



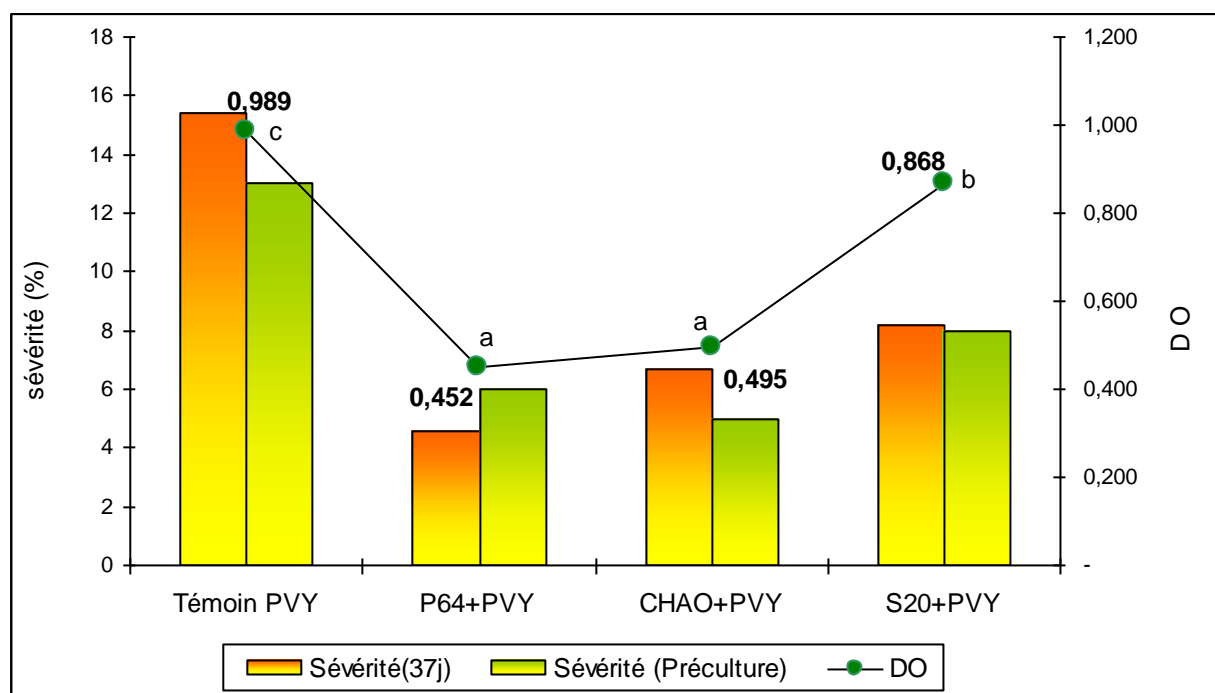
Figure 4.20: Symptômes de virus Y de la pomme (Potato virus Y) PVY sur des plants du test préculture

Tableau 4.9: Test ELISA et Sévérité de la maladie (37 jours après inoculation) et du test préculture

	Témoin (PVY)	P64+PVY	CHAO+PVY	S20+PVY
37^{eme} jours après inoculation	15,41d	4,58a	6,66b	8,16c
Sévérité (Préculture)	13,00d	6,00b	5,00a	8,00c
DO du test préculture	0,989c	0,452a	0,495a	0,868b

DO: densité optique ($\lambda = 405 \text{ nm}$)

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



DO: densité optique ($\lambda = 405 \text{ nm}$)

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

Figure 4.21: Test ELISA et Sévérité de la maladie (37 jours après inoculation) et du test préculture

4.3.3 Discussion

L'expérimentation relative à l'induction systémique de la résistance (ISR), vis-à-vis du virus (PVY) a mis en évidence des effets appréciables en bioprotection chez les plants de pomme de terre issus de la bactérisation des tubercules. La comparaison des témoins (inoculés avec le virus Y de la pomme de terre) et les plants bactérisés en dépit de leur inoculation avec le même virus, montrent des gains dès l'initiation de la maladie (32 jours après inoculation), allant de 53 % à 88 % (Figure 4.22). Il est à noter que la variété "Désirée", utilisée dans notre travail, est considérée comme variété à maturité demi-tardive ayant un cycle végétatif de 115 à 120 j en moyenne et très peu sensible au virus étudié (Appendice E). Ces caractéristiques peuvent expliquer ce retard constaté dans le déclenchement de l'infection à travers l'expression des symptômes (Figure 4.17).

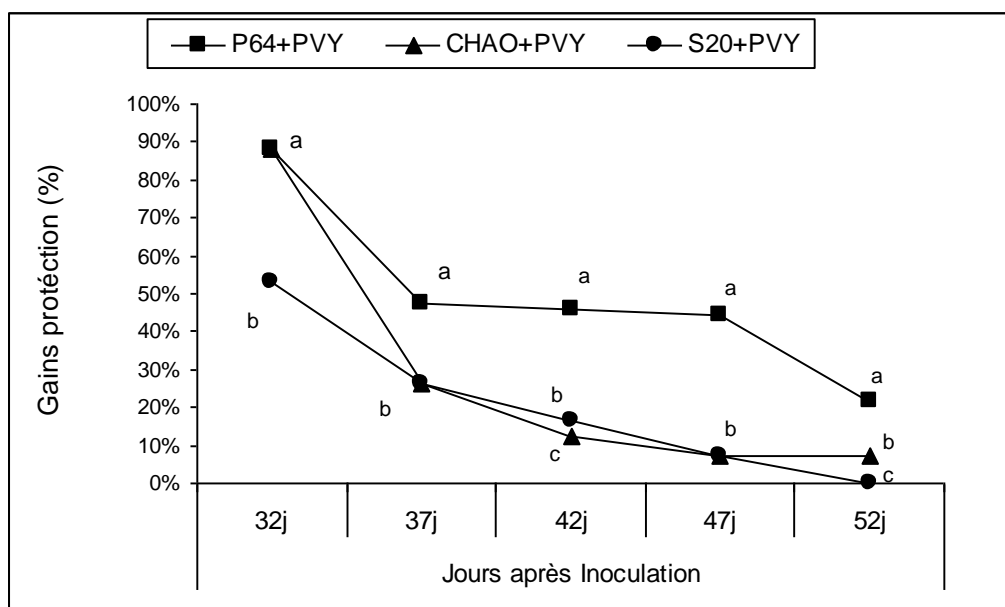
Malgré l'évolution des taux d'infection, chez tous les traitements étudiés au fil du temps; dans toutes les situations la bactérisation a influencé positivement le développement des plants en diminuant la sévérité de l'infection. En effet, les inhibitions de la sévérité sont plus notables et varient de 53 % à 88 % au début de l'infection (32 jours de l'inoculation) et de 23 % à 59 % à la phase maximale de la maladie (52 jours de l'inoculation) (Figure 4.23).

L'induction systémique de la résistance, jugée à travers les taux de sévérité enregistrés, montre que la bioprotection est meilleure (59 %) avec l'application de la souche P64, suivie de celle de CHAO (43 %) et en fin celle de S20 (23 %) (Figure 4.22).

Les résultats du test préculture ont montré une concordance dans les niveaux de sévérité enregistrés, notamment après (37 jours de l'inoculation). Les tests ELISA confirment, de leur part, une charge virale moindre chez les traitements bactérisés par rapport au témoin (DO=0,989). L'analyse comparative entre nos trois souches bactérienne confirme aussi une diminution importante de cette charge virale, avec l'application de la souche P64 (0,452) et CHAO (0,495). Même la souche S20 dont la DO (0,868) reste largement inférieure au témoin.

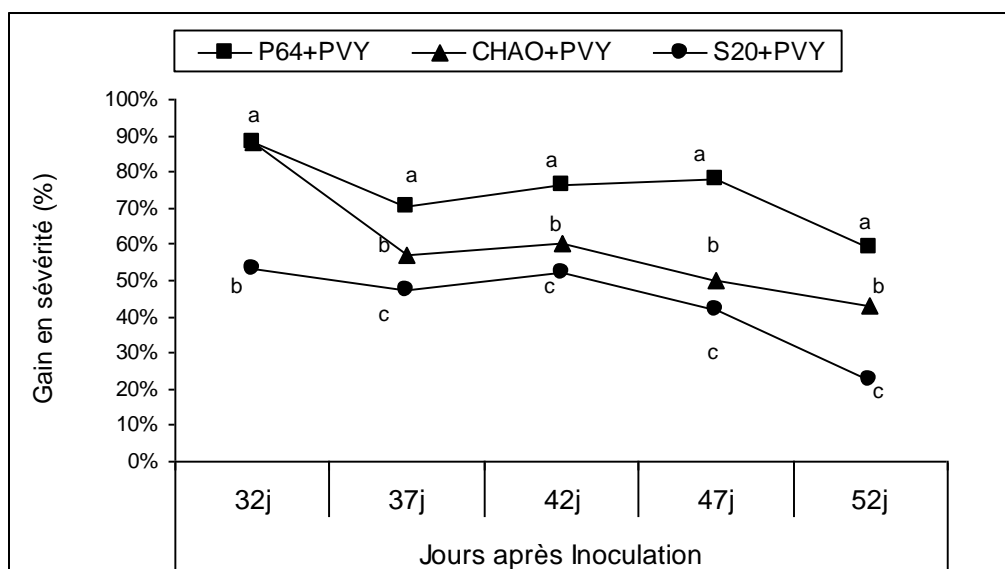
De nombreux travaux ont démontré l'implication active des PGPR, particulièrement les *Pseudomonas* spp. fluorescents, dans l'induction systémique de la résistance chez les espèces végétales vis-à-vis d'une multitude d'infection virales. Zeher *et al.*, [328] ont noté des inhibitions de 32 % à 58 % chez des plants de tomate bactérisés et inoculés avec

CMV. Avec ce même virus, des plants de concombre [164], et d'*Araibidopsis thaliana* [329] bactérisés avec des PGPR, les tests ELISA n'ont pas détecté sa présence. Des régressions significatives en expression symptomatologique ont été obtenues, suite à la bactérisation de plants de tabac vis-à-vis du TMV [166, 159, 71]. Cependant, il n'est pas encore claire, si la résistance induite agit directement sur la réplication, et du mouvement de CMV ou en induisant la synthèse de métabolites inhibitrices [330]. L'application des souches de *Pseudomonas fluorescens* a induit des réactions ISR chez le bananier vis-à-vis du virus BBTV [167] et chez la courge vis-à-vis du virus ZYMV [170].



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

Figure 4.22: Gains en protection.



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

Figure 4.23: Diminution de la sévérité de la maladie.

Les mécanismes avancés pour expliquer l'induction des facultés défensives des plantes, sous l'effet ISR, sont variables selon l'espèce végétale, mais globalement sont associés à la synthèse bactérienne de composés biochimiques [331]. Parmi ces composés, l'activité enzymatique PAL est souvent notée comme mécanisme essentiel au déclenchement de l'ISR, en activant la production de phytoalexines et d'autres substances phénoliques d'origine végétale.

Dans une étude sur le concombre traité par *Pseudomonas putida* BTP1, on a observé l'accumulation de phytoalexines localement et la PAL générée des précurseurs pour la biosynthèse de la lignine et d'autres composés phénoliques qui s'accumulent en réponse à l'infection systémiquement dans les plants; ces phytoalexines étaient sous forme glycosylée [218, 219, 332]. D'autres métabolites à forte induction du processus ISR ont été rapportés; parmi ceux-ci, nous notons les lipoxygénases (LOX) [333], l'acide salicylique (AS) [334], l'éthylène [201] et l'acide jasmonique [243].

Maurhofer *et al.*, [166] ont rapporté que l'ISR induite par *Pseudomonas fluorescens* (CHAO) contre le virus de la nécrose du tabac (TNV) est aussi associée avec l'accumulation des PR, de β -13 glucanase et de l'endochitinase. Il a été démontré, principalement chez *Arabidopsis*, qu'il peut résister aux pathogènes par l'un ou l'ensemble

de ces mécanismes : production de l'AS, de l'AJ et/ou l'éthylène [335, 336, 201]. Le rôle de l'ensemble de ces composés a été démontré dans des expériences, utilisant des mutants déficients sur le plan fonctionnel de leurs gènes correspondants [219], ou par application de précurseurs de ces gènes [336]. La majorité des substances précitées agit à titre d'éliciteur dans l'élicitation et l'activation des mécanismes de défense chez les plantes [241].

La production de l'acide salicylique (AS) est un caractère recherché dans les fonctions physiologiques de défense des plantes vis-à-vis des attaques de phytopathogènes. L'AS est considéré parmi les métabolites intervenant dans les réactions d'induction systémique de la résistance chez les plantes vis-à-vis de nombreux pathogènes, après bactérisation des racines ou du sol [166, 191, 337, 338, 339]. Certains auteurs ont mentionné la participation de la synthèse des pyoverdines des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le processus de l'ISR [340, 341].

Contrairement aux essais de biocontrôle où l'action de bioprotectrice réside dans les activités antagonistes, l'ISR s'active suite à la présence de ce genre de rhizobactéries en induisant l'induction des mécanismes de défense propres à la plante. L'ISR chez une plante donnée semble aussi être influencée par la nature de la rhizobactérie inductrice et par la nature du pathogène. De même, la capacité d'une souche de PGPR à induire l'ISR varie en fonction des phytosystèmes sur lesquels elle est testée. Une meilleure connaissance, du point de vue moléculaire, de toutes les étapes du phénomène est nécessaire pour mieux comprendre la combinaison des facteurs qui sont à l'origine de cette spécificité. Le principal avantage des PGPR est qu'une fois la résistance systémique est induite, les mécanismes de défense naturels de la plante deviennent opérationnels [16]. Cette réduction est associée typiquement avec la diminution de la croissance du pathogène et réduit la colonisation du tissu infecté en permettant à la plante de résister mieux aux attaques du pathogène [338]. Cependant, baisser ou ralentir le développement de la maladie peut sauver une récolte ou au moins augmenter le rendement [336].

Cela ne signifie cependant pas que le potentiel immunisant d'une souche donnée soit universel et une certaine spécificité concernant le génotype de la plante a été observée. Une même bactérie n'induit pas forcément un niveau de résistance similaire chez différentes espèces végétales et ni même chez différents cultivars de la même plante [201]. L'ISR semble ainsi être liée aux caractéristiques génétiques spécifiques de la rhizobactérie et de la plante hôte en même temps.

DISCUSSION GENERALE

Il apparaît clairement que ces dernières années, un intérêt particulier s'est porté sur l'exploitation des ressources microbiennes bénéfiques dans la gestion des écosystèmes et dans les pratiques agronomiques. L'objectif étant de diminuer la pollution du sol qui peut engendrer des effets secondaires sur les produits récoltables. Avec des orientations vers des systèmes d'exploitation plus respectueux de l'environnement et de la santé humaine, le recours aux ressources biologiques renouvelables est considéré incontestablement comme l'issue espérée. Les ressources microbiennes naturelles offrent une opportunité pour aider ou comme alternative à ces pratiques indésirables. Les rhizobactéries "PGPR" renferment une source de microorganismes qui peuvent stimuler la croissance des plants, tout en assurant leur bioprotection. D'ailleurs des formulations à base de ces microorganismes commencent à connaître des issues commerciales après ces dernières décennies d'expérimentation.

Dans nos expérimentations, nous avons tenté de mettre en évidence les effets bénéfiques, d'une catégorie de ces PGPR, à savoir les *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la culture de pomme de terre (*Solanum tuberosum*). A cet effet, nous avons associé trois souches de *Pseudomonas fluorescens* (P64, CHAO et S20) dans des étapes clés du schéma de production de pomme de terre "base" et "prébase" destinés aux plantations de semis. Ces rhizobactéries ont été appliquées dans la biotisation d'explants élevés en vitroculture, dans la bactérisation de plants issus de tubercules conduits en pots et dans l'induction de la résistance systémique chez la pomme de terre vis-à-vis de l'un des virus redoutables sur cette espèce, en l'occurrence le PVY.

Certaines souches influencent avantageusement l'hôte végétal par la stimulation directe de sa croissance (fixation de l'azote, solubilisation de phosphate et production de phytohormones...) et/ou en le protégeant contre les infections par les phytopathogènes. Les rhizobactéries bénéfiques ont la capacité d'agir sur l'inactivation des facteurs de germination du pathogène et/ou l'inhibition de leur croissance et de leur pathogénicité [318]. D'autre part les *Pseudomonas* spp. fluorescents, sécrètent une gamme variée de substances antifongiques, comme l'HCN, la pyoluteorine, le 2,4-diacetyl le phloroglucinol, la pyrrolnitrine, les phenazines et les butyrolactones qui sont impliquées directement dans le biocontrôle de nombreux pathogènes [342, 137, 43].

L'autre aspect dans l'intérêt des PGPR, c'est leur possibilité d'assurer une bioprotection des plantes, d'une façon indirecte, par la stimulation de mécanismes de défense inductibles chez la plante; ce qui peut rendre l'hôte beaucoup plus résistant à d'éventuelles agressions par des agents pathogènes [16].

Dans les essais de la promotion de la croissance végétale, les résultats obtenus ont montré des effets positifs sur la croissance des plants, dans des conditions de vitroculture ou dans la conduite en pots. La phytostimulation a été mise en évidence sur des explants conduits en vitroculture, où les gains en croissance ont été corrélés avec l'adhésion des populations bactérienne autour des ébauches racinaires différenciées des vitroplants. De ces essais, il apparaît surtout la stimulation de l'acquisition des nutriments, constituants du milieu, de façon accélérée et intense par rapport aux témoins. Donc, l'effet bénéfique s'explique par l'accroissement de l'aspect qualitatif de la biodisponibilité des éléments nutritifs sous une forme plus assimilable par les vitroplants. Ce constat a été vérifié surtout en observant le volume racinaire, mieux développé en nombre et en vigueur en présence de populations bactériennes "biofilm". Ces gains dans le développement chez les vitroplants, peuvent contribuer efficacement dans l'amélioration de leur capacité d'adaptation lors des phases d'acclimatation et de conduite sous serre et de mieux supporter d'éventuels stress abiotiques et même biotiques.

La deuxième expérimentation menée avec des tubercules bactérisés a permis d'observer des situations de phytostimulation et l'obtention de gains appréciables en phytomasse et dans la physiologie des plantes. Cette situation a été démontrée dans les rapports "poids frais / poids sec" des plants bactérisés, donnant ainsi de meilleurs parties aériennes (tige) et en tubercules.

Plusieurs changements chimiques se déroulent dans les sols associés aux PGPR. Certaines souches activent la physiologie de la plante par la synthèse d'hormones similaires à celles de la plante, alors que d'autres augmentent l'acquisition des minéraux et la disponibilité de l'azote dans le sol. L'identification des signaux chimiques bactériens qui déclenchent la stimulation de la croissance a été limitée, en partie, à la compréhension de la façon par laquelle les plantes répondent aux stimuli externes [28].

La dynamique microbienne du sol impose des équilibres selon les conditions physiologiques qui s'y trouvent et la spécificité des plantes hôtes, déterminant l'effet rhizosphérique. La microflore bactérienne du sol tire profit des exsudats sécrétés par les racines mais en contre partie active les fonctions physiologiques végétales. Le tubercule

est un organe de réserve riche en eau et en substances nutritives, il conserve une vie active même dans la période dite de repos; de ce fait il subit tout au long de son existence l'effet du milieu où il se trouve en se répercutant sur sa descendance par voie végétative [343]. Il est bien admis que le tubercule est le siège d'une évolution physiologique qui se manifeste dès sa formation sur le tubercule-mère et qui se produit tout au long de sa conservation [306]. Selon Long [344], l'âge physiologique d'un tubercule est le degré de développement qu'il a atteint, ce qui correspond à l'âge relatif interne des tubercules qui s'oppose à l'âge chronologique mesuré par unité de temps [345]. Cet âge physiologique joue un rôle important sur le développement de la culture de pomme de terre; en effet il influe considérablement sur la précocité de la levée, la vigueur des plants, le nombre de tiges et de tubercules par plante; et donc par conséquent le rendement final et la répartition des calibres à la récolte [346, 343, 347].

Les différentes possibilités de conjugaison des effets du tubercules-mère et du feuillage dans l'induction de la tubérisation et leurs répercussions sur la croissance ont été expliquées [346, 306]: Pour déclencher la tubérisation, un premier palier doit être nécessairement atteint pour initier la croissance, suivie d'une phase où il y a la croissance et la tubérisation, en même temps, et en dernier lieu la tubérisation est irréversible, mais la croissance est totalement arrêtée. Dans nos essais, il est à souligner que les paramètres de croissance étudiés se situent, pratiquement, dans la seconde phase d'interaction entre la croissance et la tubérisation. Cet état peut influencer les variations observées au moment de la réalisation des mensurations, ce qui peut expliquer les hétérogénéités enregistrées entre les différentes répétitions.

Les mécanismes précis pour induire la formation du tubercule sont en grande partie mal expliqués [348], mais il est logique de penser que le stimulus hormonal de la tubérisation contient une ou plusieurs substance(s) inhibitrice(s) de la croissance dont les effets sont antagonistes de ceux des gibbérellines. Il est possible que l'acide abscissique constitue tout ou une partie du stimulus de tubérisation: c'est un inhibiteur de la croissance des bourgeons, un antagoniste des gibbérellines et il est présent dans le tubercule de la pomme de terre. La transformation des cellules des stolons aux cellules de tubercule peut être facilitée par la présence de cytokinines [349]. Dans ce sens, les souches bactériennes utilisées sécrètent des molécules analogues à ces hormones végétales, notamment la souche P64 connue par sa synthèse d'AIA [35].

Les mécanismes physiologiques qui gouvernent la croissance et le développement de la pomme de terre sont complexes et soumis à l'influence de nombreux facteurs, surtout l'âge physiologique du tubercule-mère et les principaux facteurs du milieu [306].

Il est très important d'équilibrer la fertilisation de la pomme de terre, l'excès de certains éléments peut entraver l'absorption d'autres éléments par la plante, à l'exemple de l'excès d'azote qui diminue l'absorption du potassium [314, 350]. Les plants de pomme de terre exigent plus de 14 éléments minéraux essentiels (Appendice F), représentés par des macroéléments et des oligoéléments [351]. Pour son alimentation en N.P.K et Mg, la culture dépend essentiellement de l'application d'engrais chimiques; les sels minéraux sont absorbés au début de la croissance, ils doivent donc être facilement disponibles pour les jeunes plantes à un stade très précoce. Les quantités requises de fertilisation dépendent du sol et de la destination de la récolte [354, 351]. Les rhizobactéries, peuvent participer activement dans l'accroissement des processus physiologiques des plantes, tout en stimulant leur précocité et leur croissance.

Nos expérimentations ont mis aussi en évidence les possibilités d'induction d'une résistance systémique (ISR) chez la pomme de terre vis-à-vis du virus Y de la pomme de terre (PVY). Les plantes sont capables d'activer différenciellement des voies de défense distinctes. Cette diversité dans les événements de transmission de signal liée à la blessure, au contact avec un agent pathogène ou avec un PGPR pourrait résulter d'une adaptation des plantes pour répondre variablement selon les microorganismes perçus [199, 334]). Selon l'agent pathogène envahisseur, la nature des composés défensifs produits, après l'infection, pourrait principalement varier entre les composés induits par l'acide salicylique (AS) et les autres induits par l'acide jasmonique (AJ) ou l'éthylène (ET). A cet égard, ces derniers ont un effet positif (synergique) sur l'action de l'AS. Par conséquence, l'activation simultanée de la SAR et de l'ISR conduiront à une résistance plus importante contre les maladies que chacune d'elle prise séparément [305].

Les molécules identifiées comme étant des précurseurs ou des substances inductrices, du processus de l'ISR, sont parfois rapportées comme élément clé et parfois à titre accessoire ou secondaire. Parmi ces substances l'AS; n'est pas dépendant de cette réaction [206, 185, 164, 353, 204, 29]; alors que d'autres auteurs insistent sur cet élément dans le déclenchement de ce mécanisme de défense végétal [159, 71, 181, 354]. Outre la présence de ces substances, leur régulation génique explique davantage la réussite du déclenchement de la réaction ISR chez les plantes. Il a été mis en évidence l'existence de

régulateurs protéiques, tels que NPR1 (Nonexpressor of Pathogenesis-Related Genes1) nécessaire pour déclencher une cascade de signalisations pour l'expression des gènes recherchés codant pour les protéines [335,199]. Les enzymes associées à l'effet ISR participent dans le renforcement des potentialités de défense de la plante sur le plan physique (lignification) ou sur le plan chimique (quinones) en consolidant les barrières de défense naturelle de la plante [332]. Elles peuvent intervenir en qualité d'éliciteur, individuellement ou en synergie, à l'exemple de β 1,3-glucanase et les protéines PR (protéine related) [201].

La biosynthèse des molécules de phytostimulation et élicitrices de l'ISR, par les PGPR peut être modulée par de multiples facteurs physiologiques et environnementaux. Une preuve supplémentaire de leur implication passe donc par la démonstration d'une production effective lorsque les cellules se développent sur les racines. Plus généralement, l'objectif est également de mieux comprendre l'influence des paramètres de la rhizosphère sur l'expression des gènes de synthèse et/ou sur la production de métabolites impliqués dans le contrôle biologique par les rhizobactéries bénéfiques [170].

La reconnaissance de l'attaque d'un pathogène et une réponse rapide de l'hôte, peuvent également restreindre ou stopper l'invasion. Après la pénétration du phytopathogène à travers la paroi végétale ou via une blessure, sa présence peut être révélée grâce à des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) [356]. La perception de ces motifs par la plante pourrait initier une réponse immunitaire de base (PAMP-Triggered Immunity, PTI), afin de limiter l'invasion [357]. «L'immunisation» de la plante découle de la reconnaissance par les cellules racinaires de métabolites particuliers sécrétés par le PGPR; nommés les éliciteurs de l'ISR. Aujourd'hui de plus en plus de travaux de recherches relatent le potentiel de certaines souches à induire l'ISR chez leur hôte. Dans certains cas, les éliciteurs responsables de l'activité des souches bactériennes ont été identifiés. Ces molécules, aussi appelés déterminants, sont de natures variées et pouvaient être divisées en trois classes : des composants de surface cellulaire, des métabolites à activité chélatrice du fer et des molécules à activité antibiotique [201, 169].

Dans le cas de l'ISR également, certaines études ont identifié quelques mécanismes de défense étroitement liés à l'établissement des barrières chimiques ou physiques à l'entrée de pathogène (callose, composés phénoliques, lignification ...), stimulant les mécanismes de défense afin de restreindre la croissance des pathogènes.

CONCLUSION

Notre expérimentation consiste en la biotisation des plants de pomme de terre par bactérisation avec trois souches de *Pseudomonas fluorescens*. L'application de ces rhizobactéries a été évaluée à trois niveaux: sur des vitroplants; sur des plants issus de tubercules bactérisés et sur l'induction de la résistance systémique (IRS) vis-à-vis du PVY. Le choix de ces trois étapes répond à des préoccupations ressenties dans la réalisation du schéma de production de semences de pomme de terre, tel que pratiqué dans la société SAGRODEV (Sétif).

Dans l'étape de vitroculture l'enrobage microbiologique, par l'utilisation des trois souches bactériennes (P64, CHAO, et S20) a permis de constater des effets de phytostimulation sur le développement et la vigueur des vitroplants issus des explants biotisés au préalable. Dans ces essais la maîtrise de la densité bactérienne, dans le milieu de vitroculture et celle adhérente aux racines, constitue un paramètre de première importance et conditionne la réussite d'une telle opération. En effet, les seuils en concentration bactériennes dans ces milieux peuvent inhiber et provoquer des nécroses s'ils dépassent les limites tolérées par les vitroplants, en raison de leur fragilité et leur sensibilité aux changements du milieu. Contrairement, si la concentration est adéquate avec l'activité physiologique des vitroplants, leur présence stimule une meilleure acquisition des éléments nutritifs qui s'y trouvent dans le milieu. Ainsi, la biodisponibilité en ces éléments, notamment l'azote, le phosphore et certaines vitamines augmente quantitativement et qualitativement. Les problèmes de reprise des vitroplants, ainsi que leur croissance peuvent être allégés par la biotisation. Cette dernière en stimulant une meilleure croissance racinaire, engendre ainsi une activation du développement des vitroplants.

Les essais de phytostimulation de plants de pomme de terre issus de tubercules bactérisés ont permis d'obtenir des gains appréciables en paramètres de croissance et de production, comme il a été noté des effets positifs plus prononcés, surtout dans le cas où les conditions sont plus défavorables, telle est la situation pour l'essai mené dans des sols couramment cultivés en pomme de terre. Dans de telles conditions il est évident que la microflore indigène, même si elle n'est pas parasite au sens strict, elle peut devenir délétère à long terme et contribuerait dans l'aggravation du phénomène de fatigue des sols. La

présence de rhizobactéries bénéfiques peut contribuer dans la diminution de ces effets indésirables en instaurant des équilibres microbiens au profit de la plante. En effet, la présence de ces rhizobactéries dans la rhizosphère diminue de tels impacts et participent directement dans l'amélioration des acquisitions hydrominérales. Cette amélioration s'illustre par l'élévation de la disponibilité de certains éléments nutritifs (N, P, K, F³⁺...) ou par la synthèse de métabolites analogues aux phytohormones.

Dans la dernière partie expérimentale, nous avons démontré que la biotisation des tubercules inhibe l'infection par PVY, en atténuant les niveaux d'infection et de sévérité de cette virose. Le mécanisme arboré dans ce processus concerne l'induction de la résistance systémique (IRS) qui active les capacités défensives de la plante, en stimulant l'activation de la synthèse de métabolites de défense (phytoalexines, protéines related, l'acide jasmonique, l'acide salicylique...). Ce mécanisme empêche la réplication des particules virales et leur mouvement dans le système vasculaire de la plante. L'induction systémique de la résistance vis-à-vis des agents phytopathogènes est une composante de la panoplie des mécanismes développés par la plante, résultant de son interaction avec son environnement, notamment bactérienne; elle aussi dépendante du génotype des plantes.

Dans l'ensemble des travaux de recherche consultés il est admis que les effets bénéfiques des PGPR dépendent de la colonisation des systèmes racinaires par un nombre suffisant de rhizobactéries. La colonisation initiale peut être apportée par diverses voies, telles que l'enveloppement des semences ou des substrats de culture, ou par l'addition d'une suspension bactérienne dans le sol avant plantation ou transplantation. Le facteur temps ou période requise pour la stabilité de la perception des effets bénéfiques, procurés par les PGPR, reste un sujet de discussion dans la plupart des travaux de recherche et mérite plus d'investigations pour la conception des formulations bactériennes adéquates.

Sur le plan pratique, il est possible dans les conditions de production de tubercules de pomme de terre, telle que discutée dans ce travail, d'introduire la biotisation avec des souches bénéfiques. Les effets attendus concernent la stimulation des vitroplants et des plants à mieux supporter les stress biotiques et abiotiques (milieux de culture, acclimatation...). Des expérimentations de confirmation sont nécessaires pour mieux concevoir les stratégies de biotisation les plus appropriées. L'actualité de la recherche sur l'exploitation des PGPR dans la phytostimulation et le biocontrôle, se focalise sur les mécanismes moléculaires régissant le métabolisme secondaire bactérien d'une part, et d'autre part sur les signaux de transduction interactifs avec la perception de la plante hôte.

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

° C	: degré Celcius	m	: mètre
ACC	: 1-aminocyclopropane - 1-carboxylate desaminase	mn	: minute
AIA	: acide indole 3 acétique	ml	: millilitre
AJ	: acide jasmonique	µg	: microgramme
ANOVA	: analyse de variance	mm	: millimètre
AS	: acide salicylique	MJ	: le méthyle jasmonate
BBTV	: Banana bunchy top virus	MS	: Milieu Murashige et Skoog
1C	: Premier coupe	NPR1	: Non-expressor of Pathogenesis-Related Genes1
2C	: deuxième coupe	PAL	: phénylalanine ammonia lyase
3C	: troisième coupe	PBS	: Tampon phosphaté
cm	: centimètre	PF	: poids frais
CMV	: Cucumber mosaic virus	PGPR	: rhizobacteries promotrices de la croissance de plantes (plant growth promoting rhizobacteria)
c.v	: cultivar	PR	: protéines PR (Pathogenesis related proteins)
DAPG	: 2,4-diacetylphloroglucinol	PS	: poids sec
DAS-ELISA	: Double Antibody Sandwich-ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY:	PLRV	: Potato Leaf roll virus
D O	densité optique	PVA	: Potato virus A
EDTA	: éthylène diamine tetraacetate	PVM	: Potato virus M
ET	: Ethylène	PVS	: Potato virus S
E.T	: écart type	PVX	: Potato virus X
....	: (et caetera): et le reste	PVY	: Potato virus Y
Fe ³⁺	: fer ferrique	SAR	: Systemic Acquired Resistance
f. sp	: Forme spéciale	t	: tonne
g	: gramme	TMV	: Tobacco mosaic virus
h	: heure	TNV	: Tobacco necrosis virus
ha	: hectare	tr	: tour
HCN	: acide cyanhydrique	UFC	: unité formant colonies (colony forming unit)
IgG	: Immuno-globuline G	ZYMV	: zucchini yellow mosaic virus
ISR	: Induction Systémique de la résistance		
KB	: milieu B de King		
kg	: kilogramme		
l	: litre		
LPS	: lyopolysaccharide		
log	: logarithme		
LOX	: lipoxygénase		

APPENDICE B

Normes minimales en pourcentage de pieds atteints [249]

Catégories de plant	Matériel de sélection				Plants de base			Plants Certifiés
	B0	B1	B2	B3	SE	E	A	
Classes françaises	B0	B1	B2	B3	SE	E	A	
Classes communautaires					CEE1	CEE2	CEE3	
Pureté variétale (% d'impureté)	0 %	0 %	0 %	0 %	0,1 %	0,1 %	0,1 % 0,2 %	
Virus E, Y, X, S, A	0 %	0 %	0,1 %	0,1 %	0,25 %	0,33 %	1 % 1 %	
Rhizoctone (<i>Rhizoctonia solani</i>)	0 %	1 %	1 %	1 %	5 %	5 %	5 % 10 %	
Verticilliose (<i>Verticillium sp</i>)	0 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,5 %	0,5 %	1 % 3 %	
Jambe noire *	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0,5 %	1 % 1 %	

Organismes nuisibles de quarantaine :

Viroïde PSTV, Virus TSWV, Pourriture annulaire (*Clavibacter michiganensis sp. sepedonicus*),
Pourriture brune (*Ralstonia solanacearum*)

Aucune tolérance admise

Stolbur, galle verruqueuse (*Synchytrium endobioticum*), Maladie Vermiculaire (*Ditylenchus destructor*)

APPENDICE C

Milieux de cultures et Solutions

Milieu B de King (KB) [296]

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 B de King (KB) liquide :

Milieu B de King (KB) [296] sans Agar

Milieu MURASHIGE et SKOOG (MS) [297]

Sels minéraux (concentrations en mg/l)

Macro-éléments: (x 10) 10 ml

NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ 2 H ₂ O	440
MgSO ₄ 7 H ₂ O	370
KNO ₃	1900
KH ₂ PO ₄	170

Micro-éléments: (x 1000) 10 ml

CoCl ₂ 6 H ₂ O	0,025
CuSO ₄ 5 H ₂ O	0,025
MnSO ₄ 4 H ₂ O	22,3
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ 7 H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₃	6.2

Fe- EDTA (x 100) 10 ml

FeSO ₄ 7 H ₂ O	27,58
Na ₂ -EDTA	37.25

APPENDICE C (SUITE)
Milieux de cultures et Solutions

Milieu Murashige et Skoog(MS) [297] (SUITE)

Vitamine

Thiamine.HCl	0.1
Pyridoxine.HCl	0.5
Ac.Nicotinique	0.5
Glycine	2,0
Myo-inositol	10
Sucre	20 g/l
Agar	5 à 10 g/l

pH = 5,8 autoclavage 20 minutes à 120° C

Solution de Tompon phosphaté [299]

Phosphate monopotassique(KH ₂ PO ₄)	13.609g/l d'eau distillée
Phosphate disodique (NA ₂ HPO ₄)	14.196g/l d'eau distillée

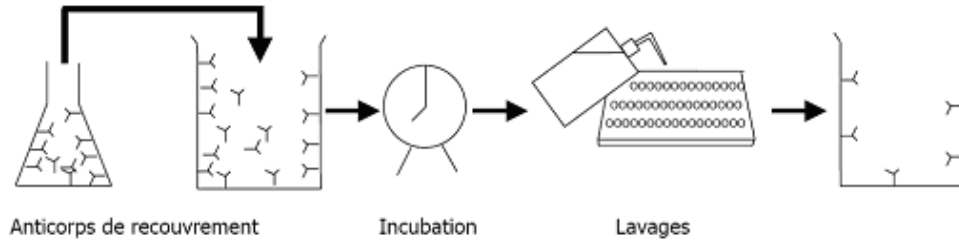
pH = 7,4

mélangeant 2volum de NA₂HPO₄) avec 1 volume de KH₂PO₄)

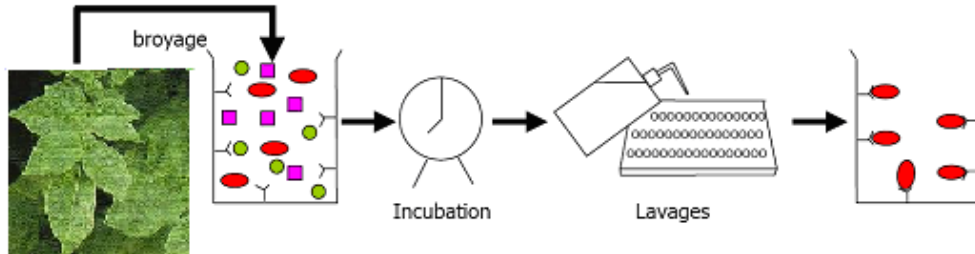
4ml tompon phosphaté 0.1ML, pH = 7,4 \ 1g de poids frais
tompon phosphaté +échantillon virose+ 0.2 % de 2-mecaptoéthanol

APPENDICE D

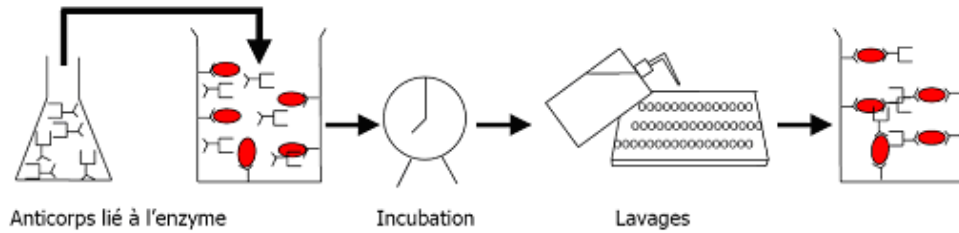
1- RECOUVREMENT DES PUIITS



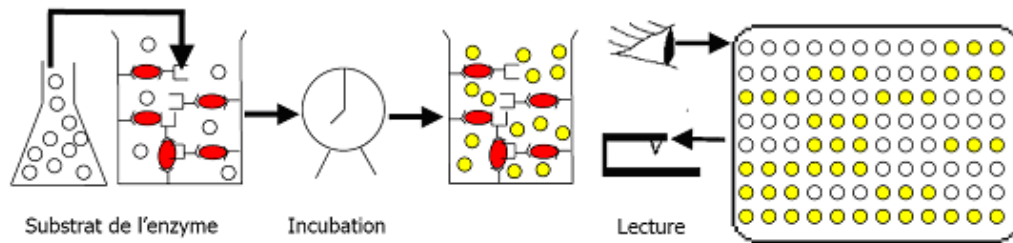
2- ADDITION DE L'ANTIGÈNE



3- ADDITION DE L'ANTICORPS LIÉ À L'ENZYME



4- ADDITION DU SUBSTRAT DE L'ENZYME ET LECTURE



TEST ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY [358])

APPENDICE E

Caractéristiques de la variété Désirée (Urgenta x Depesche) [359]

Caractéristiques agronomique Désirée

- **Maturité** : demi-tardif.
- **Tubercules** : gros; peu sensibles aux chocs et au noircissement interne; peau rouge; yeux superficiels.
- **Rendement** : assez bon à bon; bon calibrage.
- **Matières sèche** : teneur assez élevée.
- **Qualité culinaire** : assez bonnes tenue à la cuisson; goût neutre; ne noircit pas après cuisson; bonne aptitude à la transformation en pommes frites.
- **Feuillage** : croissance assez rapide couvrant bien le sol; peu sensible à la sécheresse.
- **Maladies** : assez sensible au mildiou du feuillage; peu sensible au mildiou du tubercule; assez sensible à l'enroulement; très peu sensible au virus Yⁿ; résistant à la galle verruqueuse.

Caractéristiques morphologique:

- **Plante** : tiges assez nombreuses; longues; assez grosses s'étalant plus tard; nettement rouge brun; feuilles assez petites; rigides, vert foncé tirant sur le gris; totale assez petites; avelles à nervures assez enfoncées; floraison abondante; inflorescences vigoureuses; fortement colorées fleurs rouge violacé pâle.
- **Tubercules** : forme oblong allongé; peau rouge et lisse; chair jaune pâle; yeux superficiels.
- **Germe** : allongé; long avelle au début; en pousse courte plus tard; rouge violacé assez pâle; pilosité sorte à poils étales; bourgeon terminal petit; restant fermé pendant long temps.

APPENDICE F

Éléments minéraux essentiels pour la pomme de terre [351].

Éléments	Forme assimilable	concentration habituelle chez des plants sains (% Poids sec)
Macro éléments		
Carbon	CO ₂	~ 44%
Oxygen	H ₂ O or O ₂	~ 44%
Hydrogen	H ₂ O	~ 6%
Nitrogen	NO ₃ ⁻ or NH ₄ ⁺	1–4%
Phosphore	H ₂ PO ₄ ⁻ or HPO ₄ ²⁻	0.1–0.8%
Sulfur	SO ₄ ²⁻	0.05–1%
Potassium	K ⁺	0.5–6%
Calcium	Ca ²⁺	0.5–6%
Magnesium	Mg ²⁺	0.1–0.8%
Micro éléments		
Fer	Fe ²⁺ or Fe ³⁺	25–300 ppm
Chlorine	Cl ⁻	100–10 000 ppm
cuivre	Cu ²⁺	4–30 ppm
Manganese	Mn ²⁺	15–800 ppm
Zinc	Zn ²⁺	15–100 ppm
Molybdenum	MoO ₄ ²⁻	0.1–5.0 ppm
Boron	BO ₃ ⁻ or B ₄ O ₇ ²⁻	5–75 ppm

REFERENCES

1. **FOA, 2008.** www.potato 2008.org
2. **Anonyme. La Tribune, 2006** 30 Octobre 2006
3. **Ould Ramoul. A.**, «Etude des possibilités de production de semence de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) à partir de minitubercules issus de culture *in vitro*», Thèse Magistère. Univ. Blida, **1997**, 149p.
4. **Nowak. J.**, «Benefits of *in vitro* "biotization" of tissue cultures with microbial inoculants». In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. N° 34, **1998**, pp122-130.
5. **Van Loon, L.C**, «Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria», *Eur. J. Plant Pathol.* N°119, **2007a**, pp243-254.
6. **Lemanceau, P.** «Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemples des *Pseudomonas* spp. Fluorescents», *Agronomie*, N°12, **1992**, pp 413-437.
7. **Palleroni. N.J**, «Gram-negative aerobic rods and cocci: family I *Pseudomonadaceae*», **1984**,pp 141-168. Krieg, Holt, William and Wilkings .Eds., *In Bergey's manual of bacteriology*, 1, William & Wilkins, Baltimore.
8. **Palleroni, N.J**, «Introduction to the family *Pseudomonadaceae*», **1992**,3071-3085. A. Ballows, H. G. Trüper, M. Dworking, W. Harder and K. H. Schleifer .Eds., *In The prokaryotes*, Springer Verlag, New York.
9. **Digat, B., GARDAN.**, «Caractérisation, variabilité et selection des souches bénéfiques de pseudomonas fluorescens et putida». Bull. OEPP/EPPO, N° **17**, **1987**,pp 559 – 568.
10. **Semal J., Vanderveken J.**, «Modalités de transmission des phytovirus» in Traité de pathologie végétale Semal J., Chap. 9. Ed. *Presses agronomiques de Gembloux. Gembloux, Belgique, 1989*,621p
11. **Kloepper, J.W. and Schroth, M.N.**, «Plant growth– promoting rhizobacteria on radishes», In: Proc int Conf Plant Pathol Bact Angers, N°1978, pp. 379 - 382.
12. **Kloepper, JW. Leong, J. Teintze, M. Schroth, M.N.** «Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria», *Nature* N°286,**1980a**,pp 885-886
13. **Fravel, DR** ,«Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases». *Annu Rev Phytopatho.* N° **26**,**1988**,pp 75-91
14. **Keel, C, Haas. D, Laville. J, Maurhofer. M, Oberhansli. Th, Schnider. U, Voisard. C and Défago. G.** «Suppression of soil- borne pathogens by *Pseudomonas fluorescens*-A Multifactorial mechanism», **1991**.pp 195-196 in: plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects. C. Keel , B. Koller , and G. Défago , eds. Int. Org. Biol. Control Noxions Anim. plants/West. *palaerctic Reg. Sec. Bull.* 1418.
15. **Kloepper, J.W, Leong. J, Teintze. M, Schroth. M.N.**,. «*Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils». *Curr Microbiol* N°4,**1980b**, pp317-320
16. **Van Loon, L.C., Bakker, P. and Pieterse, C. M.J**, «Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria», *Annu. Rev. Phytopathol.* N°**36**, **1998**, pp 453-483.

17. **Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.J.J.**, «Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria», *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol **4**,N°4, 2001,pp 343-350
18. **Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J.**. «Prospects and challenges for practical application of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance». In: *Induced Resistance in Plants Against Insects and Diseases* (A. Schmitt and B. Mauch-Mani, eds), IOBC/wprs Bulletin vol 25, N°6, **2002**, pp: 75-82.
19. **Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. et Gardan, L.** «The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision». *Agronomie*. N° 20, **2000**, pp: **51-63**.
20. **Mirleau, P.**, «Rôle de la pyoverdine et de la nitrate réductase dans la compétence rhizosphérique et tellurique de la souche *Pseudomonas fluorescens* C7R12». Thèse de Doctorat-Université de Bourgogne, .France, **2000**, 88p.
21. **Timmis, K.N**, «*Pseudomonas putida*: A cosmopolitan opportunist par excellence». *Environ Microbiol* N°4,**2002**, pp:779–781
22. **Leahy, J.G., Tracy, K.D., Eley, M.H.** «Degradation of mixtures of aromatic and chloroaliphatic hydrocarbons by aromatic hydrocarbon- degrading bacteria». *FEMS Microbiol Ecol* N°43,**2003**,pp:271–276
23. **Guo, H., and Ecker, J. R.**, , «The ethylene signalling pathway: new insights». *Curr. Opin. Plant Biol.* N° 7, **2004**, pp:40-49.
24. **Fahy, A., Lethbridge, G., Earle, R., Ball, A.S., Timmis, K.N., McGenity, T.J.** «Effects of long-term benzene pollution on bacterial diversity and community structure in groundwater». *Environ Microbiol* N°7, **2005**, pp:1192–1199
25. **Ciccilo, F., A.Fiore, A.Bevivino,C.Dalmastri,S.Tabacchioni,and L.Chiarini.**. «Effects of two different applcation methodes of Burkholderia ambifarina MCI7 on plantgrowth and rhizospheric bacterial diversity *Environ Microbiol*». N°4,**2002**,pp 238-245.
26. **Van Loon, L.C. and Glick, B.R.**. «Increased plant fitness by rhizobacteria. In: *Ecological Studies*, vol. 170, *Molecular Ecotoxicology of Plants* (H. Sandermann, ed.) », Springer Verlag, Berlin, **2004**, pp.177-205.
27. **Glick, B.R, 1995.** «The enhancement of plant growth by freeliving bacteria». *Canadian Journal of Microbiology*, N° 41, pp. 109 - 117.
28. **Ryu, C.M., Hu, C.H., Reddy, M.S. and Kloepper, J.W.**. «Different signaling pathways of induced resistance by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana* against two pathovars of *Pseudomonas syringae*». *New Phytol.* Vol **160**, N°2, **2003**, pp:413-420.
29. **Lodewyckx, C, Mergeay M, Vangronsveld J, Clijsters H, Van Der Lelie D** «Isolation, characterization and identification of bacteria associated with the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* subsp. *calaminaria*». *Int J Phytoremediation* N°4,**2002**, pp:101–105.
30. **Viebahn, M., Glandorf, DCM., Ouwens, TWM., Smit, E., Leeflang, P., Wernars, K., Thomashow, LS., Van Loon, LC., Bakker, P.A.H.M.**. «Repeated introduction of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r without intensified effects on the indigenous microflora of field-grown wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* N°**69**, **2003**, pp 3110-3118.
31. **Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L. and Robaglia, C.** «Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions». *Plant Cell Environ.* Vol **26**,N°2, 2003,pp:189-199.
32. **Achouak, W., Thiery, J.M., Roubaud, P. et Heulin, T.** «Impact of crop management on intraspecific diversity of *Pseudomonas corrugata* in bulk soil». *FEMS Microbiology Ecology*. N° **31**, **2000**, 11-19.

33. **Delorme, S.** «Caractères bactériens associés à la compétitivité des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la rhizosphère». Thèse Doctorat - Université Bourgogne, France. **2002**,165p.
34. **Buscot, F.** «What are soils? In: Buscot F, Varma S, eds. Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. Heidelberg», Germany: Springer-Verlag, **2005**, pp.3–18.
35. **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.
36. **Lynch, J.M.** «Resilience of the rhizosphere to anthropogenic disturbance» .*Biodegradation* N°13, **2002**, pp: 21–27
37. **Colbert, S.F., Schroth, M.N., Weinhold, A.R., and Hendson, M.** «Enhancement of population densities of *Pseudomonas putida* PpG7 in agricultural ecosystems by selective feeding with the carbon source sakicylate . *Appl. Environ. Microbio.* N°59, **1993**, pp:2064-2070.
38. **Latour, X.,** «Effet de la plante et du sol sur la diversité des populations telluriques de *Pseudomonas* spp. fluorescents». Thèse de doctorat-Université de Bourgogne Dijon, **1996**, 70p.
39. **Lynch, J.M., Whipps, J.M.** «Substrate flow in the rhizosphere. IN the Rhizosphere and plant growth (Keister DL., and Cregan B., eds.) **1991**, pp. 15-24, Beltsville Sympos. In *Agric Res* 14, Kluwer, Dordrecht. The Netherlands.
40. **Van Overbeek, L.S., Van Elsas, J.D.** «Root exudates induced promoter activity in *Pseudomonas fluorescens* mutants in the wheat rhizosphere». *Applied and environmental Microbiology*, **1995**, pp: 890-898.
41. **Lu, Z.X, Tombolini, R., Woo, S., Zeilinger, S., Lorito, M., Jansson, J.K.** «In vivo study of Trichoderma-pathogen–plant interactions using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter systems». *Appl Environ Microbiol* N°70,**2004**, pp:3073–3081
42. **Gamalero, E. Lingua G., Berta G., Lemanceau, P.** «Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria». *Agronomie* N°23, **2003**, pp: 407-418.
43. **Haas, D. and Defago, G.** «Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads». *Nat. Rev. Microbiol.* Vol **3**, N°4, 2005,pp:307-319.
44. **Gamalero, E., Lingua, G., Tombolini, R., Avidano, L., Pivato, B., Berta, G.** «Colonization of tomato root seedling by *Pseudomonas fluorescens* 92rkG5: spatio-temporal dynamics localization, organization», viability and culturability. *Microb Ecol* N°50,**2005**,pp:289–297
45. **Van Rij, E.T., Wesselink, M., Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.J.J.** «Influence of environmental conditions on the production of phenazine-1-carboxamide by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391». *Mol. Plant Microbe Interact.* N° **17**, **2004**, pp: 557-566.
46. **Benizri, E., Dedourage, O., Di Batista-Leboeuf, C., Nguyen, C.S., and Guckert, A..** «Effect of maize rhizodeposits on soil microbial community structure». *Applied Soil Ecology*, N° **21**, **2002**, 261-265.
47. **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.
48. **Digat, B., Gaudillat, M., Labardie, J.M.** «Susceptibility of various tomato and lettuce genotype to plant growth promoting *Pseudomonas*». *Symbiosis* N°9, **1990**, pp:295–303.
49. **Kloepper, J. W., Zablutowicz, R. M., Tipping, E. M., and Lifshitz, R.** «Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: *The rhizosphere and plant growth*. Keister, D. L., and Cregan, P. B. (eds) », Kluwer, Dordrecht, **1991**, pp 315-326.

50. **Hofte, M., BOELENS, J., VERSTRAETE, W.** «Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strains 7NSK2 and ANP15. *Soil Biol.* Biochem. N° 23, 1991, pp 407 – 410.
51. **Frommel, M.I., Nowak, J. & Lazarovits, G.** «Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* grown potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp». *Plant Physiol.* N° 96, 1991, 928-936.
52. **Pillay, V. K., and Nowak, J.** «Inoculum density, temperature and genotype effects on epiphytic and endophytic colonization and *in vitro* growth promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) by a pseudomonad bacterium». *Can. J. Microbiol.* N°43, 1997, pp:354-361.
53. **Bensalim, S., J. Nowak, and S. Asiedu.** «A plant growth promoting rhizobacterium and temperature effects on performance of 18 clones of potato». *Am. Pot. J.* N°75, 1998, pp:145-152.
54. **Nowak, J., S. K. Asiedu, S. Bensalim, J. Richards, A. Stewart, C. Smith, D. Stevens, and A. V. Sturz.** «From laboratory to applications: challenges and progress with *in vitro* dual cultures of potato and beneficial bacteria». *Plant Cell Tissue Organ Cult.* N°52, 1998, pp:97-103.
55. **Compant, S, Reiter. B, ASessitsch. A, Nowak. J, Clément C, and Ait Barka, E.** «Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain PsJN Appl. Environ». *Microbiol.* N°71, 2005, pp: 1685-1693
56. **Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G., Rolfe, B.G.,.** «Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agron.* J. N°92, 2000, pp 880–886.
57. **Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., and Okon, Y.** «Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere». *Critical Reviews in Plant Sciences*, N°22, 2003, pp 107–149.
58. **Matiru, V. N., and Dakora, F. D.** «Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in land races of African cereal crops». *African J. Biotechnol.* N°3, 2004, pp 1-7.
59. **Sharma, A., Pathak, A., Sahgal, M., Meyer, J-M., Wray, V., Johri, B.N.** «Molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria that enhance peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activities in chile (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)» *Arch Microbiol* N°188, 2007, pp:483–494
60. **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.
61. **Mello, M.O.; Melo, M.; Appewwqto-DA-Gloria, B.** «Histological analysis of the callogenesis and organogenesis from root segments of *Curcuma zedoaria* Roscoe». *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.44, 2001, pp.197-203.
62. **Ait Barka, E., S. Gognies, J. Nowak, J-C. Audran, and A. Belarbi.** «. Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth». *Biol. Control* N°24, 2002, pp:135-142.
63. **Digat, B.** «Statégie for seed bacerization. *Acta*». *Hortic.* N°253, 1989, pp121 – 130
64. **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.
65. **Budi, S.W., Blad, B., Lemoine, M.C., Cordier, C., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S.** «Arbuscular mycorrhiza as a way of promoting sustainable growth of micropropagated plant In: Scannerini S., Baker A ., Charlwood B.V ., Damanio C ., Franz C., Gianinazzi S.(Eds) , *Proceedings of the Symposium on Plant Biotechnology as a Tool*

- for the Exploitation of Mountain Lands, ISHS », *Acta Horticulturae Belgium*. N°457, **1997**, pp71-77.
66. **Mello Marcelo, R.F., Mariano Rosa, L.R., Menezes Maria, Camara Terezinha, R. Assis Sayonara, M. P.** «Screening of bacteria and bacterization methods for growth-promotion of micropropagated pineapple plantlets» ; vol. 28, n°3, **2002**, pp. 222-228.
 67. **Ongena, M., Jacques, P., Delfosse, P. and Thonart, P.** «Unusual traits of the pyoverdinin-mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1». *Biometals*. vol.15, N° 1, **2002b**, pp: 1-13.
 68. **Briat, JF., Vert, G.** «Acquisition et gestion du fer par les plantes». *Cahiers d'agriculture*, vol 13, n° 2, **2004**, pp183-201.
 69. **Kraemer, Stephan M.** «Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores Aquat». *Sci*. N° 66, **2004**, pp3–18
 70. **Meyer. J.M, et Abdellah. A.** «The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties », *J. Gen. Microbiol*, N° 107, **1978**, pp. 319 - 328.
 71. **De Meyer G, Audenaert K, Höfte M** «*Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2-induced systemic resistance in tobacco depends on in planta salicylic acid accumulation but is not associated with PR1a expression». *Eur J Plant Pathol* N°105, **1999**, pp:513–517
 72. **Meyer, JM,** «Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species». *Arch Microbiol* N°174, **2000**, pp:135–142
 73. **Loper. J.E, and Buyer.** « J.S, Siderophores in microbial interactions on plant surfaces». *Mol plant-microbe interac* N°4, **1991**, pp. 5-13.
 74. **O'Sullivan, D.J., and O'Gara, F.** «Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens». *Microbiol Rev*. N°56 , **1992**, pp 662-676.
 75. **Lugtenberg, B.J.J., Weger, L.A. de and Schippers, B.** «Bacterization to protect seed and rhizosphere against disease». in: BCPC Monograph No 57: Seed Treatment: Progress and Prospects, **1994**, pp. 293-302.
 76. **Neilands, J.B.** «Siderophores: Structure and function of microbial iron Transport compounds *J. Biol. chem.* N°270, **1995**, pp26723-26726.
 77. **Pieterse, C.M.J. and van Loon, L.C.** «Salicylic acid-independent plant defence pathways. » *Trends Plant Sci*. Vol 4, N° 2, **1999**, pp:52-58.
 78. **Raaijmakers, Jos M, Paulitz Timothy C. Steinberg Christian Alabouvette Claude Moëgne-Locco Yvan ..**«The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms», *Plant Soil*, **2008**, pp1573-5036
 79. **Bultreys A, Gheysen I, Wathelet B, Maraite H, de HoVmman E** «High-performance liquid chromatography analyses of pyoverdinin siderophores differentiate among phytopathogenic fluorescent *Pseudomonas* species». *Appl Environ Microbiol* N° 69, **2003**, pp:1143–1153
 80. **Moll Henry, Johnsson Anna, Schaëfer Mathias ,Pedersen Karsten, Budzikiewicz Herbert, Bernhard Gert,.** «Curium (III) complexation with pyoverdins secreted by a groundwater strain of *Pseudomonas fluorescens*». *Biometals* N°21, **2008**, pp:219–228
 81. **Mercado-Blanco J., Van der Drift, KMG M., Olsson PE., Thomas-Oates JE., Van Loon LC., Bakker, PAHM.** «Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374». *J. Bacteriol*. N°183, **2001**, pp 1909-1920.
 82. **Mies KA, Wirgau Ji, Crumbliss A.L,** «Ternary complex formation facilitates a redox mechanism for iron release from a siderophore». *Biometals* N°19, **2006**, pp:115–126

83. **Marutani, M. Taguchi F. Ogawa Y. Mijan Hossain Md. Inagaki Y. Toyoda K. Shiraishi T. Ichinose Y.** «Gac two-component system in *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* is required for virulence but not for hypersensitive reaction», *Mol Genet Genomics*, N° 279, **2008**, pp:313–322
84. **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.
85. **Joyce, E., Loper, J.E., Carol, A., Ishimaru,** «Factors influencing siderophore mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp». *The rhizosphere and plant growth*. **1991**, pp: 253-261.
86. **Duffy, B. K. and Défago, G.** «Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains». *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 65, N°6, **1999**, pp:2429-2438.
87. **Valdebenito, M., Crumbliss, A.L, Winkelmann, G., Hantke, K.M.** «Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin, andyersiniabactin in *Escherichia coli* strain Nissle». *Int J Med Microbiol* (in press) **2006**
88. **Höfte, M. Buysens, S. Koedam, N. 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.
89. **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.
90. **Singh, R.P., Boucher, A., Somerville, T.H., Dhar, A.K.,** «Sélection of monoclonal antibody to detect PVY^N and its use in ELISA and DIBA assays». *Can. J. Plant Pathol.* N°15, **1993**, pp.293-300.
91. **Richardson, A.E.** «Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants». *Aust. J. Plant Physiol.* N° 28, **2001**, pp 897-906.
92. **Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K.** «Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields». *Field Crops Research.* N°77, **2002**, pp 43-49.
93. **Rodriguez-Lanetty M, Phillips WS, Weis VM . .** «Transcriptome analysis of a cnidarian-dinoflagellate mutualism reveals complex modulation of host gene expression». *BMC Genom* 7, art no 23, **2006**.
94. **Goldstein, A.H.** «bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects». *Am. J. Altern. Agric.* N°1, **1986**, pp 51-57.
95. **Whitelaw. M.A,** «Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi», *Advances in Agronomy.* vol. 69, **2000.**, pp. 99 - 151.
96. **Martin, L., Peix, A., Mateos, P. F., Martinez-Molina, E., Rodriguez-Barrueco, C., and Velazquez, E.,.** «Mobilization of phosphorus from soil to strawberry plants by a strain of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. In First international meeting on microbial phosphate solubilization, Abstract Salamanca», Spain: Universidad de Salamanca, IRNA-CSIC, **2002**.
97. **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.
98. **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.

99. **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, **2007**, pp. 3621 – 3643.
100. **Solaiman, Z., Marschner, P., Wang, D., Rengel, Z.** «Growth, P uptake and rhizosphere properties of wheat and canola genotypes in an alkaline soil with low P availability Biol Fertil Soils N°44,**2007**,pp:143–153.
101. **Singh, N.,Pandey, P., Dubey, R.C., Maheshwari, D.K.** «Biological control of root rot fungus *Macrophomina* sp. and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1». World J Microbiol Biotechnol,**2008**, pp1669-1679
102. **Mirleau, P., Philippot, L., Corberand, T. et Lemanceau, P.** «Involvement of nitrate reductase and pyoverdine in competitiveness of *Pseudomonas fluorescens* strain C7R12 in Soil». *Appl Environ Microbiol.* N°**67**,**2001**,pp 2627-2635.
103. **Zhang, S-H, Li, W, Wu, C-Z, Chen, H, Shi, Y,** «Reduction of Fe(II) EDTA-NO by a newly isolated *Pseudomonas* sp strain DN-2 in NOx scrubber solution». *Appl Microbiol Biotechnol* N°76,**2007**,pp:1181–1187
104. **Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G., and Penrose, D. M.,** «Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria». Imperial College Press, London,**1999**.
105. **Leigh, G.J.** «Nitrogen fixation at the millennium». London: Elsevier Science ,**2002**.
106. **Chennoui, N.** «Actions des rhizobactéries bénéfiques sur l'amélioration de la stimulation de la croissance des plantes. Importance de la compétence rhizosphérique chez *Pseudomonas* spp. fluorescents ».Thèse Magistère. Univ Blida, **2008**,161p.
107. **Grimes, H.D., Mount, M.S.** «Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Polus vulgaris*», *Soil Biot Biochem*, N° **6**,**1987**,pp 27-30
108. **Howell.** «Recent results of greenhouse and field trials on bacterial induced plant growth promotion with no obvious symptoms of plant disease». In :Proc int Workshop P.G.P.R. Ontario, Canada, **1987**, pp 27- 33.
109. **Marschner. H,** «Mineral nutrition of higher plants», London: Academic Press, **1997**, pp. 889.
110. **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.
111. **Remans R, Croonenborghs A, Torres Gutierrez R, Michiels J, Vanderleyden J** «Effects of plant growth promoting rhizobacteria on nodulation of *Polus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition». *Eur J Plant Pathol* , 119**2007**,pp:341–351
112. **Arshad. M, Frankenberger.W.T,** «Microbial production of plant hormones» *Plant Soil*, N° 133, 1991, pp. 1 - 8.
113. **Idriss E E, Makarewicz O, Farouk A, Rosner K, Greiner R, Bochow H, Richter T and Borriss R.** «Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect». *Microbiology* N°148, **2002**, pp2097–2109.
114. **Figueiredo M. V. B., Martinez C. R., Burity H. A., Chanway C. P.** «Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Polus vulgaris* L.) ». *World J Microbiol Biotechnol* **2007**, pp1187-1193
115. **Cohen Ana C Bottin Rubén i Piccoli Patricia N.** «Azospirillum brasilense Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants *Plant Growth Regul* N°54,**2008**,pp:97–103

116. **Rodelas, B., V. Salmeron, M. V. Martinz – Toledo et G. J. Loper.** «Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically defined media». *Plant Soil* N°153, 1993, pp 97 – 101.
117. **Teale WD, Paponov IA, Palme K** «Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development». *Nat Rev Mol Cell Biol* N°7, 2006, pp:847–859
118. **Sergeeva E .Hirkala Danielle L. M. Nelson Louise M.** «Production of indole-3-acetic acid, aromatic amino acid aminotransferase activities and plant growth promotion by *Pantoea agglomerans* rhizosphere isolates », *Plant Soil* N° 297, 2007, pp:1–13
119. **Ali B Hayat S Hasan Aiman Ahmad A A** «comparative effect of IAA and 4-Cl-IAA on growth, nodulation and nitrogen fixation in *Vigna radiata* (L.) Wilczek», *Acta Physiol Plant* N°30, 2008, pp:35–41
120. **Lawongsa, P. Boonkerd, N. Wongkaew, S. O’Gara, F. Teaumroong. N.** «Molecular and phenotypic characterization of potential plant growth-promoting *Pseudomonas* from rice and maize rhizospheres Springer Science+Business Media B.V», *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 24, n°9, 2008, pp. 1877-1884.
121. **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.
122. **Pattern CL, Glick RB** «Bacterial biosynthesis of indoleacetic-acid». *Can J Microbiol* N°42, 1996, pp:207–220
123. **Remans R., Beebe S., teve, Blair M., Manrique G., Tovar E., Rao I., Croonenborghs A., Torres-Gutierrez R., El-Howeity Md., Michiels J., Vanderleyden J.,** «Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth-promoting bacteria in common bean (*Polus vulgaris* L.)» *lant Soil*, N°302, 2008, pp:149–161
124. **Saleem M, Arshad M, Hussain S, Bhatti AS** «Perspectives of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture». *J IndMicrobiol Biotech* N°34, 2007, pp:635–648
125. **Glick, B. R.** «Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase». *FEMS Microbiology Letters*, 251, 2005, pp 1–7.
126. **Rajkumar M, Lee WH, Lee K.J.** «Screening of bacterial antagonists for biological control of *Phytophthora* blight of pepper». *J Basic Microbiol* N°45, 2005, pp55–63
127. **Lemanceau, P., et Heulin, T.** «La rhizosphère», In Stengel, P, Gelin S (Eds.), 1998, pp 93-106. *Soil, intercae fragile, Coll.«Mieux comprendre», INRA et Nathan, Paris.*
128. **Timmusk. S,** «Mecanism of action of Plant Growth Promoting Bacterium (*Paenibacillus polymyxa*)», *ACTA Universitatis Upsaliensis. Uppsala*, 2003, pp. 42.
129. **Défago. G, Haas. D, Berling. CH, 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]
130. **Thomashow, L.S., Bonsall, R.F. et Welter, D.M.** «Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ», 1997, pp 493-500. A. Press .Eds., *In Manual of environmental microbiology*, Hurst, C.J., Washington, D.C.
131. **Raaijmakers. J.M, Vlami. M, De Souza. J.T,** «Antibiotic production by bacterial biocontrol agents», *Antonie Leeuwenhoek*, N° 81, 2002, pp. 537 – 547.
132. **McGowan, S.J., Barnard, A.M.L., Bosgelmez, G., Sebahia, M., Simpson, N.J.L., Thomson, N.R., Todd, D.E., Welch, M., Whitehead, N.A. and Salmund, G.P.C..** «Carbapenem antibiotic biosynthesis in *Erwinia carotovora* is regulated by physiological

- and genetic factors modulating the quorum sensing-dependent control pathway». *Mol. Microbiol.* Vol **55**,N°2, **2005**,pp:526-545.
133. **Keel C, Schnider U, Maurhofer M, Voisard C, Laville J, Burger U, Wirthner P, Haas D, Défago G** «Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol». *Mol Plant-Microb Interact* N°5,**1992**,pp:4–13
 134. **Chin-A-Woeng TFC, Bloemberg GV, Van der Bij AJ, Van der Drift KMG, Schripsema J, Kroon B, Scheffer RJ, Keel C, Bakker PAHM, Tichy HV, De Bruijn FJ, Thomas-Oates JE, Lugtenberg BJJ** «Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Mol» *Plant-Microbe Interact.* N°11, **1998**, pp 1069–1077.
 135. **Nielsen TH, Christophersen C, Anthoni U, Serensen J: Viscosinamide**, «a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54». *J Appl Microbiol*, N°87, **1999**,pp 80-90.
 136. **Nowak-Thompson B., Chaney N., Wing 1S., Gould Si., Loper JE.** . «Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5». *J Bacteriol*, N°181, **1999**, pp2166-2174.
 137. **Haas, D. and Keel, C.** «Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°41, 2003,pp:117-153.
 138. **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.
 139. **Li Y., Jiang H., Xu Y., Zhang X.,** «Optimization of nutrient components for enhanced phenazine-1-carboxylic acid production by *gacA*-inactivated *Pseudomonas* sp. M18G using response surface method» *Appl Microbiol Biotechnol* N°77,2008,pp:1207–1217
 140. **Voisard C, Keel C, Haas D, Défago G** «Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root of tobacco under gnotobiotic conditions». *EMBO J* N° 8,**1989**,pp:351–358.
 141. **Stutz E, Défago G, Kern H** «Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco». *Phytopathol* N°76,**1986**,pp:181–185
 142. **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).
 143. **Latour X. et Lemanceau, P.** «Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive». *Agronomie.* N° 17,**1997**, pp427-443.
 144. **Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M. and Schippers, B.** «Siderophore receptor as a marker to track fluorescent *Pseudomonas* spp». In: *Molecular Microbial Ecology Manual* (A.D.L. Akkermans, J.D. Van Elsas and F.J. De Bruijn, eds), N°6., **1998**,1.4. pp. 1-9, Kluwer, Dordrecht.
 145. **Buyer, J.S., Kratzke, M.G. et Sikora, L.J.** «A method for detection of pseudobactin, the siderophore produced by a plant-growth-promoting *Pseudomonas* strain, in the barley rhizosphere». *Appl Environ Microbiol.* N°59, **1993**, pp 677-681.
 146. **Ongena, M., Duby, F., Rossignol, F., Fauconnier, M.L., Dommès, J. and Thonart, P.** «Stimulation of the lipoxygenase pathway is associated with systemic resistance induced in bean by a nonpathogenic *Pseudomonas* strain». *Mol. Plant Microbe Interact.* vol**17**, N°9,**2004**,pp:1009-1018.

147. **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.* vol **25**, N°1, 2003, pp:5-9.
148. **Bakker PAHM** «Siderophore-mediated plant growth promotion and colonization of roots by strains of *Pseudomonas* spp». PhD Thesis, Utrecht University, Utrecht, **1989**
149. **Hammerschmidt, R. and Kuc, J.** «Induced Systemic Resistance to Disease in Plants». Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Acad. Publ. **1995**
150. **Wei, G., Kloepper, J.W. and Tuzun, S.** «Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria». *Phytopathology*. Vol **81**, N°12, **1991**, pp:1508-1512.
151. **Van Loon, L.C.** «Induced resistance and the role of pathogenesis-related proteins». *Eur. J. Plant Pathol.* N°**103**, **1997**, pp 753-765.
152. **Van Loon, L. C. and Van Strien, E. A.** «The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins». *Mol. plant Pathol.* Vol **55**, N°2, **1999**, pp:85-97.
153. **Shoman, Sahar A., Nagwa A. Abd-Allah and A.F. El-Baz,** «Induction of resistance to tobacco necrosis virus in bean plants by certain microbial isolates». *Egyptian J. of Biol.*, N°5, **2003**, pp: 10-18.
154. **Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C.** «Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp», *Phytopathology*, N°**97**, **2007**, pp 239-243
155. **Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V. and Samiyappan, R.** «Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases». *Crop Protect.* Vol **20**, N°1, 2001, pp:1-11.
156. **Bent, E.** «Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In *Multigenic and induced systemic Resistance in Plants*», edited by S. Tuzun and E. Bent: Springer, NY, 2005.
157. **Liu, L., Kloepper, J.W. and Tuzun, S.** «Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria». *Phytopathology*. Vol **85**, N°6, 1995a, pp:695-698.
158. **Liu, L., Kloepper, J.W. and Tuzun, S.** «Induction of systemic resistance in cucumber against angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria». *Phytopathology*. Vol **85**, N°8, 1995b, pp:843-847.
159. **Maurhofer, M., Reimann, C., Schmidli-Sacherer, P., Heeb, S., Haas, D. and Défago, G.** «Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against tobacco necrosis virus». *Phytopathology*. Vol **88**, N°7, **1998**, pp:678-684.
160. **Van Peer, R., Niemann, G.J. and Schippers, B.** «Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r». *Phytopathology*. Vol **81**, N°9, **1991**, pp:728-734.
161. **Zhou, T. and Paulitz, T. C.** «Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber». *J. Phytopathol.* vol 142, N°1, **1994**, pp:51-63.
162. **Larbaoui, A.** «Etude des mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de résistance systémique vis à vis des fusarioses vasculaires». Thèse Magistère. Univ Blida, **2003**, 94p.
163. **Raupach, G.S., Liu, L., Murphy, J.F., Tuzun, S. and Kloepper, J.W.** «Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus

- using plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR)». *Plant Dis.* vol **80**, N°8,**1996**,pp:891-894.
164. **Yan, Z.N., Reddy, M.S., Ryu, C.M., McInroy, J.A., Wilson, M. and Kloepper, J.W.** «Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*». Vol **92**,N°12,**2002**,pp:1329-1333.
 165. **Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S. and Vivanco, J.M.** «The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms». *Annu. Rev. Plant Biol.* N° **57**,**2006**,pp: 233-266.
 166. **Maurhofer, M., , C., Meuwly, P., Métraux, J. P. and Défago, G..** «Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production». *Phytopathology.* Vol **84**,N°2,**1994**,pp:139-146.
 167. **Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D., Damodaran, T., Samiyappan, R..** «Rhizosphere and endophytic Induction of systemic resistance in banana (*Musa* spp.) against Banana bunchy top virus (BBTV) by combining chitin with root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0» *Eur J Plant Pathol* N°120,**2008**,pp:353–362
 168. **Shehata, Sawsan F. and A.M. El-Borollosy,.** «Induction of Resistance Against Zucchini Yellow Mosaic *Potyvirus* and Growth Enhancement of Squash Plants Using Some Plant Growth-promoting Rhizobacteria». *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol 2, N°2,**2008**,pp: 174-182.
 169. **Ongena, M. and Thonart, P.** «Resistance Induced in Plants by Non-pathogenic Microorganisms: Elicitation and Defense Responses. In *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: advances and topical issues*», edited by A. Jaime and T. d. Silva. Japan: Global Science Books. **2006**
 170. **Jourdan, E.** «Dialogue moléculaire entre les rhizobactéries et leur hôte végétal : deux nouveaux éliciteurs impliqués dans l'induction de résistance aux pathogènes». *PhD Thesis.* University of Liège, **2008**, p: 192.
 171. **Benhamou, N., Kloepper, J.W., Quadt-Hallman, A. and Tuzun, S..** «Induction of Defense-Related Ultrastructural Modifications in Pea Root Tissues Inoculated with Endophytic Bacteria». *Plant Physiol.* Vol **112**, N°3, **1996**, pp:919-929.
 172. **Benhamou, N. and Bélanger, R.** «Induction of systemic resistance to *Pythium* damping-in cucumber plants by benzothiadiazole: ultrastructure and cytochemistry of the host response». *The plant journal.* Vol **14**, N°1,**1998**,pp:13-21.
 173. **M'Piga, P., Belanger, R.R., Paulitz, T.C., and 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.* N° **50**, **1997**, pp301-320.
 174. **Albert, F. and Anderson, A.J.** «The effect of *Pseudomonas putida* colonization on root surface peroxidase». *Plant physiol.* N°**85**, **1987**,pp535-541
 175. **Benhamou, N., Gagne, S., Le Quere, D. and Dehbi, L.** «Bacterial-mediated induced resistance in cucumber:Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*». *Phytopathology* N° **90**,**2000**,pp: 45-56.
 176. **Silva MSA., Romeiro RDS., Macaghan D., Holfold-Vieira BDA., Periera MCB., Monteer A.** «Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non specific protection and increase in enzyme activities». *Biological control* N°**29**,**2003**, pp287-295.
 177. **Zdor, R.E., and Anderson, A .J..** «Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean». *Plant Soil* .N°140, **1992**, pp.99-107.

178. **Jeun, Y.C., Park, K.S., Kim, C.H., Fowler, W.D. and Kloepper, J.W.** «Cytological observations of cucumber plants during induced resistance elicited by rhizobacteria». *Biol. Control*. Vol **29**,N°1,2004,pp:34-42.
179. **Viswanathan, R., Samiyappan, R.** «Induction of systematic resistance by plant growth promoting rhizobacteria against red rot disease caused by *Collectotrichum falacatum* went in sugarcane». Proceedings of Sugar Technology Association of India, Vol **.61,1999**, pp.24-39.
180. **Park, K. S. and Kloepper, J.W.** «Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*». *Biol. Control*. Vol **18**,N°1,2000,pp:2-9.
181. **Van Loon, L.C.** «Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins». In: Pathogenesis-Related Proteins in Plants (S.K. Datta and S. Muthukrishnan, eds), **1999**, pp. 1-19. CRC Press, Boca Raton, FL.
182. **Van Loon, L.C.** «Biotechnology as a means to improve biological control of plant diseases». *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, N°**63**, **1998**, pp1657-1666.
183. **Van Peer, R. and Schippers, B.** «Lipopolysaccharides of plant-growth promoting *Pseudomonas* sp. strain WCS417r induce resistance in carnation to *Fusarium* wilt». *Neth. J. Plant Pathol.*vol **98**, N°2, **1992**, pp:129-139.
184. **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.]
185. **Van Wees, S.C.M., Pieterse, C.M.J., Trijssenaar, A., Van 't Westende, Y., Hartog, F. and Van Loon, L. C.** «Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria». *Mol. Plant Microbe Interact.* vol **10**,N°6,**1997**,pp:716-724.
186. **Meziane, H., van der Sluis, I., van Loon, L.C., Höfte, M. and Bakker, P.A.H.M.**«Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants». *Mol. Plant Pathol.* Vol **6**, N°2, **2005**, pp: 177-185.
187. **De Weger. L.A, Bakker P.A.H.M, Schippers. B, van Loosdrecht. M.C.M and Lugtenberg. B.** «*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
188. **Duijff, B. J., Gianinazzi-Pearson, V. and Lemanceau, P.**«Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* WCS417r». *New Phytol.* Vol **135**, N°2, **1997**, pp:325-334.
189. **Dekkers, L.C., Van der Bij, A.J., Mulders, I.H.M., Phoelich, C.C., Wentwoord, R.A.R., Glandorf, D.C.M., Wijffelman, C.A. and Lugtenberg. B.J.J.**«Role of the O-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH:ubiquinone oxidoreductase (nuo) in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS356». *Mol. Plant-Microbe Interact.* N°**11**, **1998**, pp763-771.
190. **Reitz, M., Oger, P., Meyer, A., Niehaus, K., Farrand, S. K., Hallmann, J. and Sikora, R.A.** «Importance of the O-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Globodera pallida*». *Nematology*. Vol **4**, N°1, **2002**, pp:73-79.
191. **Leeman, M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Dirkx, F.P., Steijl, H., Bakker, P.A.H.M., and Schippers, B.** «Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*». *Phytopathology* N°**86**, **1996**,pp149-155.

192. **Budzikiewicz, H.** «Siderophores of the Pseudomonadaceae sensu stricto (fluorescent and non-fluorescent *Pseudomonas* spp.)». *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* N°87, 2004, pp:81-237.
193. **Ran, L.X., Li, Z.N., Wu, G.J., van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M.** «Induction of systemic resistance against bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp». *Eur. J. Plant Pathol.* Vol 113, N° 1, 2005a, pp:59-70.
194. **De Vleeschauwer, D., Cornelis, P. and Höfte, M.** «Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice». *Mol. Plant Microbe Interact.* Vol 19, N°12, **2006**, pp:1406-1419.
195. **Ongena, M., Giger, A., Jacques, P., Dommes, J. and Thonart, P.** «Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean by *Pseudomonas putida* BTP1». *Eur. J. Plant Pathol.* Vol **108** N°3, **2002a**, pp:187-196.
196. **Ongena, M., Jourdan, E., Schäfer, M., Kech, C., Budzikiewicz, H., Luxen, A. and Thonart, P.** «Isolation of an n-alkylated benzylamine derivative from *Pseudomonas putida* BTP1 as elicitor of induced systemic resistance in bean». *Mol. Plant Microbe Interact.* vol **18**, N°6,**2005c**, pp:562-569.
197. **Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Schäfer, M., Budzikiewicz, H. and Thonart, P.** «Amino Acids, Iron, and Growth Rate as Key Factors Influencing Production of the *Pseudomonas Putida* BTP1 Benzylamine Derivative Involved in Systemic Resistance Induction in Different Plants». *Microb Ecol.* vol 55, N° 2, **2007b**, pp.280-292
198. **De Meyer, G. and Höfte, M.** «Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean». *Phytopathology.* Vol **87**, N°6, **1997**, pp 588-593.
199. **Pieterse, C.M.J. and van Loon, L.C.** «NPR1: the spider in the web of induced resistance signaling pathways». *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol **7**, N°4,**2004**, pp:456-464.
200. **Klessig D.F., Malamy J.,** «The salicylic acid signal in plants». *Plant Molecular Biology* N°**26**,**1994**, pp: 1439-1458.
201. **Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M.** «Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria»,**2005**, pp39–66In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, edited by Z. A. Siddiqui: Springer..
202. **Audenaert, K., Pattery, T., Cornélis, P. and Höfte, M.** «Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2: Role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin». *Mol. Plant Microbe Interact.* vol**15**,N°11,2002,pp:1147-1156.]
203. **Siddiqui, I.A. and Shaukat, S.S.** «Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*». *J. Phytopathol.* Vol **150**, N° (8-9),**2002**, pp:469-473.]
204. **Iavicoli, A., Boutet, E., Buchala, A. and Métraux, J.P.** «Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0». *Mol. Plant Microbe Interact.* N°**16**,**2003**, pp: 851- 858.
205. **Weller, D.M., van Pelt, J.A., Mavrodi, D.V., Pieterse, C.M.J., Bakker, P.A.H.M. and van Loon, L.C.** «Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*», *Phytopathology.* **2004**, 94p
206. **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**, N°8, **1996**, pp:1225-1237.

207. **Pieterse, C.M.J., van Wees, S.C.M., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeeck, P.J. and van Loon, L.C.** «A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*». *Plant Cell*. N°10, **1998**, pp:1571–1580.
208. **Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T. and Samiyappan, R..** «Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*», *Soil Biol. Biochem.* Vol **33**, N° (4-5), **2001**, pp:603-612.]
209. **Saravanakumar, D., Kumar, C. V., Kumar, N., & Samiyappan, R..** «PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease». *Crop Protection*, N° 26, **2007**, pp556–565.
210. **Van Loon, L.C., Rep, M. and Pieterse, C.M.J.** «Significance of inducible defense-related proteins in infected plants». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°44,**2006**,pp: 135-162.
211. **Hynes, R.K and Lazarovits, G.** «Effect of seed treatment with plant growth- promoting rhizobacteria on the protein profiles of intracellular fluids from bean and tomato leaves». *Can J plant Microbe Interact.* N°4,**1989**,pp 393 – 399.
212. **Li, G. and Ouyang, G.C.** «Plant induced disease resistance. *Plant Physiol. Commun.* N° 6,1990,pp:1-4]
213. **Mansfield, J.W..** «Antimicrobial compounds and resistance: the role of phytoalexins and phytoanticipins. In *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*», edited by A. J. Slusarenko, R. S. S. Fraser and L. C. Van Loon. Dordrecht: Kluwer. **2000**
214. **Soylu, S., Bennett, M.H. and 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.* N°26, 2002, pp:343-348.
215. **Wang, J., Wang, B., Zhao, H. and Li, B.** «Preliminary study on phytoalexin induction in cucumber». *Colloids Surf B Biointerfaces.* vol **43**, N°3-4,2005,pp:203-207.]
216. **Chandrashekar, A. and Satyanarayana, K.V..** «Disease and pest resistance in grains of sorghum and millets». *J. Cereal Sci.* vol **44**, N°3, 2006, pp:287-304.]
217. **Van peer R., Niemann G.J., and Schippers B.,** «Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium with of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417R». *Phytopathology*, vol 70, N°81, **1991**, pp: 728-734.
218. **Ongena, M., Daayf, F., Jacques, P., Thonart, P., Benhamou, N., Paulitz, T.C., Cornelis, P.,Koedam, N. and Bélanger, R.R..** «Protection of cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent *Pseudomonads*: predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis». *Plant Pathol.* Vol 48, N°1, **1999**, pp:66-76.
219. **Ongena, M., Daayf, F., Jacques, P., Thonart, P., Benhamou, N., Paulitz, T. C. and Bélanger, R. R.** «Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent *Pseudomonads*. *Plant Pathol.*vol **49**, N°4,**2000c**,pp:523-530.
220. **Chen, C., Bélanger, R., Benhamou, N. and Paulitz, T..** «Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*». *Physiol. Mol. Plant Pathol.*vol **56**, N°1, **2000**, pp:13-23.
221. **Cools, H.J. and Ishii, H.** Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (*PAL1*) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus». *Physiol. Mol. Plant Pathol.* vol **61**,N°5,2002,pp:273-80.
222. **Politycka, B..** «Phenolics and the activities of phenylalanine ammonia lyase, phenol-b glucosyltransferase and b-glucosidase in cucumber root as affected by phenolic allelochemicals». *Acta Physiol. Plant.* N°20, **1998**, pp:405-410.
223. **Fofana, B., McNally, D.J., Labbé, C., Boulanger, R., Benhamou, N., Séguin, A. and Bélanger, R.R.** «Milsana-induced resistance in powdery mildewinfected cucumber plants

- correlates with the induction of chalcone synt and chalcone isomerase». *Physiol. Mol. Plant Pathol.* N°61,2002,pp:121-132.
224. **Feussner, I. and Wasternack, C.** «The lipoxygenase pathway. *Ann. Rev.Plant Biol.* N°53, 2002, pp:275-297.]
225. **Baysal, T. and Demirdoven, A.** «Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review». *Enzyme Microb. Technol.* Vol 40, N°4,2007,pp:491-496.
226. **Diaz, M., Achkor, H., Titarenko, E. and Martinez, M.C..** «The gene encoding glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase/GSNO reductase in responsive to wounding, jasmonic acid and salicylic acid». *FEBS Lett.* vol 543, N° (1-3),2003,pp:136-139.
227. **Weichert, H., Stenzel, I., Berndt, E., Wasternack, C. and Feussner, I.** »«Metabolic profiling of oxylipins upon salicylate treatment in barley leaves - preferential induction of the reductase pathway by salicylate». *FEBS Lett.* Vol 464, N°3, 1999, pp:133-137.
228. **Kohlmann, M., Bachmann, A., Weichert, H., Kolbe, A., Balkenhohl, T., Wasternack, C. and Feussner, I.** «Formation of lipoxygenase-pathway-derived aldehydes in barley leaves upon methyl jasmonate treatment». *Eur. J. Biochem.* vol 260, N°3, 1999, pp:885-895.
229. **Rusterucci, C., Montillet, J.L., Agnel, J.P., Battesti, C., Alonso, B., Knoll, A., Bessoule, J.J., Etienne, P., Suty, L., Blein, J.P. and Triantaphylidès, C..** »«Involvement of lipoxygenase-dependent production of fatty acid hydroperoxides in the development of the hypersensitive cell death induced by cryptogein on tobacco leaves». *J. Biol. Chem.* Vol 274, N°51, 1999, pp:36446-36455.
230. **Montillet, J.L., Agnel, J.P., Ponchet, M., Vailliau, F., Roby, D. and Triantaphylides, C.** «Lipoxygenase-mediated production of fatty acid hydroperoxides is a specific signature of the hypersensitive reaction in plants». *Plant Physiol. Biochem.* vol 40, N° (6-8),2002,pp:633-639.
231. **La Camera, S., Gouzerh, G., Dondt, S., Hoffmann, L. and Fritig, B., Legrand, M. an Heitz, T..** »«Metabolic reprogramming in plant innate immunity: the contributions of phenylpropanoid and oxylipin pathways. *Immunol. Rev.* vol 198, N°1,2004,pp:267-284.
232. **Shah, J.** «Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°43, 2005, pp:229-260.]
233. **Profotová, B., Burketova, L., Novotna, Z., Martinec, J. and Valentova, O..** «Involvement of phospholipases C and D in early response to SAR and ISR inducers in *Brassica napus* plants». *Plant Physiol. Biochem.* Vol 44, N° (2-3), 2006, pp:143-151.
234. **Wasternack, C., Stenzel, I., Hause, B., Hause, G., Kutter, C., Maucher, H., Neumerkel, J., Feussner, I. and Miersch, O.** «The wound response in tomato - Role of jasmonic acid». *J. Plant Physiol.* Vol 163, N°3, 2006, pp:297-306.
235. **Conrath, U., Pieterse, C.M.J. and Mauch-Mani, B.** «Priming in plant-pathogen interactions». *Trends Plant Sci.* vol 7, N°5, 2002,pp:210-216.]
236. **Engelberth, J., Alborn, H.T., Schmelz, E.A. and Tumlinson, J.H..** «Airborne signals prime plants against insect herbivore attack». *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* N° 101,2004,pp:1781-1785.]
237. **Ton, J., D'Alessandro, M., Jourdie, V., Jakab, G., Karlen, D., Held, M., Mauch-Mani, B. and Turlings, T.C.J..** «Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize». *Plant J.* vol 49, N°1, 2007, pp:16-26.
238. **Kishimoto, K., Matsui, K., Ozawa, R. and Takabayashi, J.** «ETR1-, JAR1- and PAD2-dependent signaling pathways are involved in C6-aldehyde-induced defense responses of *Arabidopsis*». *Plant Sci.* vol 171, N°3,2006a,pp:415-423.

239. **Conrath, U., Beckers, G.J., Flors, V., Garcia-Agustin, P., Jakab, G., Mauch, F., et al** «Priming: getting ready for battle. *Mol. Plant Microbe Interact*». N°19, 2006, pp: 1062-1071.
240. **Van Hulten, M., Pelser, M., van Loon, L.C., Pieterse, C.M.J. and Ton, J.** «Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*». *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* vol 103, N°14, 2006, pp: 5602-5607.
241. **Hase, S., Van Pelt, J.A., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J.** «Colonization of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas fluorescens* primes the plant to produce higher levels of ethylene upon pathogen infection. *Physiol. Mol. Plant Pathol*». Vol 62, N°4, 2003, pp: 219-226.
242. **Verhagen, B.W.M., Glazebrook, J., Zhu, T., Chang, H.S., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J.** «The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact*». Vol 17, N°8, 2004, pp: 895-908.
243. **Van Loon, L.C., Geraats, B.P.J. and Linthorst, H.J.M.** «Ethylene as a modulator of disease resistance in plants». *Trends Plant Sci.* vol 11, N°4, 2006, pp: 184-191.
244. **Merlet J. Le Hingrat Y. Ellissèche D. Crouau G et Langlade P.** «Production du plant, 1996, pp: 415-448. In: La pomme de terre (production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations)., Rousselle ,et al.,(ed) pp: Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C. ed INRA. p 607.
245. **Rolot J.L et Seutin H.** »«Production de mintubercules de pomme de terre par hydroponie (rapport de synthèse de recherche menées de 1994 à 1996). Centre de recherche agronomique de Gembloux (CRA) 1997, p: 1-40.
246. **Millam, S et Sharma, S. K,** «Biotechnology, Soil-Free Techniques», 2007, pp: 705-716. In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives . Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801p.
247. **Kitaya, Y., Ohmura, Y., Kubota, C. & Kozai, T.** «Manipulation of the culture environment on *in vitro* air movement and its impact on plantlets photosynthesis». *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, N°83, 2005, pp 251-257.
248. **Van Loon. K.D,** «The seed potato market», 2007b, pp 45-51 In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives, Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801 p .
249. **Radtke. W et Rieckmann. W** «Les maladies et ravageurs de la pomme de terre». Edition. TH. MANN. GELSNKIR-BUER. 1991, 169p
250. **Deltour A., Guillou M., kerlan C..** «Trends in France for the use of the ELISA method in routine seed-potato testing and problems of cross-reactions between PVA and PVY». OEPP/EPPO Bull, N°17, 1987, pp.69-72.
251. **Mollov, D.S., and C.A. Thill.** «Evidence of Potato Virus Y Asymptomatic Clones in Diploid and Tetraploid Potato Breeding Populations». *Amer J Potato Res.* N°81, 2004, pp: 317-326.
252. **Kerlan C. Priou Sylvie. Jouan B. Pasco Claudine. Prior P. Samson R. Corbière R. Tivoli B. Bedin P. Duvauchelle S. Andrivon D. Elimane Rachida. Perraton B..** «Maladies», 1996, pp: 231-316. In: La pomme de terre (production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations)., Rousselle ,et al.,(ed) pp: Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C. ed p 607.
253. **Simko, I; Jansky, S; Stephenson, S and Spooner, D.** «.: Genetics of Resistance to Pests and Disease», 2007, pp: 117-147. In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives . Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801p
254. **Valkonen J. P.T.** «Viruses: Economical Losses and Biotechnological Potentia»l. 2007, pp: 619 640. In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives . Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801p

255. **Cornuet, P.** «Eléments de virologie végétale». INRA, Paris, **1987**, 206 p.
256. **Shukla, D.D., Ward, C.W., Brunt, A.A.** «The Potyviridae». Cambridge University Press, Cambridge, **1994**, 516p.
257. **Rajamaki M.L., T. Maki-Valkama, K. Makinen and J.P.T. Valkonen**, «In: N.J. Talbot (ed.), *Plant-Pathogen Interactions*», Blackwell Publishing, Sheffield, U.K. **2004**, p. 68
258. **Dougherty, W.G., Carrington, J.C.** «Expression and function of potyviral gene products». *Ann. Rev. Phytopathology* N°26, **1988**, pp:123-143
259. **Riechmann J.L., Lain S., Garcia J.A.** «Highlights and prospects of potyvirus molecular biology». *J. Gen. Virol.*, N°73, **1992**, pp 1-16. .
260. **Langenberg et Zhang**,. «*Journal of Structural Biology*», N°118, **1997**, pp:243-247.
261. **Milne, R.G.**, «The Plant Viruses-4. The filamentous plant viruses», éd. by R.G. Milne, Plénum Press New York & London, 1988.
262. **Tapio E, Bremer K, Valkonen JPT** «Viruses and their significance in agricultural and horticultural crops in Finland». *Agric. Food Sci Finl* N° 6, **1997**, pp:323–336
263. **De Bokx, J.A., Huttinga, H.** «Potato virus Y». CMI/AAB Description of plant viruses, CMI/AAB, Slough, England, No. 242, **1981**, 6pp.
264. **Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., Zurcher, E.J.** «"Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database». Version: 20th August 1996.' URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/> **1996**
265. **Www. World Intellectual Property Organization "WIPO" (WO/1994/016087)** Plant virus-resistant transgenic plants and method for producing same file:///C:/Documents%20and%20Settings/0319/Mes%20documents/ELISA/potyvirus.htm
266. **Smith, K.M.**, «Composite nature of certain potato viruses of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators». *Proc. Royal Soc. London, B* N°109, **1931**, pp: 251-267.
267. **Kerlan C., Valade C., Guillo M.**, «-Production des plants de pomme de terre en France. Différentes formes de virus». *Y. Pomme Terre fr.* N°431, **1985**, 323-326.
268. **Jones R.A.C.**, «Problems associated with potyviruses in potato certification-field inspection and serological testing». *OEPP/EPPO Bull.* N°17, **1987**, pp61-67.
269. **Gray, S.M., and Gildow, F.E.** «Luteovirus-Aphid Interactions». *Ann. Rev. Phytopathology*, N°41, **2003**, pp: 539-566.
270. **Basky Z., Almási A.** «Differences in aphid transmissibility and translocation between PVYN and PVYO». *Anz. Schädlienskunde/ J. Pest Science*, N°78, **2005**, pp 67-75
271. **Ross, H.** «Über die Verbreitung der Tabakrippenbräune-Stämme des Y-Virus der Kartoffel (*Marmor Ypsilon* Homes var. *costaenecans* Klinkowski & Schmelzer)» in Deutschland und anderen Ländern. *Phytopathol.Z*, N°35, **1959**, pp97-102 .
272. **Voinnet, O.** «Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections». *Nature Genetics*, N°6, 2005, pp.206-220.
273. **Www. World Intellectual Property Organization "WIPO (WO/2006/106082)** Method for detecting isolates of the Potato Virus Y (PVY) responsible for necroses file:///C:/Documents%20and%20Settings/0319/Mes%20documents/ELISA/%D8%AD%D8%AD.htm
274. **Gugerli, P., Fries, P.** «Characterization of monoclonal antibodies to potato virus Y and their use for virus detection». *J. Gen. Virol.* N°64, **1983**, pp:2471-2477.
275. **Maat, D.Z., Huttinga, H.,** «Serology. In *Viruses of potatoes and seed-potato production*». Ed. by De Bokx, J. A. and van der Want, J.P.H., Pudoc, **1987**

276. **Oshima, K., Inoue, A.K., Ishikawa, Y., Shikata, E., Takashi, H.** «Production and application of monoclonal antibodies spécifique to ordinary strain and necrotic strain of potato virus Y». *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* N°56, **1990**, pp: 508-514.
277. **Sanz, A., Cambra, M., Perez de San Roman, C, Miguët, J.G., Cortés, E., Gorris, M.T., Vela., C.** «Préparation of additional monoclonal antibodies for détection and discrimination of potato virus Y isolâtes infecting potato». *Potato Res.* N°33, **1990**, pp:365-375.
278. **Singh, R.P., Boucher, A., Somerville, T.H., Dhar, A.K.,** «Sélection of monoclonal antibody to detect PVY^N and its use in ELISA and DIBA assays». *Can. J. Plant Pathol.* N°15, **1993**, pp293-300.
279. **Ellis, P. Stace-Smith, R. Bowler, G. Mackenzie, D.J,** «Production of monoclonal antibodies for détection and identification of strains of potato virus Y». *Can. J. Plant Pathol.* N°18, **1996**, pp.64-70.
280. **Walkey, D.G.A., Webb, M.J.W.** «The use of a simple électron microscope serology procédure to observe relationships of seven potyvirus». *Phytopathologische Zeitschrift*, N°110, **1984**, pp: 319-327.
281. **Talley, J. Warren, F.H.J.B. Torrance, L. Jones, R.A.C.** «A simple kit for détection of plant viruses by the latex serological test». *Plant Pathol.* N°29, **1980**, pp: 77-79.
282. **Mc Donald, J.G. and Singh R.P.** «Host range, symptomatology, and serology of isolâtes of Potato virus Y (PVY) that share properties with both the PVY^N and PVY⁰ strain groups». *American Potato Journal* N°73, **1996**, pp:309-315
283. **Boonham, N., Barker, I.,** «Strain spécifique recombinant antibodies to potato virus Y potyvirus». *J. Virol. Methods* vol 74, N°2, **1998**, pp: 193-9.
284. **Ounouna, H., Kerlan, C, Lafaye P., Loukili M.J., ElGaaied, A.** «Production of monoclonal antibodies against synthetic peptides of the N-terminal région of Potato virus Y coat protein and their use in PVY strain differentiation». *Plant Pathol.* N°51, **2002**, pp: 487-490.
285. **Le Romancer, M., Kerlan, C, Nedellec, M.,.** Biological characterization of various geographical isolâtes of potato virus Y inducing superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathol.* N°43, **1994**, pp138-144.
286. **Kerlan, C, Tribodet, M., Glais, L., Guillet, M.** «Variability of potato virus Y in potato crops in France». *J. Phytopathology*, N°147, **1999**, pp:643-651.
287. **Browning I., K. Charlet, M. Chrzanowska, P. D'edič, C. Kerlan, A. Kryszczuk, J. Schubert, C. Varveri, A. Werkman and I. Wolf,** «What is PVYNTN ? The Reaction of Potato Cultivars to Inoculation with a Range of PVY Isolates», **2004**, p. 151. 12th EAPR Virology Section Meeting, Rennes, France.
288. **Chrzanowska, M.,** «New isolâtes of the necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) found recently in Poland». *Potato Res.* N°34, **1991**, pp:179-182.
289. **Glais, L., Colombel, A.S., Tribodet, M., Kerlan, C.** «PVY^N-605, the référence PVYN isolate, displays a PVY^N™ non-recombinant génome». The 12* EAPR virology section meeting, Rennes-France, 2004 June 13-19*, abstracts. 2004,pp 50
290. **Www. World Intellectual Property Organization "WIPO (WO/2005/118850)** Method for selecting or obtaining plants which are resistant to PVMV.
<file:///C:/Documents%20and%20Settings/0319/Mes%20documents/ELISA/%D9%8E%D8%B6%D8%B5.htm>
291. **Sigvald, R.** «The relative efficiency of some aphid species as vector of potato virus Y». *Potato Res.* N°27, **1984**, pp 285-290.

292. **Le Romancier M., Kerlan C.** «Potato tuber necrotic ringspot disease : genetical approach of the phenomenon and studies about hypersensitive or extreme susceptible behaviour of several cultivars». *Proc.EAPR Meeting, Virol.Sect., Victoria-Gasteiz, 1992*, pp91-95 .
293. **Blanco-Urgoiti, B., Tribodet, M., Leclere, S., Ponz, F., Perez de San Roman, C, Legorburu, F.J., Kerlan, C,** «Characterization of potato potyvirus Y (PVY) isolates from seed potato batches. Situation of the NTN, Wilga and Z isolates». *Eur. J. Plant Pathol.* N°104, 1998, pp.811-819.
294. **Caranta. c.,Palloix,s.k.Gebre.V.Lefebvre,B.Moury,A.M.Daubeze.** «a complementation of tow genes originating from susceptible capsicum annuulines confers a new and complete resistance to Pepper Veinal Mottle Virus». *Phytopatology*, N°86,**1996**, pp:739-743
295. **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.
296. **King. E.O, Wark. M.K and Raney.D.E.** «Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein». *Journal of Laboratory and chiminal medicine* N°44, **1954**, pp. 301-307.
297. **Murashige T. et Skoog F.** «A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures», *Physiol. Plant.* N°15, 1962, pp473 - 497.
298. **Digat, B.** «Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes: le cas des pseudomonas». (The plant growth promoting bacteria Exemple with *Pseudomonas*) *C.R Acad. Agri. Fr.*, vol 80, N° 2, 1994, pp: 124 – 140.
299. **GIRARD, J.C. GIANNOTTI, J. BAUDIN, P.** «Mise en évidence de Dasheen Mosaic Virus dans des macabos (*Xanthosoma Sagittaeifolium*) provenant du Cameroun», *Extrait de L 'Agronomie Tropicale* XXXV-1, 1980, pp30-34
300. **Fuchs J., and Defago G.** «Protection of cucumber plants against black root rot caused by *Phomopsis sclerotiodes* with rhizobactéria-Plant Growth Promoting rhizobactérie-progress and prospects». 2nd Int Workshop of PGPR. WPRS Bulletin,**1991**, pp: 57-62.
301. **Ryu C-M, Hu C-H, Robert D Locy2 and Kloepper JW** «Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobactérie in *Arabidopsis thaliana*», *Plant and Soil* N°268,2005,pp: 285–292
302. **Pitts, P.** «Study of mechanisms for plant growth promotion elicited by rhizobactérie in *Arabidopsis thaliana*», *Plant and Soil* N°268, 2005, pp: 285–292
303. **Eliasson L.Bertell G,Bolander E** «Inhibitory action of auxin on root elongation not mediated by enthylene». *Plant Physiol* N°91, **1989**, pp: 310-314.
304. **Kloepper, G. W. Scher, F.M. Laliberte, M. Tipping, B.** «Emergence promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. in "Iron, siderophores and plant diseases"». Edit. T. R – Swinbure. Plenum. Press, New York, **1986**, pp. 155 –164.
305. **Van Wees, S.C.M. de Swart, E.A.M. van Pelt, J.A. van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J.** «Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate- dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*». *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol 97, N°15, **2000**, pp:8711–8716.
306. **Ellissèche, D.** «Aspects physiologique de la croissance et du développement». **1996**, Pp: 71-121. In: *La pomme de terre (production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations)*., Rousselle ,et al.,(ed) pp: Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C. ed p 607.
307. **Cakmakci, R., Donmez, F., Aydin, A. and Sahin, F.** «Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions». *Soil Biol. Biochem.* Vol **38**, N°6, 2006, pp:1482-1487.

308. **Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M. and Sahin, F.** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Hortic.* Vol 111, N°1, **2006**, pp:38-43.
309. **Timmusk, S. and Wagner, E.G.H.** «The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: A possible connection between biotic and abiotic stress responses». *Mol. Plant Microbe Interact.* Vol 12, N°11,1999, pp:951-959.
310. **PERENNEC.P., CROSNIER.J.C.** «Action d'un traitement des plants de pommes de terre par l'acide gibberellique sur le rendement et la repartition dans la recolte des tubercules de divers calibres», **1971**, 15p.
311. **Van Kempen, P. Le Corre, P. et Bedin P.** «Phytotechnie», **1996**, pp: 363-414 In: La pomme de terre (production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations), Rousselle ,et al.,(ed) pp: Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C. ed p 607.
312. **Crowley E., Reid C.P.P, Szanislo P.J.** «Microbial siderophores as iron sources for plants» –In :Iron transport in microbes , Plants and animals (G. Winhelmann, D. Vander-Helm, J.B. Neilands eds.). V.CH. Weinheim, **1987**, pp375 -385.
313. **Demange. P, Wendenbaum. S, Bateman. A, Dell. A, Abdallah. M.A,** «Structure and physiochemical properties of pyoverdins and related compounds, Iron transport». In microbes, plants and animals, Weinheim, 1987, pp.167-187.
314. **Van Loon, C.D.** «La physiologie de la pomme de terre: Facteurs déterminant le développement et le rendement d'une culture de pomme de terre»; Stage NIVAA sur la production de pomme de terre, ITCMI, Staaouéli 1987, 10p.
315. **Berthelin J., Leyval C., Laheurte F., De Guidici P.** « Some consideration on the relation between phosphate solubilizing rhizobacteria and their effect on seedlings and plants growth related to phosphorus mobilization», **1991**, pp 359-364 in: plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects. C. Keel , B. Koller , and G. Défago , eds. Int. Org. Biol. Control Noxious Anim. plants/West. *palaerctic Reg. Sec. Bull.* 1418.
316. **Raj, J. Bagyaraj, D.J. Manjunath, A.** «Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and ³²P-uptake». *Soil Bio/ Biochem* N°13,**1981**,pp105-108
317. **Trivedi, P. et Pandey, A.** «Recovery of plant growth-promoting rhizobacteria from sodium alginate beads after 3 years following storage at 4 °C», *J Ind Microbiol Biotechnol*, N° 35, **2008**,pp:205–209.
318. **Whipps, J.M.** «Microbia linteractions and biocontrol in the rhizosphere». *J. Exp. Botany* ,N°52, **2001**,487-511.
319. **Jofre, E. Lagares, A. and Mori, G.** «Disruption of dTDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*». *FEMS Microbiol. Lett.* vol **231**, N°2,2004,pp:267-275.
320. **Berggren, I. van Vuurde, J.W.L. and Martensson, A.M.** «Factors influencing the effect of deleterious *Pseudomonas putida* rhizobacteria on initial infection of pea roots by *Rhizobium leguminosarum* pv. *viceae*». *Appl. Soil Ecol.* vol **17**, N°2, 2001, pp:97-106.
321. **Gupta, S.S.** «Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants». *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol **45**,N°3,2003,pp:219-227.
322. **Grover, J.P.** «Predation, competition, and nutrient recycling: a stoichiometric approach with multiple nutrients». *J. Theor. Biol.* Vol 229, N° 1, 2004, pp 31-43.
323. **Benizri, E. Boudoin,E. Guckert, A.** «Root colonisation by Plant Growth Promoting Rhizobacteria ». *Biocontrol science and technology*, vol 5 , N°11, **2001**, pp 557-574.

324. **Hase, S. Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C.** «Mechanisms of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance». *In: Recognition and Signal Transduction in Plant-Microbe Interactions* (T. Teraoka, ed), PSJ Plant-Microbe Interactions Symposium Report N°37, **2001**, pp. 15-24. Yamanashi, Japan.
325. **Curl, E.A.** «The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease». *Plant dis*, N°66, **1982**, pp624-630.
326. **Vancura, V.** «Fluorescent pseudomonads in the rhizosphere of plants and their relation to root exudates». *Folia microbiol.* N°25, **1980**, pp108-173.
327. **Schroth, M.N. Hildebrand, D.C. et Panopoulos, N.** «Phytopathogenic Pseudomonads and related plant-associated Pseudomonads», **1992**, pp 3104-3131. Balows .Eds., *In The Prokaryotes*, Springer Verlag.
328. **Zahir, Z. A., Arshad, A., and Frankenberger, W. T.** «Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture». *Adv. Agron.* N°81, **2004**, pp 97-168.
329. **Ryu C-M, Farag MA, Hu C-H, Reddy MS, Kloepper, J.W. Paré, P.W,** «Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis». *Plant Physiol* 134, **2004**,pp:1017–1026
330. **Jetiyana, K and Kloepp. J.W.** «Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases», *Biological Control*, N°24 , 2002, pp 285–291
331. **Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D., Damodaran, T., Soorianathasundaram, K. et al.** « Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of systemic resistance of banana plantlets against bunchy top virus». *Soil Biology and Biochemistry*, N°39, 2007, pp.1087–1098.
332. **Silva MSA., Romeiro RDS., Macaghan D., Holfold-Vieira BDA., Periera MCB., Monteer A.** «Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non specific protection and increase in enzyme activities». *Biological control* N°29, **2003**, pp 287-295.
333. **Adam, A.** «Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes». *PhD Thesis*. University of Liège. **2008**, p: 166.
334. **Ran, L.X., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M.** «No role for bacterially produced salicylic acid in rhizobacterial induction of systemic resistance in *Arabidopsis*». *Phytopathology*, N°95, 2005b, pp: 1349-1355.
335. **Thomma, B. P., Penninckx, I. A., Broekaert, W. F. and Cammue, B. P.** «The complexity of disease signaling in Arabidopsis». *Curr. Opin. Immunol.* Vol **13**, N°1, 2001, pp:63-68.
336. **Ton, J., De Vos, M., Robben, C., Buchala, A. J., Métraux, J.P., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J.** «Characterisation of *Arabidopsis* enhanced disease susceptibility mutants that are affected in systemically induced resistance». *Plant J.* vol 29, N°1, **2002a**, pp:11-21.
337. **Mercado-Blanco, J., Olsson, P.E., Van der Drift, K.M.G.M., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M.** «Analysis of a gene cluster involved in the production of salicylic acid and a new siderophore in *Pseudomonas fluorescens* WCS374». *In: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - Present Status and Future Prospects* (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), **1997**, pp:355-357. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.
338. **Van Loon, L.C.** «Helping plants to defend themselves: biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria». *In: Developments in Plant Genetics and Breeding*, vol 6; Phytosfere '99,

- Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer (G.E. de Vries and K. Metzlauff, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, **2000 a**, pp. 203-213.
339. **Van Loon, L.C.** «Systemic induced resistance. In: Mechanisms of Resistance to Plant Diseases » (A.J. Slusarenko, R.S.S. Fraser and L.C. Van Loon, eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **2000 b**, pp. 521-574.
340. **Höfte, M. and Bakker, P.A.H.M.** «Competition for iron and induced systemic resistance by siderophores of plant growth promoting rhizobacteria». In *Soil biology: Microbial siderophores*. Varma, A., and Chincholkar, S.B. (ed.) Heidelberg, Germany: Springer-Verlag Berlin, **2007**, pp. 121-133.
341. **Ongena, M.*, Jourdan, E.*, Adam, A., Schafer, M., Budzikiewicz, H. and Thonart, P** «Amino acids, iron, and growth rate as key factors influencing production of the *Pseudomonas putida* BTP1 benzylamine derivative involved in systemic resistance induction in different plants». *Microbial Ecology*, vol **55**, N°2, **2008**, pp: 280-292.
342. **Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., van der Sluis, I., Schippers, B. and Bakker, P.A.H.M.** «Dose-response relationships in biological control of *Fusarium wilt* of radish by *Pseudomonas* spp». *Phytopathology*. Vol **85**, N°10,1995, pp:1075-1081.
343. **Perenec, P.** «Plant de pomme de terre. Qu'est ce qui l'âge physiologique», *Revus: cultivar*, N°188,1985, pp: 67-69.
344. **Long, R.W.** «Population de plantes, nombre de tubercules, caliber du plants et taux de plantation. Cours de production des plants de pomme de terre», Ecole d'agriculture d'Edinbourg, 1986
345. **Samders, A.R.** «Potato dormancy and physiological age in relation to potato production in Northrn Ireland Experimental Husbandry,Greennount college of agriculture and Horticulture», 1988, pp 1-7.
346. **Madec, P. Perennec, P.** «Les relations entre l'induction de la tubérisatio et la croissance chez la plante de pomme de terre (*Solanum tub. L*)», *Annales de physiologie végétale*, Vol 4, N°1, **1962**. pp 5-84
347. **Grison, C.** La qualité physiologique du plant; Pomme de terre Française, N° 456, **1990**, pp 7-10.
348. **Hannapel, J.D.** «Signalling the Induction of Tuber Formation», **2007**, pp237 251.;In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801 p.
349. **Xu X, Vreugdenhil D, van Lammeren AAM** «Cell division and cell enlargement during potato tuber formation». *J Exp Bot*, N°**49**,1998,pp: 573-582
350. **Bucher. M et Kossmann, J.** «Molecular Physiology of the Mineral Nutrition of the Potato». **2007**, pp: 311- 329. In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier), 801 p
351. **White .P. J, WheatleyR.E, Hammond.J.P and Zhang.K.** «Minerals, Soils and Roots», **2007**, pp: **739 750**In: In: Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Vreugdenhil *et al.*, (ed Elsevier) 801 p .
352. **Van Der Zaag, D.E.** «Micropropagation for the future of seed potato production system in Europe», *Proceeding of 11th triennial conference of EAPR, Edinburgh, Ecosse.* **1990**, pp 28-44.
353. **Zhang, S. A., Moyne, A. L., Reddy, M. S. and Kloepper, J. W.** «The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco». *Biol. Control*. Vol 25, N°3, **2002**, pp:288-296.

354. **Bargabus, R.L. Zidack, N.K. Sherwood, J.W. and Jacobsen, B.J.** «Screening for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet», *Biol. Control*, Vol 30, N°2, 2004, pp:342-350.
355. **Durrant, W. and Dong, X.** «Systemic acquired resistance». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°42, 2004, pp:185-209.
356. **Chisholm, S.T., Coaker, G., Day, B. and Staskawicz, B.J.** «Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response». *Cell* N°124, 2006, pp: 803-814.
357. **Jones, J.D. and Dangl, J.L.** «The plant immune system». *Nature* N°444, 2006, pp: 323-329.
358. **Anonyme**, «Catalogue Néerlandais des variétés de pomme de terre», NIVAA LA HAYE CORO-DLO, photographie, Henny Ansink, 1994, 230p.
359. **www. [http://. Agrireseau.qc.ca](http://Agrireseau.qc.ca)** «TEST ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSEY)» 1p.