

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires
Département d'Agronomie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

**ETUDE DES EFFETS DE LA CO-INOCULATION DES
RHIZOBACTERIES (*PSEUDOMONAS* SPP.
FLUORESCENTS ET *RHIZOBIUM* SPP.) SUR LA
PHYTOSTIMULATION ET LA NODULATION
CHEZ LA FEVE.**

PAR
OUSERIR Samira

Devant le jury composé de :

S/A. Snoussi.	Professeur, USD. Blida	Président
H. Belkahla L.	Professeur, USD. Blida	Examinatrice
L. Khelifi.	Maître de conférences, INA. El-Harrach	Examineur
M. Benchabane.	Maître de conférences, USD. Blida	Promoteur

BLIDA, Décembre 2009

RESUME

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de la capacité de souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* spp. dans la promotion et la phytostimulation de la croissance des plantes. Cette étude a été déroulée en deux phases : la première dans des conditions expérimentales semi-contrôlée (sous serre en verre) et la deuxième en plein champ (conditions non contrôlées), dont le but est d'établir une étude comparative entre ces différentes conditions d'expérimentation.

Les résultats obtenus ont montré que les rhizobactéries appliquées améliorent la croissance, tant sur les plans développement et physiologie de la plante et aussi sur le plan de nodulation et de fixation de l'azote. Le dispositif expérimental adopté a permis de mettre en évidence des gains en croissance et en nodulation, de façon significative, dans les cas de coinoculations des deux types de rhizobactéries. Ces gains dépassent parfois 150 % en nombre de nodules pour la souche P64, additionnés à une importante acquisition en azote (plus de 70 %).

En comparant les gains enregistrés, en terme de croissance végétale, il apparaît clairement que la croissance est meilleure dans les conditions semi-contrôlées (sous serre) ; alors que la fixation de l'azote est plus élevée en conditions naturelles, en dépit d'une forte nodulation dans les premières conditions.

Les résultats obtenus permettent d'envisager une application directe sur champ, en raison de l'adaptation de ces rhizobactéries aux différentes conditions expérimentales adoptées. En effet, la colonisation rhizosphérique aussi élevée, atteignant des seuils de 10^9 CFU/g de sol, montre le potentiel rhizosphérique des souches sélectionnées.

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

ملخص

الغرض الأساسي من دراستنا التجريبية هو إبراز فعالية و قدرات بعض عزلات *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium sp* في التأثير ايجابيا على نمو النبات . أجريت الدراسات بالتوازي في ظروف تجريبية مختلفة: الأول في وسط مراقب جزئيا (بيت بلاستيكي زجاجي) و الثاني في الحقل) في ظروف تجريبية غير مراقبة (بهدف المقارنة بين الوضعين المختلفين .

أكدت النتائج المتحصل عليها أن العزلات البكتيرية أثرت ايجابيا في نمو النبات و تشكيل العقد البكتيرية المعروفة في تثبيت النيتروجين . سجلت الدراسة ان المخطط التجريبي المستعمل أدى إلى زيادات معتبرة في نمو النبات و في تشكيل العقد البكتيرية خاصة في اختبار التفاعل بين عزلات *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium spp.* حيث فاقت نسبة الزيادة في عدد العقد البكتيرية 150% مع ارتفاع مستوى تثبيت النيتروجين لدى النبات بنسبة 70% .

بالنسبة للمقارنة في نمو النبات أوضححت الدراسة أن الزيادات المعتبرة في النمو و في تشكيل العقد البكتيرية كانت في الوسط المراقب جزئيا مع مستوى اكبر لتثبيت النيتروجين لنبات الفول في الحقل .

النتائج المتحصل عليها تسمح بتطبيق مباشر لهذه البكتريا النافعة في الحقل بالنظر لتكيف العزلات المستعملة مع مختلف الظروف التجريبية المعتمدة إضافة لإظهار مستويات في تعبير CFU/g من التربة .

ABSTRACT

The objective of our study is the setting in evidence of the capacity of *Pseudomonas fluorescens* strains in the phytostimulation of plant growth and the activation of the nodulation by *Rhizobium* spp. Two experimentations have been done in parallel: the first in semi - controlled applied conditions (glass greenhouse) and the second in full field (natural conditions) to establish a comparative survey between these different applied conditions.

The results obtained showed that the *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium* sp strains applied improve the growth, so much on development and physiology of plant, and also within nodulation and nitrogen fixation. The experimental device show significant gains in growth and nodulation, particularly, in with interaction of the two types of rhizobacteria (coinoculation), exceed 150 % in a number of nodules associated with a significant nitrogen acquisition by plants (more than 70 %).

Comparison of beneficial effects on experiments strains showed clearly that highest levels were observed in semi-controlled conditions (greenhouse experiment), whereas the nitrogen fixation is higher in natural conditions, in spite of a strong nodulation under the first conditions (natural experiment).

The results obtained make it possible to consider a direct application on field, because of the adaptation of these rhizobacteria to the various experimental conditions. Indeed, a high level of rhizosphere colonization, reaching 10^9 CFU/g of soil, shows the rhizospheric potential of the selected strains.

Key words: PGPR, *Pseudomonas* spp. fluorescent, *Rhizobium*, nodulation, phytostimulation.

REMERCIEMENTS

Je voudrais adresser ma plus profonde reconnaissance et mon entière gratitude à mon promoteur Monsieur le Dr. Benchabane Messaoud, maître de conférence à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail, je le remercie pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la rédaction de ce travail, je le remercie de m'avoir enseigné la pratique des sciences et la rigueur de la démarche expérimentale, de m'avoir transmise la capacité d'enthousiasme et de la force, je le remercie de m'avoir offert cette grande liberté de travail et de m'avoir accordée sa confiance. J'ai énormément appris de vous Monsieur et je garderai longtemps le souvenir de votre enseignement et de votre humanité.

J'exprime mes vifs remerciements et mon profond respect aux honorables membres du jury, de m'avoir accordé leurs temps et la patience pour juger et aider à l'amélioration de ce travail :

- Pr. S/A. Snoussi
- Pr. H. Belkahla
- Dr. L. Khelifi

Ma gratitude ira également au personnel du laboratoire de Microbiologie, en particulier à Samia ingénieur du laboratoire pour sa disponibilité et ses encouragements durant toute l'expérimentation, ainsi qu'à, Djamila, Amina, Rabab et Sofia et toutes mes amies pour leurs aides et leur gentillesse.

Un grand merci aux personnes les plus chères au monde, à mes parents qui m'ont soutenu jusqu'à la dernière minute, et qui m'ont donné la force et le courage de continuer sur ce chemin, à ma belle-famille pour tout le soutien qu'elle m'a accordé, à mes frères et sœurs, en particulier Ahmed, pour ses mots d'encouragement qu'il m'a accordé malgré la distance qui nous éloigne.

Un merci tout spécial à mon mari, Hamza, qui m'a accompagné avec tant d'amour et de tendresse, pour son soutien, sa patience, ses aides, et ses encouragements qui m'ont apporté tout au long de ce travail.

Je ne saurais oublier de remercier tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail, et toute personne qui m'a éclairé le chemin.

LISTES DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES

Figure 1.1	Diagramme simplifié d'une racine fine et des rhizodépôts en fonction de la structure racinaire	15
Figure 1.2	Infection intracellulaire chez les Légumineuses	29
Figure 1.3	Structures chimiques des différents groupes de composés flavonoïdes	30
Figure 1.4	structure chimique d'un facteur Nod générique avec quelques substitutions observées chez les différentes espèces de rhizobium	31
Figure 1.5	Invasion des poils racinaires de légumineuse par <i>Rhizobium</i>	35
Figure 1.6	architecture d'un nodule indéterminé et un nodule déterminé	37
Figure 2.7	structure générale de l'acyl-homosérine lactone	39
Figure 2.8	Semences de fève enrobées avec la patte de tourbe	44
Figure 2.9	Dispositif expérimental de l'essai sous serre	45
Figure 2.10	Dispositif expérimental de l'essai en plein champs	48
Figure 3.11	Evolution des hauteurs des tiges en fonction du temps	51
Figure 3.12	Racines des plants bactérisés par l'interaction P64-R2 et des plants non bactérisés	53
Figure 3.13	Nodules sur les racines des plants de fève bactérisés par les interactions P64-R1 et P64-R2	55
Figure 3.14	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et la souche de <i>Rhizobium</i> sp. R1	57
Figure 3.15	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et la souche de <i>Rhizobium</i> sp. R2	57
Figure 3.16	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2)	58
Figure 3.17	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2)	59
Figure 3.18	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R2 et R2), en première période (P1)	67
Figure 3.19	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R2 et R2), en première période (P1)	68
Figure 3.20	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2), en première période (P1)	69
Figure 3.21	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2), en deuxième période (P2)	69
Figure 3.22	Fragments des racines de fève bactérisés par <i>Pseudomonas fluorescens</i> après 72 heures d'incubation	70
Figure 3.23	Boîtes présentant des colonies bactériennes sur le milieu King B après 24 heures d'incubation	70
Figure 3.24	Evolution des populations bactériennes en fonction du temps dans la rhizosphère de la fève	71
Figure 3.25	Nodules sur les racines des plants de fève bactérisés par l'interaction P64-R1	78
Figure 3.26	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R2 et R2)	80
Figure 3.27	Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas</i>	80

Figure 3.28	<i>fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2) Gains obtenus des interactions entre les souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (S20, CHAO et P64) et les souches de <i>Rhizobium</i> sp. (R1 et R2)	81
-------------	--	----

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Représentation schématique des facteurs biotiques et abiotiques liés à la plante et au sol, qui influencent la rhizodéposition	16
Tableau 1.2	Stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après leur inoculation par des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. <i>fluorescens</i>	20
Tableau 1.3	Principales rhizobactéries symbiotiques fixatrices d'azote	27
Tableau 1.4	Caractéristiques de quelques molécules d'acyl homosérine lactone appartenant au genre <i>Rhizobium</i>	40
Tableau 2.5	Origine des souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	42
Tableau 3.6	Hauteur des tiges (cm), poids frais et poids sec (g) de la partie aérienne	52
Tableau 3.7	Longueur des racines en centimètre (cm), poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie racinaire	54
Tableau 3.8	Nombre de nodules	55
Tableau 3.9	Teneur en matière azotée totale (MAT%)	55
Tableau 3.10	Hauteur des tiges et longueur des racines en centimètre (cm)	60
Tableau 3.11	Poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie aérienne	62
Tableau 3.12	Poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie racinaire	63
Tableau 3.13	Teneur en matière azotée totale (MAT%)	65
Tableau 3.14	Taux d'inhibition ou de gains (%) des différents paramètres étudiés en P1 (après 30 jours) et en P2 (après 45 jours)	66
Tableau 3.15	La concentration finale des bactéries (CFU/g de sol) dans la rhizosphère de la fève	71
Tableau 3.16	Poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie aérienne	76
Tableau 3.17	Longueur des racines en centimètre (cm), poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie racinaire	77
Tableau 3.18	Nombre de nodules	78
Tableau 3.19	Teneur en matière azotée totale (MAT %)	79
Tableau 3.20	Taux d'inhibition ou de gains (%) en paramètres de croissance et en nodulation des plants sous serre et en plein champs	87

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	9
1. GENERALITES SUR LES RHIZOBACTERIES.....	11
1.1 Activité et diversité microbienne rhizosphériques.....	11
1.2 Exsudation racinaire rhizosphérique.....	13
1.3 Rhizobactéries bénéfiques non symbiotiques.....	17
1.4 Symbiose fixatrice d'azote légumineuse-Rhizobium.....	24
1.5 Processus biologique et génétique de la nodulation.....	28
1.6 Communication et interaction bactériennes.....	38
2. MATERIEL ET METHODES.....	41
2.1 Matériel biologique	41
2.2 Expérimentation sous serre.....	43
2.3 Expérimentation en plein champ.....	47
2.4 Evaluation de la phytostimulation.....	49
3. RESULTATS ET DISCUSSION.....	51
3.1 Essai de phytostimulation sous serre.....	51
3.2 Essai de phytostimulation en plein champ.....	76
3.3 Comparaison de la phytostimulation sous serre et en plein champ....	85
3.4 Discussion générale.....	88
OCCLUSION.....	93
PPENDICE	
EFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES.....	102

INTRODUCTION

Les plantes dans le sol établissent des relations assez étroites avec les communautés microbiennes telluriques, notamment les bactéries. Les densités de populations bactériennes dans la rhizosphère sont plus élevées que dans le sol environnant, et jusqu'à 15% de la surface racinaire peut être couvert par des microcolonies d'une variété de souches bactériennes [1, 2, 3]. Ces rhizobactéries utilisent les éléments nutritifs libérés de la plante hôte pour leur croissance, et sécrètent à leur tour des métabolites dans la rhizosphère [4, 5, 6, 7, 8]. Parmi ces rhizobactéries colonisatrices, certaines ayant un impact positif sur la plante, par le biais d'un effet protecteur ou via une stimulation de sa croissance avec un certain degré de spécificité [9], ces bactéries ont communément été regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) [10].

Les effets bénéfiques par lesquels les PGPR affectent favorablement la croissance et le rendement de nombreuses cultures agricoles économiquement importantes, résultent des mécanismes importants incluant la fixation de l'azote atmosphérique qui est transféré à la plante, la production de sidérophores qui chélatent le fer et le mettent à la disponibilité des racines, la solubilisation des éléments minéraux et la synthèse de phytohormones [11]. Ces PGPR peuvent également favoriser la croissance des plantes par le biocontrôle des agents phytopathogènes telluriques, par la compétition trophique et l'activité d'antibiose. Ainsi, ces rhizobactéries peuvent induire une résistance systémique qui intervient dans la mise en alerte de la plante hôte contre les agents phytopathogènes [12, 13, 14].

Les plantes prélèvent l'azote minéralisé dans le sol par absorption racinaire, mais certaines espèces végétales établissent une symbiose avec certaines bactéries qui ont la faculté de fixer l'azote atmosphérique (80% de l'atmosphère terrestre). Les légumineuses sont capables d'établir la symbiose la plus importante d'un point de vue écologique et agronomique, en s'associant à des bactéries du sol communément appelées Rhizobiums. Grâce à cette symbiose, la plante hôte

accède à une forme d'azote qu'elle ne pourrait pas autrement utiliser. Ainsi, environ 44 à 66 millions de tonnes d'azote sont fixées annuellement dans le monde, fournissant presque la moitié de tout l'azote utilisé dans l'agriculture [1].

Les PGPR ont la capacité de coloniser les racines de plusieurs cultures, telles que les légumineuses, où elles peuvent être en interaction avec les Rhizobiums tout en favorisant la nodulation et la fixation de l'azote [15]. En effet, l'interaction des souches de *Rhizobium* avec des *Pseudomonas* peut améliorer les paramètres de croissance des plantes, la nodulation, l'activité de nitrogénase et l'assimilation de l'azote et du phosphore [16, 17, 18, 19, 20].

Dans la symbiose *rhizobium* - légumineuse, le processus de la fixation d'azote est fortement lié à l'état physiologique de la plante hôte. Par conséquent, plusieurs conditions environnementales peuvent être des facteurs limitant de la croissance de la plante hôte, de la nodulation et de l'activité de la fixation d'azote. Ces facteurs incluent la salinité, le pH de sol défavorable, le déficit en éléments nutritifs, la toxicité minérale, la température, l'humidité insuffisante ou excessive de sol, la photosynthèse insatisfaisante, et les maladies des plantes [2, 3, 4, 5].

De nombreux travaux [10, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33] ont mis en évidence le potentiel phytostimulateur de plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. *fluorescens* dans des conditions expérimentales contrôlées. Malgré l'abondance de ces travaux de recherches, les exemples d'application pratique, à grande échelle, de ces rhizobactéries utiles restent limités. En effet, la mise en œuvre de ces microorganismes nécessite des études finalisées dans des conditions naturelles de plein champ.

Dans le présent travail, nous étudions les effets de quelques souches de *Pseudomonas flourescens* en interaction avec des souches de *Rhizobium* sp. sur la stimulation de la croissance et de la nodulation chez la fève. Dans le but de montrer l'effet stimulateur de ces souches et de leurs interactions dans différentes conditions de culture, nos essais ont été conduits en conditions expérimentales contrôlées sous serre, et en conditions naturelles de plein champ.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES RHIZOBACTERIES

1.1 Activité et diversité microbienne rhizosphériques

Le développement des plantes dans le sol est toujours associé aux caractères physiologiques et biologiques du sol. Un certain équilibre entre ces différents composants est exigé pour que la plante arrive à puiser l'essentiel de sa nutrition dans un tel écosystème. L'interaction résultant peut être en faveur ou à la défaveur de la plante, selon la quantité et la nature des microorganismes qui s'y adaptent. Le cortège microbien résidant pourrait procurer certains effets bénéfiques avec des associations induisant des phytostimulations ou plus étroitement, tel que la symbiose, dans le cas où les conditions sont réunies, particulièrement l'affinité et la reconnaissance perceptible entre les microorganismes et la plante.

La complexité du système de sol est déterminée par les interactions nombreuses et diverses d'ordre physique, chimique et biologique influencées par les conditions environnementales [34]. Plusieurs interactions microbiennes, qui sont réglées par molécule/signale spécifique [35] sont responsables des principaux processus environnementaux, tel que le cycle biogéochimique des éléments nutritifs et de la matière organique, l'entretien de la plante et de la qualité du sol [36].

La communauté microbienne qui s'adapte continuellement à son environnement peut jouer le rôle d'indicateur de changement de la qualité des sols. Les changements au sein de la population se font plus rapidement que pour d'autres paramètres du sol [37, 38]. En effet les microorganismes ont la particularité de donner une mesure intégrée de la santé du sol qui ne peut être obtenue par les mesures physico-chimiques ou des organismes multicellulaires. Ils sont également susceptibles de répondre plus rapidement aux différents changements en raison de leur contact plus intime avec les particules du sol, leur rapport surface/volume élevé confère aux microorganismes une plus grande surface d'échange avec le sol [39].

Les microorganismes telluriques (algues, protozoaires, champignons, bactéries) sont impliquées dans de nombreux processus biogéochimiques [40, 41, 42], en influençant la composition de ce biotope par la contribution à la nutrition des plantes [43, 44], leur état sanitaire [45, 46, 47], la structure du sol [48, 49], ainsi que sa fertilité [50, 51].

La dynamique de la matière organique dans le sol est un déterminant majeur du fonctionnement de l'écosystème, dont l'agent principal est la microflore hétérotrophe dont les activités minéralisatrices dépendent de la quantité et de la qualité de la matière organique présente dans le sol, de la biomasse microbienne et de la concentration du sol en azote et en carbone [52]. De même, cette biomasse microbienne sert de réservoir pour la disponibilité en azote, en phosphore et en soufre pour la plante [53, 54, 55].

Les microorganismes du sol interagissent avec les racines des plantes et les constituants du sol à l'interface de racine-sol [56, 57, 58, 59, 60, 61]. La plupart des interactions racines-microorganismes résultent du développement d'une dynamique d'environnement connu sous le nom de « rhizosphère », là où les communautés microbiennes sont en interaction. La variabilité des propriétés physiques, chimiques et biologiques des associations sol-racines, est responsable des changements de la diversité microbienne et de l'augmentation du nombre et de l'activité des microorganismes dans la rhizosphère [59].

Les microorganismes associés aux racines ont une influence importante sur la nutrition, la croissance et l'état sanitaire des plantes. En effet, ces microorganismes peuvent augmenter l'assimilation des nutriments et la translocation dans les plantes jeunes, mais ils peuvent aussi entrer en compétition pour les nutriments avec les plantes [60, 62]. La structure et la fonction des communautés microbiennes de la rhizosphère sont principalement déterminées par le comportement des espèces végétales [63, 64, 65], le génotype de la plante [67], et les caractéristiques du sol (pH, aération, caractéristiques physicochimiques) [67, 68].

Dans la rhizosphère les bactéries sont les microorganismes les plus abondants [69] ; ainsi, 1g de sol peut contenir jusqu'à 10^{10} microorganismes appartenant à environ un millier d'espèces différentes [70]. Parmi ces bactéries, les rhizobiums qui ont la capacité de former une symbiose avec certaines plantes par la formation de nodosités au niveau racinaire, et qui peuvent fixer et réduire l'azote

atmosphérique en ammonium, directement assimilable par les plantes hôtes [71].

D'autres organismes du sol, les champignons mycorhiziens qui peuvent améliorer la performance des jeunes plantes, en stimulant le transfert de l'eau [72] et des éléments nutritifs vers les plantes, en particulier l'azote et le phosphore [73], ou en améliorant l'agrégation des particules dans les sols érodés [74]. La formation des mycorhizes peut affecter la population microbienne, directement ou indirectement, par des changements des modèles d'exsudation racinaire, ou par les exsudats fongiques [75].

Certaines activités microbiennes peuvent être exploitées en biotechnologie, et forme une base à une stratégie soutenable pour la stabilité et la productivité des agrosystèmes et des écosystèmes naturels [76].

1.2 Exsudation racinaire rhizosphérique

La survie des plantes dans un environnement particulier dépend de leur capacité à percevoir les changements de cet environnement qui exige une réponse adaptative [77, 78]. Les racines des végétaux s'activent par l'absorption de l'eau et l'assimilation des éléments minéraux en engendrant un gradient de potentiel hydrique, et des changements de l'acidité ou l'alcalinité de sol, affectant ainsi directement la microflore et son voisinage [79]. Cette zone du sol immédiatement en contact avec le système racinaire et sous son influence est désignée sous le nom de « rhizosphère » [80, 81, 82], elle correspond aux premiers millimètres de sol entourant la racine [79].

L'extension spatiale de la rhizosphère est variable, elle dépend de la structuration, de la taille des particules, du contenu en eau et de l'activité tampon du sol [79]. Selon Gobat et *al.* [83], la rhizosphère se compose de trois régions différentes : l'endorhizosphère qui compose les tissus de la racine, le rhizoplan qui est la surface occupée par le système racinaire, et l'ectorhizosphère qui représente le sol adjacent.

La présence de la racine et les processus racinaires qui se déroulent dans la rhizosphère en font un milieu complexe et hétérogène très singulier en terme de caractéristiques physiques (porosité – agrégation), physicochimiques (pH, pO₂, minéraux, potentiel hydrique) ou biologiques (densité et stimulation de l'activité microbienne), en comparaison du sol non rhizosphérique [84 ; 85].

Indépendamment de leurs fonctions fondamentales comme organe de

support mécanique et d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs pour la plante, les racines déchargent un éventail de composés organiques et inorganiques dans leur environnement [83, 86], ces composés sont présents à fortes concentrations dans les tissus racinaires [87].

Une part significative du CO_2 fixé par la photosynthèse dans les organes aériens des plantes est relâchée dans le sol sous forme de rhizodépôts libérés par les racines [88] et sont classés en différents groupes suivant leur mode d'excrétion [88, 89], On distingue généralement (Figure 1.1) :

(i) Les exsudats, composés solubles dans l'eau, de faible poids moléculaire (comme les sucres/photoassimilats, les acides aminés, les acides organiques, les hormones, les vitamines...) qui sortent de la racine sans faire intervenir le métabolisme énergétique en suivant le gradient de concentration entre le cytosol de la racine et la solution du sol représentant la part la plus importante dans la rhizodépôt [87, 83, 90, 88].

(ii) Les substances secrétés, composés de poids moléculaire le plus souvent élevé (comme le mucilage, les polymères de carbohydrates et les enzymes...) qui dépendent des processus métaboliques pour leur libération dans le sol [91, 92, 85].

(iii) Les lysats, libérés quand les cellules s'autolysent ; ils incluent les cellules désquamées de la coiffe et les membranes cellulaires [93].

(iiii) Les composés volatiles, comme l'éthylène et le CO_2 .

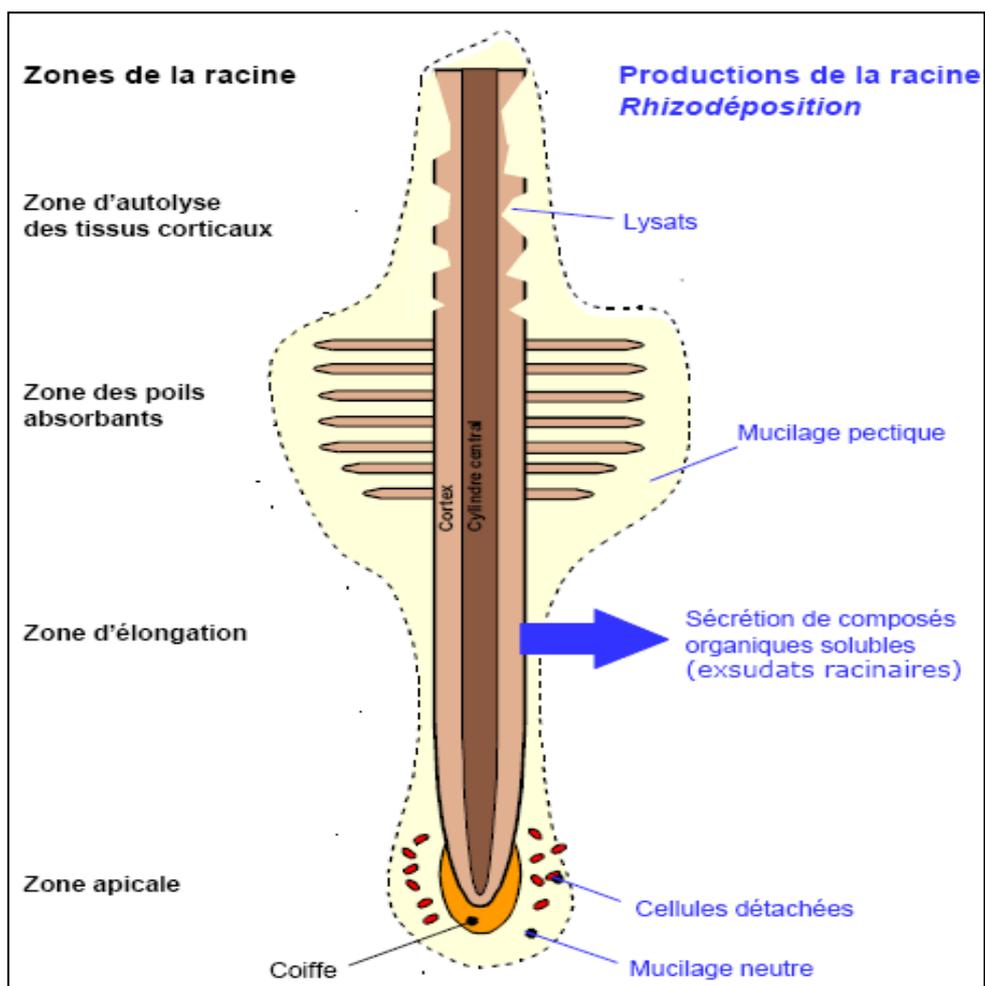
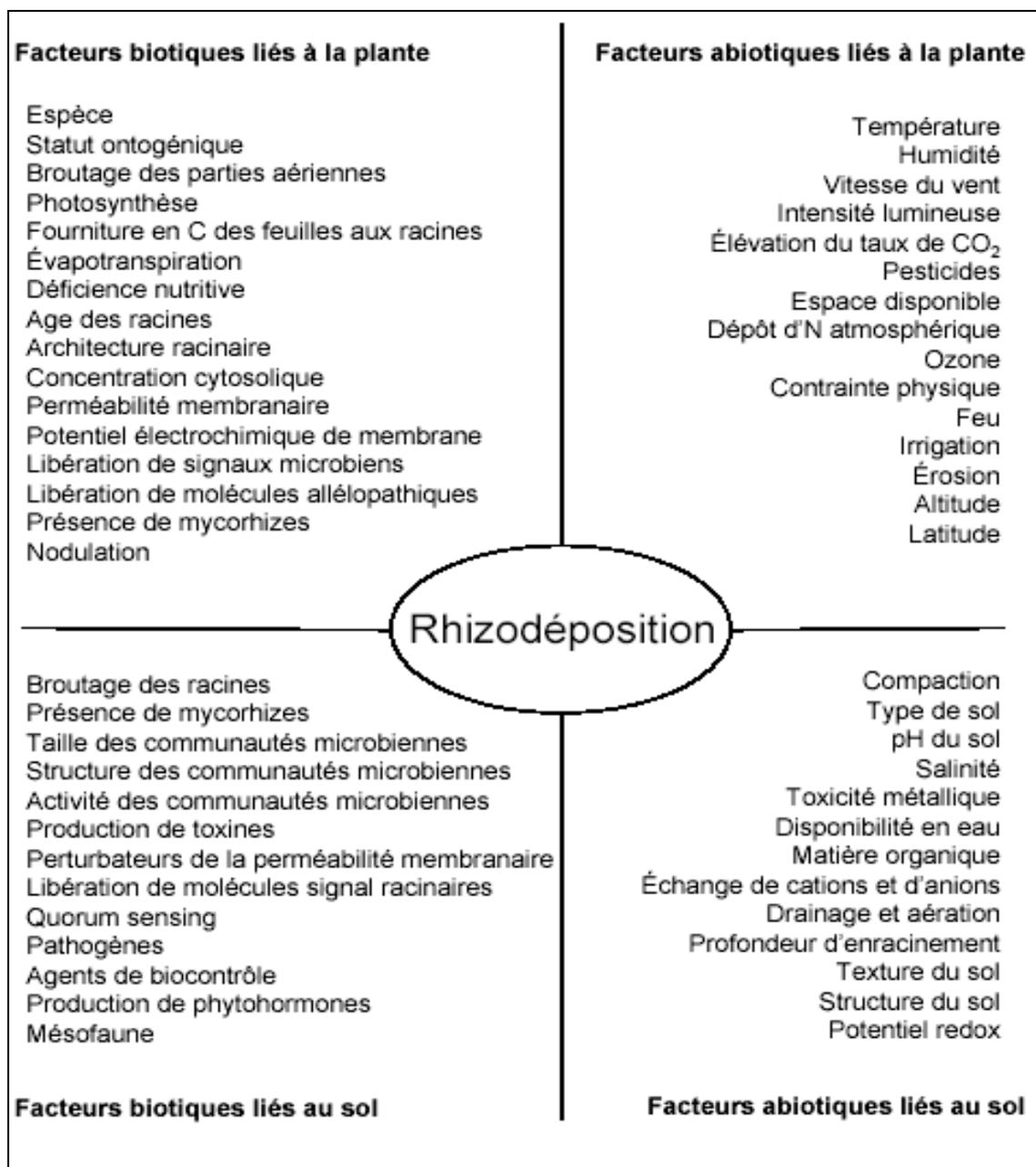


Figure 1.1: Diagramme simplifié d'une racine fine et des rhizodépôts en fonction de la structure racinaire [94].

La rhizodéposition peut être influencée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques, liés particulièrement à la plante et au sol (Tableau 1.1).

Uren [96] a estimé que 50% du carbone net fixé par les plantes est alloué aux racines, 15% du carbone fixé est exporté vers le sol par respiration racinaire (sous forme de CO_2), 10% est libéré comme débris racinaires comprenant des cellules épidermiques, tandis que les diffusats et les sécrétions représentent moins de 1% (carbone rhizodéposé).

Tableau 1.1 : Représentation schématique des facteurs biotiques et abiotiques liés à la plante et au sol, qui influencent la rhizodéposition [95].



L'exsudation racinaire intense, limitée aux zones distinctes de la racine, peut augmenter l'efficacité de mobilisation due à l'accumulation localisée des composés d'exsudats dans la rhizosphère ; cet effet peut être encore augmenté par une capacité élevée pour l'assimilation nutritive dans des zones apicales de racine [86]. A travers l'exsudation d'une très large variété de composés, les racines peuvent

inhiber, par l'émission de substances toxiques ou phytotoxines, le développement d'autres espèces concurrentes dans leur voisinage [7], ils jouent un rôle essentiel dans l'envahissement des plantes cultivées par les plantes parasites [82].

Par l'exsudation racinaire, les plantes ont également la capacité à stimuler et réguler l'absorption de certains éléments minéraux comme le fer ou le phosphore [91]. En effet, certains acides aminés jouent un rôle primordial dans la régulation de la nutrition des plantes, en tant que molécules signal [97].

La survie des cellules racinaires subissant les attaques continues de micro-organismes pathogènes dépend de la « bataille chimique souterraine » soutenue par l'exsudation racinaire de phytoalexines, de protéines de défense, mais aussi de nombreux composés chimiques non encore identifiés [98]. Un large panel de composés a été proposé pour jouer le rôle des signaux favorisant l'établissement des symbioses mycorhiziennes. Les composés exsudés par les plantes hôtes stimulent la germination et surtout la croissance des hyphes fongiques [99, 100, 101]. Il a été montré que les exsudats des plantes colonisées par des champignons mycorhiziens à arbuscules peuvent modifier la composition microbienne de la rhizosphère [102 ; 103 ; 104], en augmentant par exemple l'attraction des bactéries dites PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) telles que *Azotobacter chroococcum* et *Pseudomonas fluorescens* [105].

Parmi ces PGPR nous notons particulièrement des associations bénéfiques non symbiotiques résultant d'une forte colonisation rhizosphérique par des *Pseudomonas* spp. fluorescents, et des associations symbiotiques par les rhizobiums. Dans ces interactions le génotype végétal est déterminant dans la réussite de ces associations microbiennes avec les plantes hôtes.

1.3 Rhizobactéries bénéfiques non symbiotiques

Dans la rhizosphère, les bactéries sont considérées comme les micro-organismes les plus abondants. Les rhizobactéries sont des bactéries compétentes de la rhizosphère qui colonisent intensivement les racines des plantes, elles peuvent se multiplier et coloniser toutes les niches écologiques racinaires à toutes les étapes de croissance de la plante, en dépit de la présence

d'une flore microbienne concurrente [106].

La présence des rhizobactéries dans la rhizosphère peut avoir un effet neutre, nuisible ou bénéfique sur la croissance des plantes. Les rhizobactéries neutres n'ont probablement aucun effet sur la croissance, tandis que les rhizobactéries délétères sont présumés pour compromettre la croissance et le développement des plantes par la production des métabolites à effet phytotoxique, mais également par la concurrence pour des nutriments ou l'inhibition des activités microbiennes bénéfiques [107; 108].

Il est bien connu qu'un nombre considérable d'espèces bactériennes rhizosphériques, puissent exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes. Par conséquent, leur utilisation comme biofertilisants pour l'amélioration de l'agriculture a été l'objet de nombreuses études et recherches depuis plusieurs années [109, 110, 14, 111, 58]. Ce groupe de bactéries dénommé PGPR pour *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* [10], dès la fin des années 1970, renferme plusieurs genres bactériens comme *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* et *Flavobacterium*.

1.3.1 Les *Pseudomonas* spp. fluorescents

Les *Pseudomonas* forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau. Ces bactéries Gram négatives, non sporulantes, sont aérobies obligatoires, à l'exception de certaines pouvant utiliser le NO_3 comme accepteur d'électrons. Leur mobilité est assurée par plusieurs flagelles polaires, et elles ont un métabolisme mésophile et chimioorganothorphe, la plupart étant saprophytes [112].

Les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable [113]. Cette grande rhizocompétence vient sans doute de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres rhizobactéries et de leur capacité à métaboliser efficacement plusieurs composés des exsudats racinaires

[114]. De plus, ces bactéries sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques [115, 116].

Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein des *P. spp.* fluorescents, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différents biovars [112].

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes. Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites à effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes pathogènes ou délétères [117].

1.3.1.1 Biostimulation de la croissance végétale

Outre les activités de biocontrôle, plusieurs études ont montré la capacité des *Pseudomonas spp.* fluorescents dans la phytostimulation de diverses espèces végétales (Tableau 1.2).

Certaines souches de PGPR de genre *Pseudomonas* ont été décrites pour leur effet direct positif sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement de cultures herbacées, légumières et ornementales [140, 141, 142, 143]. Ces souches peuvent favoriser la croissance des plantes hôtes par divers mécanismes, tels que la fixation d'azote (N_2) et la solubilisation d'oligoéléments tels que le phosphate (P) [143], l'inhibition de la synthèse d'éthylène par la plante, la synthèse des phytohormones ou de vitamines [141], et en diminuant la toxicité des métaux lourds [144, 145].

Tableau 1.2 : Stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après leur inoculation par des souches de *Pseudomonas* spp. *fluorescens*. Adapté de Lemanceau [14].

Plante hôte	Conditions expérimentales		Augmentation (% du témoin)		Références
	Contrôlées	Production	Croissance	Rendement	
<i>Beta vulgaris</i>	x	x	20 à 69	21 à 77	[118] [118]
<i>Brassica campestris</i>	x	x	22 à 65	7 à 19	[119] [120]
<i>Citrus</i> sp.	x		→ 116		[121]
<i>Cucumis sativus</i>	x		36 à 58		[122]
Espèces florales	x		18 à 41		[123]
<i>Lactuca sativa</i>	x		38 à 86		[122]
	x		20 à 73		[124]
<i>Lycopersicum seculentum</i>	x		25 à 93		[122]
	x		26 à 30		[124]
<i>Malus</i> sp. plantules porte-greffes fruits	x	x	23 à 40		[125]
	x	x	2 à 121	10	[125] [126]
		x		3 à 160	[127]
<i>Phaseolus vulgaris</i>	x		4 à 28		[128]
<i>Raphanus sativus</i>	x	x		→ 567 → 200	[10] [10]
	x	x	83 à 320	10 à 11	[129] [130]
	x	x	7 à 367	2 à 24	[131] [131]
<i>Solanum tuberosum</i>	x	x	→ 550	10 à 15	[132] [133]
	x	x	47 à 500	1 à 17	[134] [134]
		x		17 à 37	[135]
<i>Triticum</i> sp.		x		2 à 26	[136]
		x		16.2 à 39	[137]
<i>Fragaria</i> sp.		x	21	16	[138]
<i>Hordeum vulgaris</i>	x		44	19	[139]

x Indique le type de conditions expérimentales utilisé.

→ Indique la valeur maximale de l'augmentation.

Un des mécanismes directs par lesquels les PGPR favorisent la croissance de plantes est la production de régulateurs de croissance ou de phytohormones [58]. Frankenberger et Arshad [146] ont démontré le rôle des auxines, des cytokinines, des gibbérellines, de l'éthylène et de l'acide abscisic (ABA) qui, une

fois appliqués aux plantes, améliorent le rendement et favorisent la croissance.

Certaines souches de ce groupe de rhizobactéries ont été examinées pour leur production de régulateurs de croissance, et établir un rapport entre l'induction de l'élongation racinaire et la production de concentrations élevées de cytokinines. Garcia de Salamone et Nelson [147] ont caractérisé la production de trois cytokinines par des *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces auteurs ont prouvé que la production d'une cytokinine par ces bactéries a été liée à la croissance des calls chez le tabac.

Des souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de diverses cultures ont la capacité de produire des auxines en tant que métabolites secondaires [148, 149], qui stimulent la croissance et le développement des plantes [150], en favorisant la croissance racinaire et le nombre des racines secondaires et des poils absorbants [151].

Dubeikoysky *et al.* [152] ont constaté, après l'inoculation d'espèces végétales différentes avec des *Pseudomonas* spp. fluorescents, que ces bactéries stimulent le développement racinaire avec une concentration optimale d'acide indolacétique (AIA) chez certaines plantes, tandis que le développement racinaire a été inhibé par des concentrations d'AIA inhibitrices chez d'autres plantes.

L'éthylène est une hormone qui est impliquée dans la régulation de plusieurs réponses physiologiques [153], elle est considérée comme une "hormone de stress" car sa synthèse au niveau des tissus végétaux augmente avec un certain nombre de stress biotiques et abiotiques. La production d'éthylène a été souvent associée à la croissance réduite et à la sénescence prématurée, et peut donc être un indicateur de susceptibilité des plantes aux stress telles que la sécheresse et les fortes températures [154, 155]. Un des principaux mécanismes utilisés par les *Pseudomonas* pour stimuler la croissance des plantes est l'abaissement des concentrations d'éthylène par hydrolyse de l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylic (ACC), le précurseur immédiat de l'éthylène dans les plantes. L'enzyme catalysant cette réaction (ACC deaminase) hydrolyse l'ACC en α -ketobutyrate et en

ammoniac [156]. Il a été observé que les plantes inoculées avec des souches présentant l'ACC deaminase sont nettement plus résistantes aux effets délétères de l'éthylène du stress [157], engendré par la présence des métaux lourds [144, 158], la présence d'agents phytopathogènes [159], la sécheresse, et les teneurs élevées en sel [160, 161, 162]. Ainsi, certains *Pseudomonas* produisent une ACC désaminase qui hydrolyse l'ACC exsudé par les racines et réduit la formation d'éthylène. Cela a pour conséquence de favoriser le développement racinaire, augmenter la nodulation et par conséquent l'efficacité de la fixation d'azote [163, 164]. Les produits de la réaction, ammonium et α -cétoglutarate, peuvent de surcroît être utilisés par les bactéries mais aussi par les plantes [165].

Certaines souches appartenant au groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents, semblent améliorer la germination des graines lorsque les conditions d'environnement sont défavorables. Ainsi, Kloepper et al [166] ont montré que le taux de germination de graines de colza, semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation par certaines souches bactériennes. De même Höfte et al. [167] ont enregistré une augmentation significative du taux de germination de semences de maïs soumises au froid après inoculation de deux souches de *Pseudomonas* Fluorescents.

La synthèse des sidérophores par ces rhizobactéries peut directement stimuler la croissance en augmentant la disponibilité du fer dans le sol entourant les racines [134]. En effet, ces molécules chélatrices peuvent solubiliser et séquestrer le fer et le fournir aux plantes [58].

1.3.1.2 Antibiose et induction de la résistance systémique

L'antibiose est le mécanisme le plus connu et le plus important utilisé par les *Pseudomonas* pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte [168, 113, 169]. Elle consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques [170].

L'antibiose exercée par certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents a d'abord été mise en évidence *in vitro* [14]. Ainsi plusieurs antibiotiques produits par ces bactéries ont été isolés : le 2,4-Diacéthylophloroglucinol (DAPG) [171, 172], Les phénazines (PHZ) [173, 174, 175], la Pyrrolnitrine (PRN) [176, 177], la Pyolutéorine (PLT) [178], et le Cyanure d'hydrogène (HCN) [179].

Ces *Pseudomonas* montrent non seulement un large spectre de diversité dans le type mais également dans le nombre d'antibiotiques produits [180, 181].

L'isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents à partir de plusieurs régions géographiques a fourni plusieurs groupes différents de producteurs de DAPG, qui peuvent supprimer une large gamme d'agents phytopathogènes, incluant bactéries, champignons et nématodes [182].

Plusieurs facteurs abiotiques (l'oxygène, la température, des sources spécifiques de carbone et d'azote, et des micro-éléments), biotiques (la plante hôte, le pathogène, la microflore indigène, et la densité de cellules de la souche productrice) et physiologiques tels que le quorum sensing ont été identifiés pour influencer la production des antibiotiques par les agents bactériens de biocontrôle [170, 183].

Certaines souches de PGPR peuvent protéger les plantes d'une façon indirecte par la stimulation de mécanismes de défense inductibles dans la plante, ce qui peut rendre l'hôte beaucoup plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes. Ce phénomène a été nommé «résistance systémique induite» (ISR, Induced Systemic Resistance) [184, 185]. L'induction d'une telle capacité de défense est systémique. Le traitement des racines par des PGPR produit des effets protecteurs sur d'autres parties de la plante sans migration des bactéries induisant l'ISR au travers du système vasculaire de la plante ou à travers les tissus [186, 187]

La colonisation efficace des racines par des PGPR est un événement

déterminant pour l'ISR où la population bactérienne racinaire doit atteindre un seuil suffisant pour déclencher le phénomène. Chez *Pseudomonas* par exemple, il doit être d'un minimum de 10^3 à 10^5 cellules par gramme de racines [168]. De plus, les mécanismes de résistance dans l'ISR atteignent leur efficacité maximale entre 4 à 5 jours après l'application d'un agent induisant, mais le niveau de persistance de la résistance diminue avec le temps.

Généralement, l'ISR ne confère pas une protection totale contre l'infection [188], et la durabilité de la résistance induite par les PGPR diffère d'une plante à l'autre, mais aussi en fonction de la souche bactérienne utilisée [189]. Par exemple, l'application combinée d'une souche particulière de *Pseudomonas* sur les graines, les racines, le sol et sur les feuilles a augmenté la durabilité de l'ISR chez le riz contre la maladie causée par *Rhizoctonia solani* [190].

La stimulation de l'ISR par les PGPR dépend de l'espèce végétale et des caractéristiques génétiques spécifiques de la souche donnée. Les éliciteurs produits par les PGPR et 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 [191]. Les quelques éliciteurs connus sont classés selon trois catégories : les composants de surface cellulaires, les métabolites régulés par le fer et les antibiotiques [192].

1.4 Symbiose fixatrice d'azote légumineuses – Rhizobium

Les symbioses fixatrices d'azote les plus connues font intervenir plusieurs légumineuses avec ses symbiotes bactériens, les Rhizobiums. La symbiose Légumineuse-Rhizobium est une interaction hautement adaptée et régulée, il ne s'agit pas d'une interaction obligatoire ou permanente, En effet, les deux partenaires peuvent vivre indépendamment et de manière autonome et chaque nouvelle génération de plante doit être infectée par de nouvelles bactéries [193]. Au cours de cette association à bénéfice réciproque, la plante fournit de l'énergie à son symbiote, tandis que celui-ci fixe l'azote, le rendant assimilable par la plante. Ces associations symbiotiques sont responsables chaque année de la réduction de 120 millions de tonnes d'azote atmosphérique en ammonium [194].

Selon de Faria *et al.* [195], la plus grande partie des légumineuses (88% des espèces étudiées) interagissent avec *Rhizobium* pour former des nodules fixateurs d'azote [196]. De ce fait, les légumineuses sont parmi les plantes les plus étudiées [197, 198, 199]. Il s'agit de la troisième plus grande famille chez les plantes supérieures avec plus de 720 genres et 20000 espèces [200]. Les légumineuses regroupent trois sous familles: les Cæsalpiniées, les Mimosacées et les Papilionacés. La plupart des espèces cultivées et de grande importance économique appartiennent à cette dernière sous-famille [201].

Toutes les Légumineuses ne sont pas capables d'établir une symbiose avec des rhizobia, et cette caractéristique est inégalement répartie à travers les trois sous familles : 5-10% des genres de *Caesalpinioideae* (environ 150 genres et 2200 espèces), 50% des *Mimosoideae* (62 genres et environ 2500 espèces) et presque 90% des genres de *Papilionoideae* (429 genres et environ 12000 espèces) contiennent des espèces qui peuvent former des associations symbiotiques avec des rhizobia [201].

Les partenaires bactériens de cette symbiose sont connus sous le nom de rhizobia. Ceux-ci sont définis par leur capacité à vivre à l'intérieur des nodules des Légumineuses hôtes, et à réduire l'azote atmosphérique en ammonium assimilable par la plante.

Tous les *Rhizobiums* caractérisés sont des bactéries Gram-négatives (au contraire des actinomycètes), présentes dans le sol et appartenant aux sous-classes α et β des protéobactéries. Selon une analyse phylogénétique basée sur l'ARN 16S, elles sont dispersées dans 12 genres parmi neuf groupes monophylogénétiques [202] (Tableau 1.3).

La plupart des espèces se trouvent dans la sous-classe α , divisée en sept groupes Monophylogénétiques :

Rhizobium et *Allorhizobium*,

Sinorhizobium (et *Ensifer*),

Mesorhizobium,
Bradyrhizobium,
Methylobacterium [203, 204],
Azorhizobium,
Devosia [205].

Bien que toutes les légumineuses ne soient pas capables de noduler [272], il a été observé que les Rhizobiums peuvent infecter les racines de légumineuses non nodulantes et qu'une activité nitrogénase est détectée chez ces plantes [273].

L'interaction Rhizobium-légumineuse est caractérisée par la spécificité avec laquelle elle s'établit. En général, chaque légumineuse ne peut être infectée que par un nombre restreint de souches de Rhizobium et réciproquement [274]. Ainsi, la souche *Sinorhizobium meliloti* ne peut noduler que les espèces de genre *Medicago*, *Melilotus*, et *Trigonella*, et *Rhizobium leguminosarum bv viciae* qui peut induire la nodulation chez les genres *Pisum*, *Vicia*, *Lens*, et *Lathyrus*. Cependant, le degré de spécificité d'une souche est très variable, pouvant aller de quelques hôtes à plus d'une centaine d'hôtes, comme dans le cas de *Sinorhizobium* NGR234 qui possède un spectre d'hôtes exceptionnellement large, elle est capable de noduler 112 genres de légumineuses et même des plantes non légumineuses comme *Parasponia andersonii* qui appartient à la famille des Ulmacées [275].

Tableau 1.3 : Principales rhizobactéries symbiotiques fixatrices d'azote.

Genre/espèces et références	Genre/espèces et références
<p><u>Rhizobium</u> <i>R. cellulosilyticum</i> [206] <i>R. daejeonense</i> [207] <i>R. etli</i> [208, 209] <i>R. galegae</i> [210] <i>R. gallicum</i> [211] <i>R. giardinii</i> [211], [212] <i>R. hainanense</i> [213] <i>R. huautlense</i> [214] <i>R. indigoferae</i> [215] <i>R. leguminosarum</i> bv <i>trifolii</i> [216, 217] bv <i>viciae</i> [216, 217] bv <i>phaseoli</i> [216, 217] <i>R. loessense</i> [218] <i>R. lusitanum</i> [219] <i>R. mongolense</i> [220] <i>R. sullae</i> [212] <i>R. tropici</i> [222] <i>R. yanglingense</i> [223] <u>Allorhizobium</u> <i>A. undicola</i> [224] considérée avec <i>Rhizobium</i> par Sawada et al. [202]</p>	<p><u>Sinorhizobium</u> <i>S. abri</i> [225] <i>S. americanus</i> [226] <i>S. arboris</i> [227] <i>S. fredii</i> [228, 229] <i>S. indiaense</i> [225] <i>S. kostiense</i> [227] <i>S. kummerowiae</i> [215] <i>S. medicae</i> [230] <i>S. melliloti</i> [216, 231] <i>S. morelense</i> [232] <i>S. saheli</i> [231, 233] <i>S. terangae</i> [231, 234] <u>Ensifer</u> <i>E. mexicanus</i> [235] <i>E. xinjiangense</i> [229, 236] <i>E. adhaerens</i> [237] considérée avec <i>Sinorhizobium</i> par Sawada et al. [202]</p>
<p><u>Mesorhizobium</u> <i>M. albiziae</i> [238] <i>M. amorphae</i> [209, 239] <i>M. chacoense</i> [240] <i>M. ciceri</i> [241] <i>M. huakuii</i> [242, 243] <i>M. loti</i> [244, 243] <i>M. mediterraneum</i> [245, 243] <i>M. plurifarum</i> [246] <i>M. septentrionale</i> [247] <i>M. thiogangeticum</i> [248] <i>M. temperatum</i> [247] <i>M. tianshanense</i> [249, 250] <u>Burkholderia</u> <i>B. caribensis</i> [251, 252] <i>B. cepacia</i> [252] <i>B. mimosarum</i> [253] <i>B. nodosa</i> [254] <i>B. phymatum</i> [252, 255] <i>B. tuberum</i> [252]</p>	<p><u>Bradyrhizobium</u> <i>B. canariense</i> [256, 257, 258] <i>B. elkanii</i> [259] <i>B. japonicum</i> [217] <i>B. liaoningense</i> [260] <i>B. yuanmingense</i> [261] <u>Blastobacter</u> <i>B. denitrificans</i> [262] considérée avec <i>Bradyrhizobium</i> par van Berkum et al. [263] <u>Azorhizobium</u> <i>A. caulinodans</i> [264] <i>A. doebereineriae</i> [265] <u>Devosia</u> <i>D. neptuniae</i> [266] <u>Ralstonia (Cupriavidus)</u> <i>R. taiwanensis</i> [267]</p>
<p><u>Herbaspirillum</u> <i>H. lusitanum</i> [268]</p>	<p><u>Phyllobacterium</u> <i>P. trifolii</i> [268]</p>
<p><u>Methylobacterium</u> <i>M. nodulans</i> [269]</p>	<p><u>Ochrobactrum</u> <i>O. cytisi</i> [270] <i>O. lupini</i> [271]</p>

1.5 Processus biologiques et génétiques de la nodulation

Généralement, il est admis que les conditions requises pour l'inhibition de la symbiose sont une faible teneur en azote du sol et une photosynthèse active pour assurer une source suffisante d'énergie [276]. En effet, l'augmentation de la concentration en azote disponible pour les racines devrait avoir un effet négatif sur le taux de fixation, ce qui a été confirmé par de nombreuses études [277, 278, 279, 280].

Les rhizobiums peuvent infecter les racines des légumineuses entraînant la formation de nouveaux organes racinaires fortement différenciés appelés nodules. Par ces nodules, la plante hôte (la légumineuse) offre un micro-habitat exceptionnellement favorable à la bactérie tout en lui procurant des substrats carbonés provenant de la photosynthèse. En retour, la bactérie fixe l'azote atmosphérique (N_2) et le fournit à la plante hôte sous forme assimilable NH_3 [281].

L'interaction entre les deux partenaires a lieu à toutes les étapes de la nodulation. Le développement du nodule est sous le contrôle génétique des deux partenaires, où plus de 40 gènes végétaux et 50 gènes bactériens ont été identifiés pour leur implication dans la nodulation et la fixation de l'azote [282, 283].

1.5.1 Formation du nodule

L'interaction entre la plante et la bactérie débute dans la rhizosphère, la plante permettant la croissance des bactéries de manière sélective [284].

La nodulation commence par un échange de signaux moléculaires spécifiques entre la plante hôte et le rhizobium [285, 286, 287]. La plante produit un cocktail de molécules composé de flavonoïdes qui sont libérés des racines des légumineuses pour attirer le rhizobium à la racine et induire la cascade de régulation qui comprend des composés tels que les facteurs Nod et les polysaccharides de surface [288].

La pénétration de la bactérie est facilitée par la courbure du poil racinaire qui crée une zone confinée dans laquelle la bactérie est entourée par la paroi végétale (Figure 1.2). Un cordon d'infection est initié à partir de ce point par hydrolyse de la

paroi [289], invagination de la membrane végétale et production de matériel pariétal par la plante [290, 198]. Le cordon d'infection est une structure tubulaire qui croît à l'intérieur de la cellule et dans laquelle la bactérie prolifère.

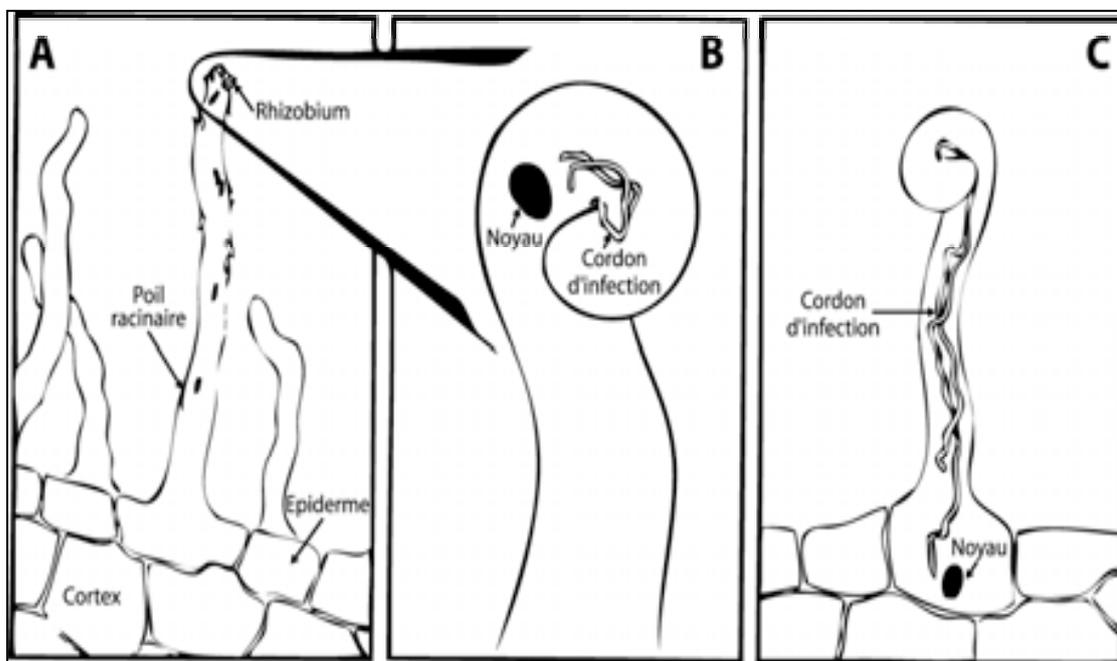


Figure 1.2 : Infection intracellulaire chez les Légumineuses [283]. **A :** La bactérie colonise la rhizosphère et entre en contact avec le poil Racinaire ; **B :** Les facteurs Nod induisent la courbure du poil racinaire ce qui permet la création d'une zone confinée pour la bactérie qui initie l'infection ; **C :** La mise en place du cordon d'infection suit le déplacement du noyau vers la base du poil.

1.5.1.1 Excrétion des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés principalement excrétés au niveau des extrémités racinaires ; ils constituent les premiers signaux échangés entre la plante et la bactérie. Chaque plante produit une mixture de flavonoïdes qui peut varier selon son état physiologique [193].

Les flavonoïdes sont des dérivés du 2-phényl-1,4-benzopyrone avec une structure définie par deux anneaux aromatiques et un cycle propane ou pyrane (Figure 1.2). Selon les modifications de cette structure, plus de 4000 flavonoïdes différents ont été identifiés chez les plantes, parmi lesquels les isoflavonoïdes qui sont spécifiques des légumineuses [291].

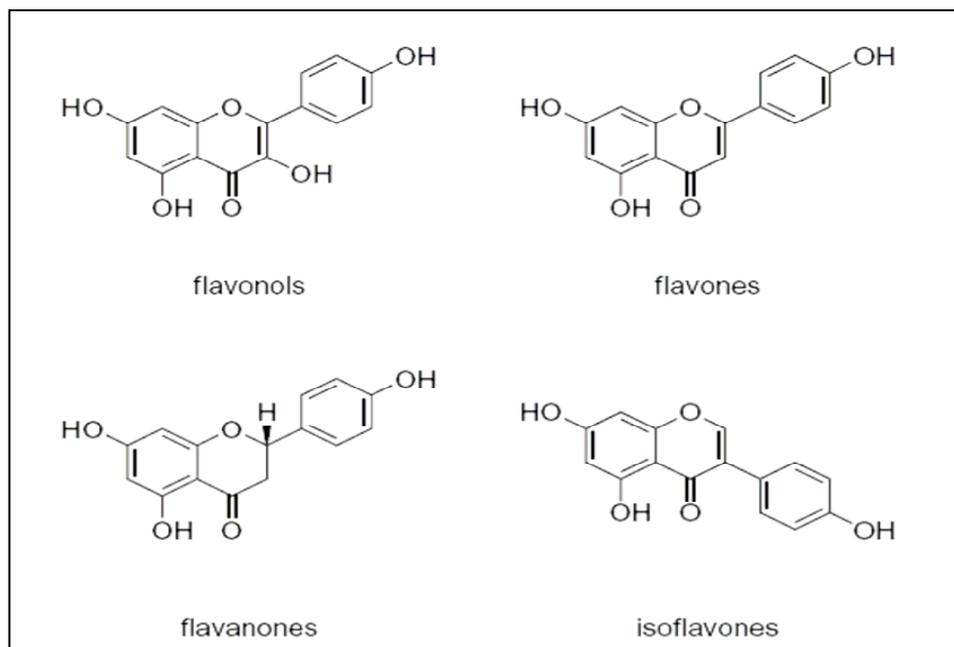


Figure 1.3 : Structures chimiques des différents groupes de composés flavonoïdes [292].

Les flavonoïdes jouent un rôle principal dans le déclenchement de la symbiose en tant qu'inducteurs spécifiques des gènes bactériens de nodulation (gènes *Nod*) [293], qui sont impliqués dans la synthèse des lipochitoooligosaccharides (LCOs) [294] appelés les facteurs *Nod* [283], et qui sont essentiels pour l'infection initiale des racines [295, 283].

Certains de ces flavonoïdes ont la capacité d'induire les gènes *nod* des bactéries requis pour la nodulation. Ces capacités varient selon les flavonoïdes et selon les rhizobiums. Certains flavonoïdes peuvent même inhiber l'expression des gènes *nod*. Ainsi, les isoflavonoïdes produits par *Glycine max* (daïdzéine et génistéine) induisent les gènes *nod* de son symbiote *B. japonicum*, mais inhibent ceux de *S. meliloti*, spécifiquement induits par la lutéoline [296].

1.5.1.2 Synthèse des facteurs *Nod*

Les *Rhizobium* produisent des facteurs *Nod* afin d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec les légumineuses [297]. Tous les facteurs *Nod* issus des rhizobiums ont la même structure chimique basique, consistant en un squelette

oligomérique de trois à cinq résidus de *N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) liés en β -1,4 et au niveau de l'extrémité non réductrice du squelette la présence d'une chaîne d'acide gras (de 16 à 18 atomes de carbone), généralement saturée et plus rarement insaturée comme dans le cas des facteurs Nod de *S. meliloti* (Figure 1.3).

Les facteurs Nod diffèrent selon les espèces par les groupements (dits décorations ou substitutions) accrochés à leur chaîne oligosaccharidique qui déterminent la spécificité d'hôte, la longueur de la chaîne et le degré de saturation de la chaîne d'acides gras [283].

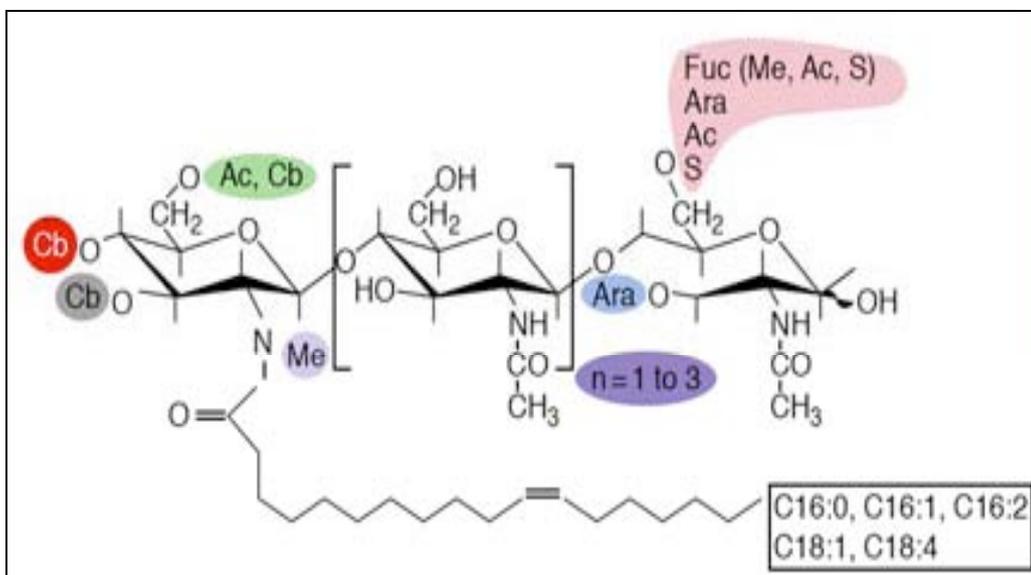


Figure 1.4 : structure chimique d'un facteur Nod générique avec quelques substitutions observées chez les différentes espèces de rhizobium. Les variations les plus courantes de la chaîne d'acides gras sont également représentées. Ac : acétyl, Ara : arabinosyl, Cb : carbonyl, Fuc : fucosyl, Me : méthyl, S: sulfuryl. [298].

La synthèse du facteur Nod est codée par un ensemble de gènes qui sont regroupés en trois catégories :

- Les gènes régulateurs *nodD* : Les gènes *nod* codent pour environ 25 protéines impliquées dans la synthèse et l'export des Facteurs Nod [198, 283, 291]. Les flavonoïdes diffusent dans les bactéries où ils réagissent réciproquement avec la protéine NodD appartenant à la famille de régulateurs transcriptionnels du type LysR, et déclenchent une cascade de

transduction du signal qui contrôle le processus de l'infection [299, 283]. Ainsi, Peck et *al.* [300] ont montré que les flavonoïdes ont la capacité à stimuler la liaison entre la protéine NodD et les promoteurs des gènes *nod*.

En plus de la protéine NodD, chez *Bradyrhizobium japonicum*, NodV et NodW éléments de la famille des régulateurs à deux-composants, sont aussi impliqués dans la modulation de l'expression des gènes de nodulation par des isoflavonoids via une série d'étapes de phosphorylation [301, 302, 303].

- Les gènes communs *nodABC* : La synthèse du squelette d'oligomères de chitine des facteurs Nod requiert l'activité de trois enzymes codées par les gènes *nodABC*, présents chez tous les rhizobiums caractérisés jusqu'ici [304, 305], exceptées deux souches de *Bradyrhizobium* [305]. Le gène *nodC* codant pour une N-acetylglucosamyl-transferase permet l'élongation de la chaîne, puis le gène *nodB* codant pour une N-déacétylase entraîne la suppression du résidu N-acétyl de l'extrémité de la chaîne ce qui permet au produit du gène *nodA*, une N-acyl-transferase d'y ajouter une chaîne d'acides gras [196]. Ces gènes déterminent la synthèse de la structure de base commune à tous les facteurs Nod [285]. Les gènes *nodABC* jouent un rôle absolument essentiel dans la formation des nodosités, une mutation dans l'un d'entre eux entraîne une incapacité à noduler toute plante [283].
- Les gènes *nod* spécifiques : Les autres gènes *nod*, généralement spécifiques à chaque genre de rhizobium forment des combinaisons variables et contribuent à la diversification des signaux [306]. Ces gènes codent pour des protéines modifiant les facteurs Nod [307, 303] et contrôlant ainsi la spécificité de l'hôte et l'efficacité de la symbiose [308]. Des mutations au niveau de ces gènes codant altèrent la nodulation chez l'espèce hôte [283].

Les facteurs Nod ont une grande activité biologique et ils induisent (à des concentrations extrêmement faibles de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-12} M) après leur excrétion dans la rhizosphère, de nombreuses réponses symbiotiques similaires à celles induites par les bactéries elles-mêmes [285, 309]. Ainsi, les Rhizobiums qui sont incapables de synthétiser les facteurs Nod, ne peuvent pas pénétrer dans les racines [310, 311].

1.5.1.3 Production des polysaccharides de surface

Bien que la production et la reconnaissance des facteurs Nod soient des déterminants majeurs de la spécificité d'hôte, certains composés semblent aussi intervenir à différents niveaux, notamment les exopolysaccharides de surface de la bactérie [312, 283]. Trois types majeurs de polysaccharides de surface sont synthétisés : les exopolysaccharides (EPS), les lipopolysaccharides (LPS) et les polysaccharides de capsule (CPS), ces composés sont très importants à l'infection plante-bactérie [313].

Chez les plantes formant des nodules indéterminés, les EPS rhizobiens sont indispensables au développement d'un nodule fixateur, alors que ce n'est pas le cas des plantes formant des nodules déterminés [314, 315]. Deux types d'EPS sont attachés à la membrane externe des bactéries : les β -glucanes cycliques, généralement situés dans l'espace périplasmique, mais pouvant aussi être sécrétés et les EPS acides, hétéropolymères complexes, avec des unités répétées d'hexoses (7 à 9) et souvent des substitués non carbohydratés comme les groupements succinates, pyruvates ou acétates [313].

- Les EPS semblent avoir un rôle majeur dans différentes étapes de l'établissement de la symbiose lors de processus complexes de la nodulation, ils contribuent à la colonisation racinaire, l'identification de la plante hôte, l'initiation et l'extension des cordons d'infection, la spécificité de la plante hôte et l'invasion de nodule en jouant sur l'hydrophobicité de la membrane bactérienne [316, 287]. Les EPS pourraient aussi faciliter la différenciation des bactéroïdes en conférant plus de plasticité à leur membrane [313, 287].
- Les LPS sont des polysaccharides attachés à la membrane externe des bactéries par un groupement lipidique avec la partie saccharidique orientée vers l'extérieur. Ces LPS sont essentiels à la survie des bactéries.
- Les CPS sont des polysaccharides entourant la bactérie et lui conférant une matrice hydratée protectrice contre les bactériophages et les conditions sèches souvent rencontrées dans la rhizosphère [313].

1.5.1.4 Développement nodulaire

L'infection de la plante par les Rhizobiums induit la dédifférenciation et la division des cellules du cortex qui sont les premières à recevoir les bactéries [317]. Les cellules du cortex moyen s'activent et se divisent et les quelques cellules non infectées de cette zone constituent le méristème nodulaire [198].

L'activation des cellules du cortex (16 à 18 heures après inoculation) conduit à des divisions anticlinales, puis périclinales formant ainsi une couche de péricycle bistratifiée, qui serait à l'origine de la vascularisation du futur nodule. Dix-huit à 24 heures après inoculation, les cellules du cortex interne situées en face des cellules activées du péricycle sont activées et réorganisées [318].

La libération des bactéries débute dans les cellules du primordium (cellules issues du cortex moyen) en formation puis continue dans la partie distale de la zone d'infection des nodules matures, là où les cordons sont les plus épais et organisés en un réseau dense [319].

La formation d'un méristème nodulaire ne nécessite pas l'infection par les Rhizobiums. En effet, un méristème nodulaire peut être formé chez *M. sativa* en l'absence de bactérie [320] ou en réponse à des facteurs Nod purifiés [321, 322]. La formation d'un méristème nodulaire chez *Medicago* apparaît environ 60 à 72 heures après inoculation (Figure 1.4).

Un nodule mature est caractérisé par des tissus spécifiques périphériques et centraux [324]. La région périphérique compte trois types de tissus, de l'extérieur vers l'intérieur :

- Le cortex, constitué de grandes cellules parenchymateuses vacuolisées
- L'endoderme
- Le parenchyme, qui contient les faisceaux vasculaires

La région centrale est divisée en quatre ou cinq zones selon l'âge du nodule (Figure 1.5) :

- La zone méristématique (zone I) : située à l'apex dont les cellules sont en division. Elles sont petites et riches en cytoplasme, cette zone est dépourvue de cordons d'infection et de bactéries [325].

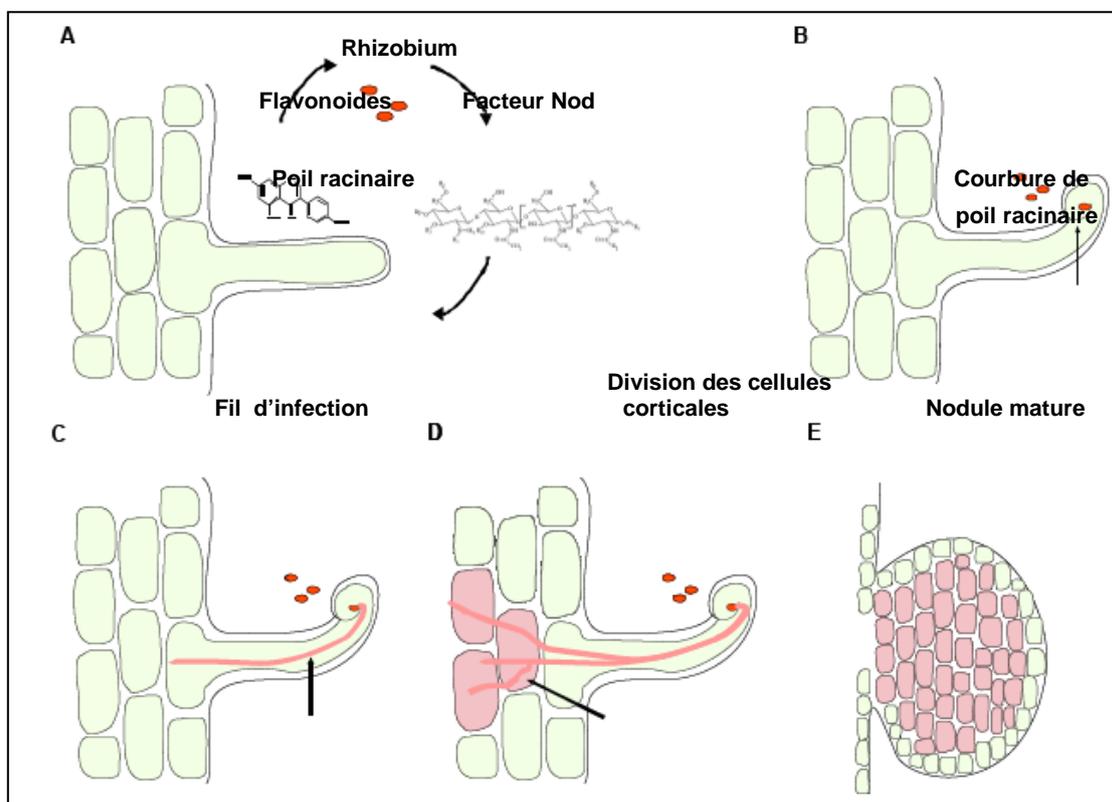


Figure 1.5 : Invasion des poils racinaires de légumineuse par *Rhizobium* [323].

- La zone d'infection (zone II) : La différenciation des cellules dans cette zone implique des cycles d'endoréplication et un élargissement des cellules envahies [317]. Les bactéroïdes, disposés aléatoirement dans les cellules, commencent à se différencier en parallèle [324] et à migrer vers la périphérie des cellules.
- La partie proximale de la zone II. Elle est caractérisée par l'accumulation d'amyloplastes dans les plastides et mitochondries allongés et un début d'organisation des bactéroïdes les plus périphériques, qui se placent perpendiculairement à la paroi cellulaire [325].
- La zone de fixation (zone III) : Cette zone est continuellement en croissance. La différenciation des cellules est terminée, la taille des cellules est constante. La grande taille des cellules qui composent cette zone leur permet de contenir des milliers de bactéroïdes et leur forte activité métabolique assure la production

d'énergie nécessaire à la fixation de l'azotée et sa transformation en ammonium [326]. Dans ces cellules, les facteurs Nod produits par les bactéroïdes ne sont plus internalisés, et l'expression des gènes du cycle cellulaire est stoppée [318].

- La zone de sénescence (zone IV) : Les cellules hôtes et bactériennes dégénèrent.
- La zone saprophytique (zone V) : Des bactéries non différenciées sont libérées des cordons d'infection restants et envahissent les cellules sénescents du nodule. Cette zone constituerait une niche écologique où les bactéries libres vivraient comme des organismes saprophytes [327].

L'organogenèse peut donner deux types de nodules : des nodules de type indéterminé sont formés à partir du cortex interne alors que ceux de type déterminé sont formés à partir du cortex externe. Selon Hirsch [328], le type de nodule dépend de la plante hôte et non de son symbionte. Ainsi, les légumineuses tempérées (pois, luzerne, trèfle...) forment généralement des nodules indéterminés, alors que les légumineuses tropicales (soja, haricot...) forment habituellement des nodules déterminés.

La persistance du méristème chez les espèces à nodules de type déterminé est très éphémère et la croissance en longueur du nodule est limitée. Une croissance en épaisseur a lieu par hypertrophie des cellules corticales et par des divisions de cellules contenant déjà des Rhizobiums [329]. Ce processus de formation se traduit par une forme sphérique et un état de différenciation identique pour toutes les cellules. Dans le cas des espèces à nodules de type indéterminé, la zone méristématique est persistante ce qui se traduit par une forme allongée (Figure 1.6) [328, 330, 198].

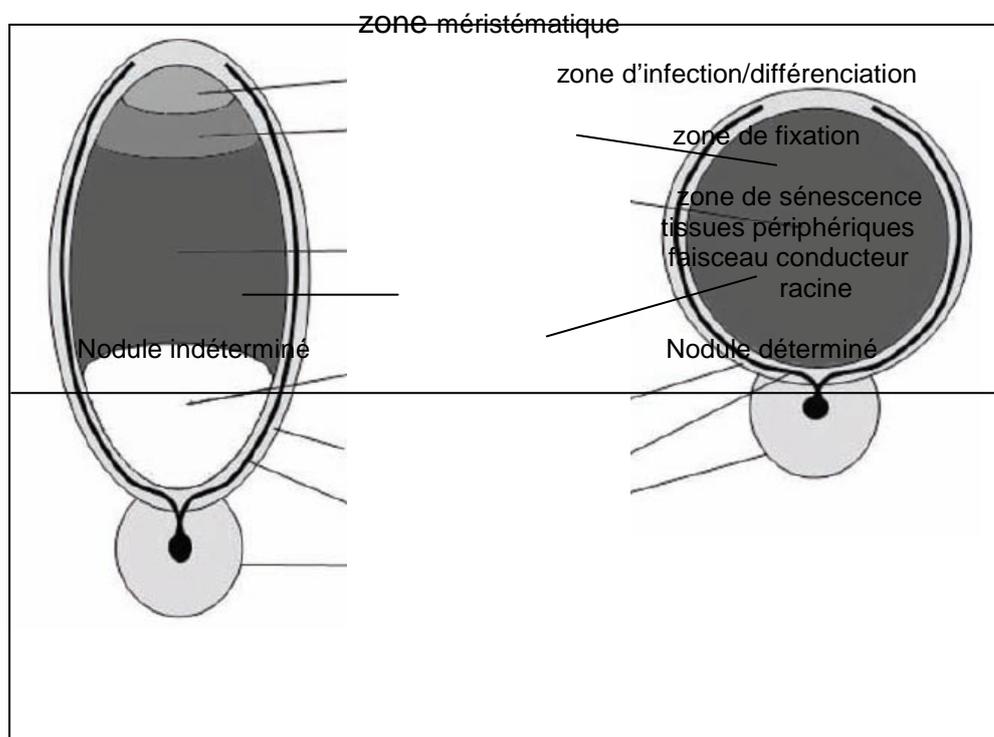


Figure 1.6 : architecture d'un nodule indéterminé et un nodule déterminé [331].

Il est intéressant de noter que seules les bactéries différenciées (bactéroïdes) fixent l'azote ; en culture libre, les bactéries n'expriment pas la nitrogénase [332].

Dans les nodules matures, la fixation de l'azote est rendue possible grâce à l'action de la leghémoglobine végétale, qui maintient un niveau bas en oxygène, et à l'apport de carbone et autres nutriments via la membrane pér bactéroidienne, qui permet ensuite le passage des composés azotés vers la plante [333, 334].

Lors du processus de fixation biologique de l'azote, l'azote minéral est réduit en ammonium suite à de multiples réactions de transfert d'électrons conduisant également à la libération d'hydrogène. L'ammonium excrété est ensuite utilisé pour la synthèse des biomolécules, glutamine et asparagine dans les nodules

indéterminés et uréides dans les nodules déterminés.

Chez les nodules indéterminés, la voie principale d'assimilation a lieu via la glutamine synthétase, mais deux autres voies métaboliques alternatives sont possibles via : l'asparagine synthétase et la glutamate déhydrogénase [335].

La réduction de l'azote est catalysée dans tous les organismes capables de fixer l'azote atmosphérique par le complexe enzymatique ATP-dépendant de la nitrogénase [336]. Le complexe de la nitrogénase est constitué de deux sous-unités fonctionnelles principales : la dinitrogénase réductase (azoferredoxine) et la dinitrogénase (molybdoferrédoxine).

1.6. Communication et interaction bactériennes

Bien que les bactéries soient des organismes unicellulaires, elles montrent souvent le comportement de groupes ou de communautés fonctionnels [337, 338, 339]. Les bactéries produisent des molécules de signalisation qui s'accumulent dans l'environnement extracellulaire et qui servent de moyens de communication cellule-cellule [340, 341, 342, 343, 344]. Ce phénomène de communication contrôlant la régulation et l'expression de certains gènes bactériens a été nommé « Quorum Sensing » [345, 338, 346, 347, 348, 349].

Le Quorum Sensing est un système de communication bactérienne permettant à une population de coordonner l'expression de gènes cibles en fonction de sa densité ou des propriétés du milieu (diffusion, flux....) [350]. La plupart des signaux de quorum sensing sont de petites molécules organiques ou peptides avec 5-20 acides aminés [351, 352, 353].

Chez les bactéries Gram négatif, le Quorum Sensing est basé sur la synthèse et la détection de petites molécules signal appelées *N*-acyl-homosérine lactones (AHLs) comme autoinducteurs [345, 338, 346, 354, 355, 356, 339, 344, 347, 348, 349] qui est généralement associé à leur comportement pathogène ou symbiotique [343, 347].

Les molécules de types acyl-homosérine lactones sont composées, comme leur nom l'indique, d'un anneau homosérine lactone d'une part, et d'une chaîne acyl variable d'autre part (Figure 1.6). Suivant l'espèce productrice, la chaîne acyl peut varier par sa longueur (de 4 à 18 carbones) [346, 343, 347], sa saturation et la

présence de différentes substitutions sur le troisième carbone (groupe carbonyle C=O, ou groupe hydroxyle CH-OH).

Les AHLs sont synthétisées dans la cellule bactérienne par les AHL-synthases [357, 358]. Ces enzymes ont été classées en différentes familles en fonction de leurs séquences et des substrats utilisés lors de la synthèse des molécules signal. Trois types d'AHLs synthétase ont été décrits à ce jour: la famille LuxI [358], comprenant les homologues de l'enzyme LuxI [359] qui sont les AHL-synthases les plus répandues puisqu'elles sont conservées dans plus de 50 espèces bactériennes [360], et l'enzyme HdtS décrite chez *Pseudomonas fluorescens* et qui est responsable de la synthèse de trois types différents d'AHLs chez cette bactérie [361].

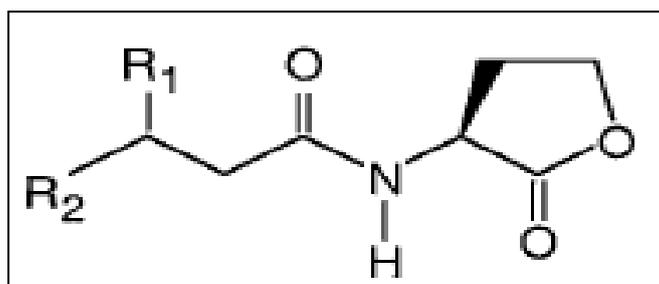
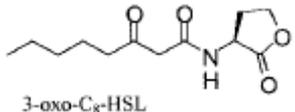
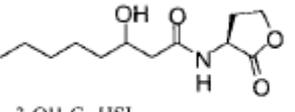
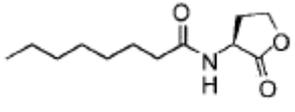
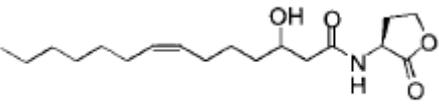
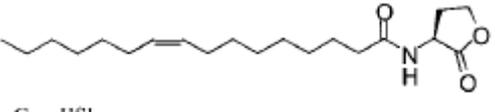


Figure 1.7 : structure générale de l'acyl-homosérine lactone [362].

Les rhizobactéries utilisent le quorum sensing pour la régulation de certains mécanismes comme la formation de biofilms, la production de toxines, d'exopolysaccharides, de facteurs de virulence, et pour leur mobilité, ce qui sont essentiels pour l'établissement réussi d'une relation symbiotique ou pathogénique avec la plante hôte [363, 364, 365, 366, 367].

Plusieurs études ont montré l'implication du quorum sensing chez les rhizobactéries dans leur capacité d'association symbiotique avec les plantes hôtes [341, 347, 343, 368]. En effet, les molécules d'AHL produites par plusieurs espèces de *Rhizobium* et de *Sinorhizobium* (Tableau 1.4) peuvent réguler diverses fonctions, telles que la production d'exopolysaccharide [369, 363, 370], le transfert de plasmide [371, 372], et la nodulation [373, 374, 375], qui sont liés à la symbiose légumineuse-rhizobium.

Tableau 1.4 : Caractéristiques de quelques molécules d'acyl homosérine lactone appartenant au genre *Rhizobium* [341].

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

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel biologique

2.1.1 Souches bactériennes

2.1.1.1 Souches de *Pseudomonas fluorescens*

Trois souches bactériennes ont été testées dans notre expérimentation, il s'agit des souches S20, CHAO et P64 (Tableau 2.5).

Les souches S20 et P64 ont été isolées, respectivement, de la rhizosphère du palmier dattier dans la région de Ghardaïa [376], et de la rhizosphère de l'abricotier dans la région de Mitidja [377].

La souche CHAO est considérée comme souche type de référence, utilisée dans de nombreux travaux de recherche et d'expérimentation [378, 14, 379, 380, 169, 381]. Cette souche est connue par ses effets bénéfiques dans le biocontrôle et la promotion de la croissance végétale, elle se caractérise par la production de divers métabolites secondaires, notamment les pyoverdines, l'H₂CN et les phénazines [159, 382, 383].

La pureté des souches a été vérifiée sur le milieu B de King [384] (Appendice B) en réalisant plusieurs repiquages successifs. Les souches purifiées ont été conservées à la température de 4°C.

Tableau 2.5 : Origine des souches de *Pseudomonas fluorescens* :

Souche	Plante hôte	Provenance	Origine
CHAO	Tabac	Suisse	Envoyée par le Pr. Keel, laboratoire de phytomédecine, Zurich – Suisse
S20	Palmier dattier	Algérie	Collection du laboratoire de phytopathologie de l'Université de Blida
P64	Abricotier	Algérie	Collection de laboratoire de phytopathologie de L'université de Blida.

2.1.1.2 Souches de *Rhizobium* sp.

Dans notre expérimentation deux souches de *Rhizobium* sp. ont été étudiées R₁ et R₂. Ces souches ont été isolées à partir de nodules de la fève cultivée dans la région de Cherchell dans une étude précédente réalisée par Chennaoui [33].

La pureté des souches a été vérifiée sur le milieu PDAE (potato dextrose agar + extrait de levure) (Appendice B), après plusieurs repiquages successifs. Les souches purifiées ont été conservées à 4°C.

2.1.2 Matériel végétal

La plante utilisée pour la réalisation de nos essais est la fève, (*Vicia faba* L. var. Hista), dont les semences ont été désinfectées par trempage dans de l'eau javellisée à 6°C pendant 20 min. suivi de trois rinçages successifs avec de l'eau distillée stérile pendant 3 min.

Avant le semis, les graines de la fève ont subi une prégermination sur papier filtre stérile imbibé d'eau durant trois jours (26 à 27°C).

2.2 Expérimentation sous serre

Le sol utilisé pour la réalisation de notre expérimentation sous serre provient d'une parcelle cultivée en grumes de la station expérimentale du département

d'Agronomie (Université de Blida). Après élimination des éléments grossiers, le sol a été désinfecté selon la méthode de Berjerac, en l'étalant sur une plaque en acier chauffée à une température avoisinant 200°C pendant 15 minutes. Le sol sur la plaque est remué de temps à l'autre en l'arrosant avec de l'eau. Cette opération vise à éliminer ou inhiber le maximum d'activité microbienne, des nématodes et les semences des plantes indésirables.

Après refroidissement, le sol a été mélangé avec la tourbe (1/3 de tourbe, 2/3 de sol), et réparti dans des pots d'une capacité de 2000 ml.

2.2.1 Préparation des inoculat

Pour cette expérimentation, trois souches de *Pseudomonas fluorescens* [CHAO, S20 et P64] (Tableau 2.5) ont été étudié en interaction avec deux souches de *Rhizobium* sp. [R₁ et R₂] (CF. 2.1.1.2).

L'inoculum des souches de *Pseudomonas* a été obtenu à partir de cultures bactériennes âgées de 24 à 36 heures cultivées sur milieu King B. des suspensions bactériennes ont été préparé dans de l'eau distillée stérile.

L'inoculum des souches de *Rhizobium* a été préparé à partir de cultures bactériennes âgées de 4 jours cultivées sur milieu PDAE.

Les concentrations bactériennes ont été ajustées à 10⁸ CFU/ml, à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu), aux longueurs d'onde $\lambda = 580$ nm pour les souches de *Pseudomonas*, et 600 nm pour les souches de *Rhizobium*.

2.2.2 Inoculation bactérienne

Les semences de la fève préalablement désinfectées et mises à germer ont été bactérisées avec les différentes souches de *Pseudomonas*, selon les différents traitements. La tourbe stérile à été utilisée à titre de support dans la préparation finale de l'inoculum à appliquer. A cet effet, un volume de 50 ml de la suspension bactérienne est mélangé à 20g de tourbe, pour obtenir une pâte qui s'adhère facilement sur les graines. Dans le cas du témoin, les semences sont placées dans la tourbe imbibée avec de l'eau distillée stérile (Figure 2.7).



Figure 2.8: Semences de fève enrobées avec la pâte de tourbe.

Les semences enrobées avec la pâte de tourbe ont été laissées pendant une heure pour assurer une bonne adhésion des bactéries. Le semis a été réalisé dans des pots préalablement arrosés pour assurer une humidité suffisante à l'installation des bactéries.

Afin d'assurer un niveau suffisant en population bactérienne dans les pots, deux rappels de bactérisation, pour chaque souche, ont été réalisés après une et deux semaines après le semis à l'aide d'une seringue de 10 ml contenant la suspension bactérienne.

L'inoculation avec les souches de *Rhizobium* a été effectuée trois jours après le semis (après la formation des racines et des poils absorbants). Deux rappels de bactérisation ont été réalisés après 20 jours et après un mois du semis.

Durant la croissance de la plante, l'arrosage des pots a été effectué de manière à satisfaire les besoins de la plante en eau, selon les variations climatiques durant notre période d'expérimentation.

2.2.3 Dispositif expérimental

L'essai a été mis en place suivant un dispositif en blocs aléatoires complets, avec trois répétitions. Dans chaque bloc figurent les 12 traitements étudiés. Chaque traitement est représenté par cinq plants par bloc, soit quinze plants au total pour chaque traitement (Figure 2.8).



Figure 2.9 : Dispositif expérimental de l'essai sous serre.

Les différents traitements étudiés sont :

T0 : plants témoins non bactérisés.

T1, T2 : plants bactérisés respectivement avec les souches R1 et R2.

T3, T4, T5 : plants bactérisés respectivement avec les souches S20, CHAO et P64.

T6= plants bactérisés avec les souches S20 et R1.

T7= plants bactérisés avec les souches S20 et R2.

T8= plants bactérisés avec les souches CHAO et R1.

T9= plants bactérisés avec les souches CHAO et R2.

T10= plants bactérisés avec les souches P64 et R1.

T11= plants bactérisés avec les souches P64 et R2.

2.2.4 Colonisation rhizosphérique

Dans le but d'évaluer le pouvoir colonisateur des souches de *Pseudomonas fluorescens* étudiées, une vérification de l'installation des bactéries au niveau de la rhizosphère a été effectuée. Pour cela, des fragments de racine sont prélevés de différents traitements, suivis de plusieurs rinçages avec de l'eau distillée stérile et séchés séparément sur papier filtre stérile.

Chaque fragment a été déposé aseptiquement dans des boîtes de pétri contenant le milieu King B. Les observations ont été effectuées 24 à 72 heures après incubation à 27 °C.

Pour l'étude de la dynamique des populations bactériennes, un dénombrement bactérien a été effectué pour les plantes cultivées sous serre. A cet effet, nous avons adopté la procédure de dénombrement suivante :

- A la fin de la culture ; les racines intactes des plantes échantillonnées sont découpées de la partie aérienne et débarrassées de l'excès du sol adhérent. 1g de racine est pesé précisément et mis dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile (10^{-1}).

- Après homogénéisation, et à partir de cette dilution, une série de dilutions successives au $10^{\text{ème}}$ ont été réalisées avec de l'eau distillée stérile, jusqu'à la dilution 10^{-7} .

- Des ensemencements ont été effectués avec les dilutions 10^{-3} , 10^{-5} et 10^{-7} . Une quantité de 0.1 ml de chaque dilution est ensemencée sur la surface de la boîte de Pétri sur le milieu King B, avec 3 répétitions pour chaque dilution.

- Après incubation 24 à 48 heures à 27°C, le dénombrement des colonies a été effectué, les résultats sont exprimés en CFU/g, il s'agit de la moyenne de nombre de colonies comptées sur les trois dilutions.

- La même procédure de dénombrement a été réalisée pour 1g du sol de la rhizosphère de chaque plante échantillonnée.

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

Concentration de la solution mère = Nombre de colonies / Volume x Dilution

2.3 Expérimentation en plein champs

L'essai en plein champs a été conduit dans une parcelle nue de la station expérimentale du département d'Agronomie (Université de Blida).

Dans cette expérimentation, trois souches de *Pseudomonas fluorescens* (CHAO, S20 et P64) ont été étudiées en interaction avec deux souches de *Rhizobium* sp. (R₁ et R₂).

Les inoculats bactériens ont été préparés selon la procédure déjà décrite (expérimentation sous serre).

2.3.1 Inoculation bactérienne

Après la désinfection et le trempage des semences de la fève, durant toute une nuit dans de l'eau distillée stérile, ces dernières ont été enrobées avec une patte de tourbe imbibée avec l'inoculum bactérien selon la désignation des traitements concernant les souches de *Pseudomonas fluorescens*. Les graines enrobées ont été semées en plein champs, selon le dispositif expérimental et après un arrosage effectué la veille du semis.

L'inoculation avec les deux souches de *Rhizobium* a été réalisée 10 jours après le semis. Deux rappels de bactérisation ont été effectués après 30 jours et après 45 jours du semis.

L'irrigation a été assurée manuellement, à l'aide d'arrosoir, quotidiennement, et particulièrement en périodes sèches.

2.3.2 Dispositif expérimental

Avant le semis, la parcelle d'essai a été labourée en sec à l'aide d'une charrue à disque et a subi un passage du cover crop, pour assurer un maximum d'homogénéité et de régularité du lit de semence.

Nous avons utilisé un dispositif en blocs aléatoires complets avec trois répétitions, composés de 12 lignes correspondant aux 12 traitements étudiés.

La fève a été semé à 4 à 5 cm de profondeur et distant de 15 à 20 cm environ, en lignes espacées de 1 m pour éviter d'éventuelles contaminations racinaires entre les plants des différents traitements. Chaque ligne comporte 15 répétitions (Figure 2.9).

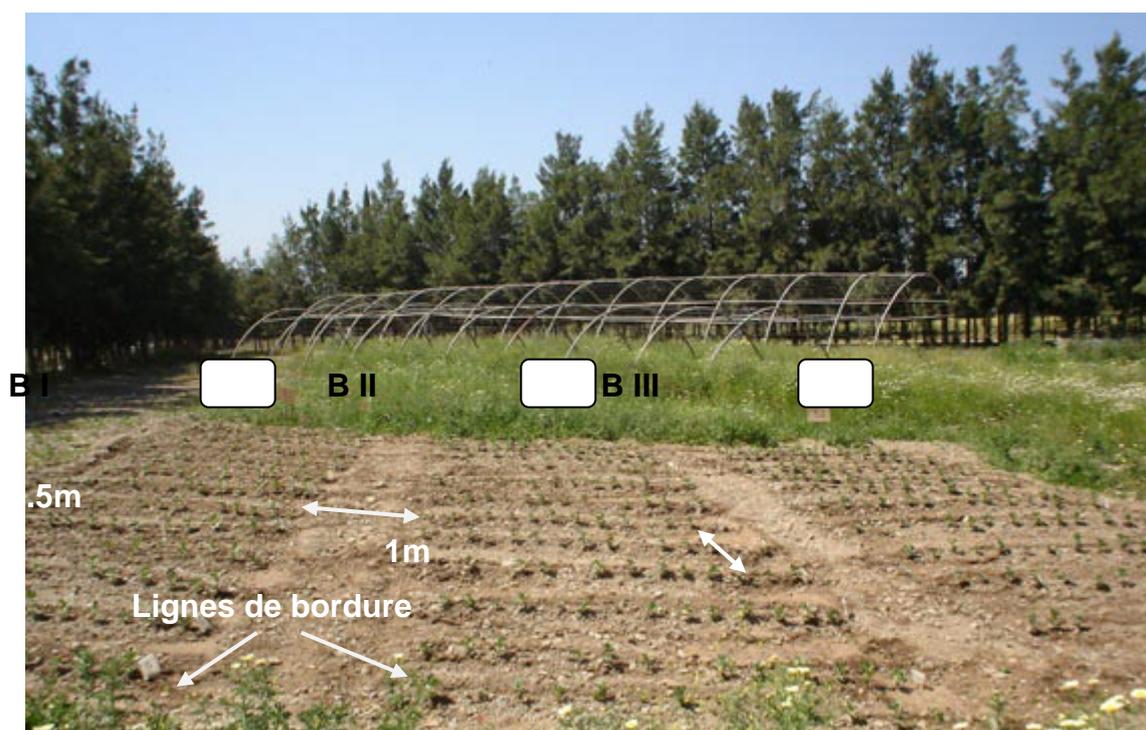


Figure 2.10 : Dispositif expérimental de l'essai en plein champs.

Les mêmes traitements étudiés dans l'expérimentation sous serre, sont appliqués en plein champs (CF. 2.2.3).

2.4 Evaluation de la phytostimulation

Afin d'évaluer les effets de la bactérisation sur la phytostimulation des plantes cultivées sous serre et en plein champs, nous avons mesuré les paramètres de croissance relatifs au développement de la partie aérienne et racinaire. Ces paramètres ont été évalués à deux périodes différentes : première période (P1), après 30 jours du semis, et deuxième période (P2) après 45 jours du semis.

2.4.1 Taux de levée

Durant la première période, la cinétique de croissance des plantes cultivées sous serre a été estimée, en mesurant la hauteur des plants deux fois par semaine. Ce paramètre a été étudié sur quatre semaines.

2.4.2 Hauteur finale des tiges et longueur des racines

Ce paramètre a été étudié en P1 et en P2 pour les plants cultivés sous serre, et qu'en P2 pour les plants cultivés en plein champs. L'estimation de la longueur des deux parties, aérienne et racinaire, a été effectuée sur des plants arrachés et débarrassés des substrats de chaque bloc du dispositif expérimental.

2.4.3 Poids frais et sec de la biomasse aérienne et des racines

Ce paramètre a été évalué au prélèvement pour les plants sous serre (P1 et P2) et en plein champs (P2). Les plants récoltés sont préalablement débarrassés du sol adhérent, les deux parties, aérienne et racinaire, sont séparées et pesées immédiatement, puis étiquetées avant dessiccation. La température de l'étuve est portée à 80°C et la durée de séjour de l'échantillon retenu correspond à 72 heures (jusqu'au poids sec constant).

2.4.4 Nombre de nodules

Le nombre de nodules par plant est comptabilisé en plein floraison pour les deux essais. La partie racinaire de chaque plant est soigneusement débarrassée du substrat adhérent afin de dénombrer les nodules développés sur les racines.

2.4.5 Matière azotée totale

La teneur en azote totale (par 100g de matière sèche) exprimée en matière azotée totale (MAT) des échantillons est mesurée par la méthode de KJELDAHL [385].

2.4.5.1 Minéralisation

L'opération s'effectue sur un échantillon de 2g qu'on introduit dans un matras de 250 ml en ajoutant 2g de catalyseur (Appendice C) et 20ml d'acide sulfurique pur ($d = 1.84$).

Le matras est porté sur un support d'attaque et chauffé jusqu'à décoloration du liquide ou obtention d'une couleur verte stable.

Après refroidissement, on ajoute peu à peu, avec précaution 200 ml d'eau distillée en agitant et en refroidissant sous un courant d'eau.

2.4.5.2 Distillation

50 ml du contenu du matras sont traversés dans l'appareil distillateur (Büchi). Dans un bécher destiné à recueillir le distillat, on met 20 ml de l'indicateur (Appendice C).

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

1 ml d'H₂SO₄ (1N) \longrightarrow 0.014 g (d'N)

1 ml d'H₂SO₄ (N/20) \longrightarrow 0.0007 g (d'N)

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

X: descente de la burette (en ml).

Y : poids de l'échantillon de départ.

A : volume de la prise d'essai.

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

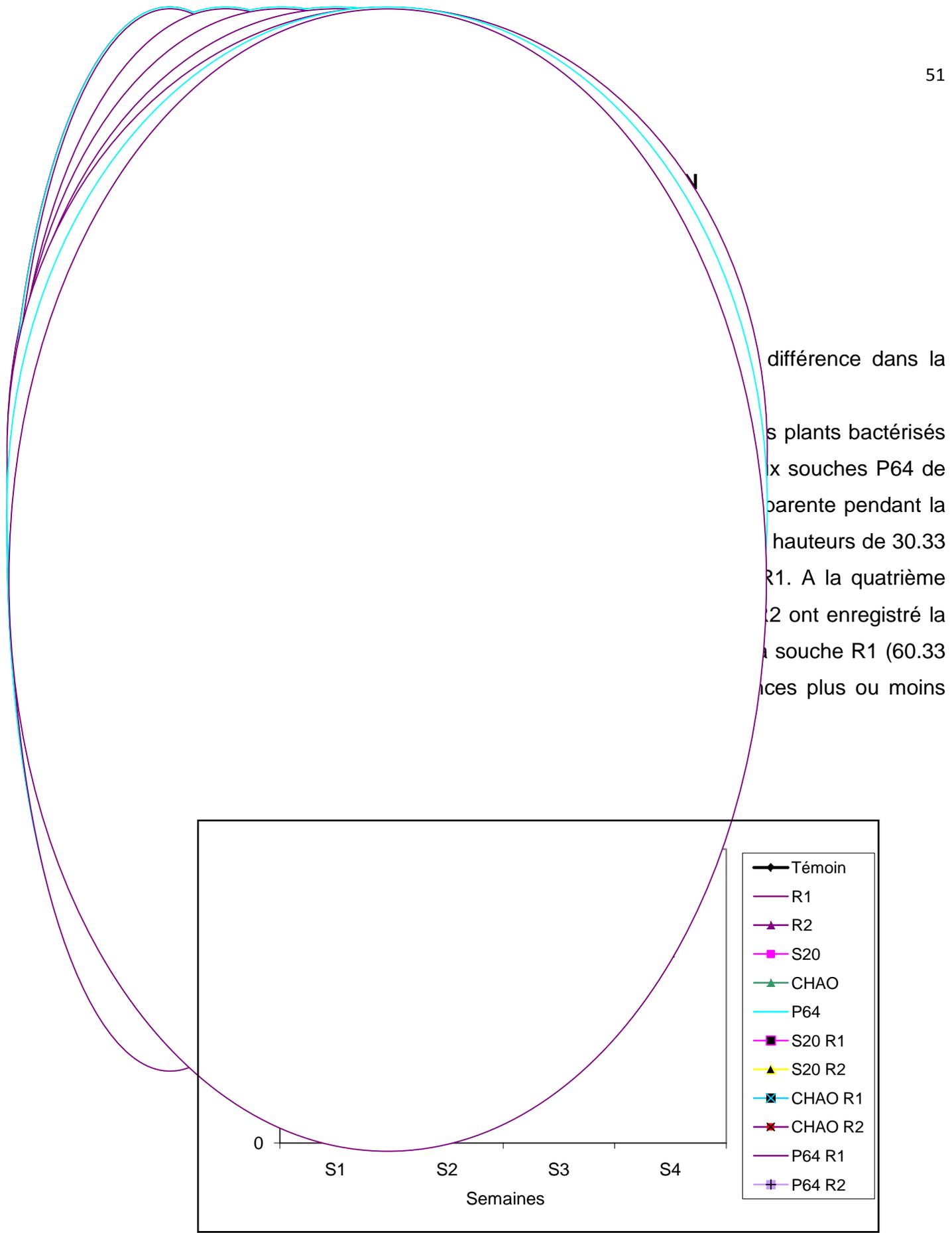


Figure 3.11 : Evolution des hauteurs des tiges en fonction du temps.

3.1.1.2 Partie aérienne

- **Hauteur des tiges et poids frais de la partie aérienne**

L'analyse de la variance ne révèle pas de différence significative pour la hauteur des tiges et le poids frais de la partie aérienne (Appendice D).

- **Poids sec de la partie aérienne**

Pour le poids sec, les meilleures performances ont été enregistrés chez les plants bactérisés par la combinaison des souches P64 et R1 qui a révélé les poids les plus élevés avec une valeur maximale de 4.24 g, comparativement au témoin qui n'a enregistré que 2.93 g. Les autres interactions entre les souches S20 et CHAO avec les deux souches de Rhizobium R1 et R2 ont montré des poids légèrement supérieurs à celui du témoin (Tableau 3.6).

Tableau 3.6 : Hauteur des tiges (cm), poids frais et poids sec (g) de la partie aérienne.

	Témoin	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Hauteur	58.73	68.33	61.68	59.33	59.12	61.70	60.45	62.13	66.13
	± 4.66*	± 6.06	± 2.50	± 6.84	± 5.51	± 6.82	± 3.32	± 4.40	± 4.28
Poids frais	33.53	39.20	35.23	36.62	33.10	35.56	33.15	34.83	38.40
	± 3.52	± 7.92	± 4.21	± 2.02	± 2.52	± 5.81	± 2.34	± 3.50	± 1.25
Poids sec	2.93	3.52	3.58	3.48	3.12	3.50	3.23	3.60	4.24
	± 0.24 (b)**	± 0.74 (ab)	± 0.46 (ab)	± 0.45 (ab)	± 0.31 (b)	± 0.67 (ab)	± 0.24 (ab)	± 0.14 (abc)	± 0.39 (a)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de

Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.1.3 Partie racinaire

- **Longueur des racines**

Les différentes mesures des longueurs racinaires révèlent une différence significative entre les plants bactérisés par la souche R1 avec une longueur de 35.97 cm par rapport au témoin qui présente 29.42 cm. Les longueurs racinaires enregistrées au niveau des autres interactions ne montrent pas une augmentation significative par rapport aux témoins (Tableau 3.7).

- **Poids frais et poids sec de la partie racinaire**

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une augmentation des poids frais et sec de la partie racinaire entre les différentes interactions. Pour le poids frais, la meilleure performance a été obtenue chez les plants bactérisés par l'interaction des souches P64-R2 avec un poids de 11.67 g, suivie de l'interaction S20-R2 avec un poids de 10.84 g, tandis que le témoin n'a présenté que 9.18 g (Tableau 3.7).

Comparativement au témoin, l'interaction CHAO-R1 présente le meilleur poids sec racinaire avec une valeur de 1.43 g. Une légère augmentation des valeurs en poids sec a été enregistrée chez les autres interactions (Figure 3.11, Tableau 3.7).



Figure 3.12 : Racines des plants bactérisés par l'interaction P64-R2 et des plants non bactérisés.

Tableau 3.7 : Longueur des racines, poids frais et poids sec de la partie racinaire.

	Témoïn	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Longueur	29.42	35.97	30.80	31.22	31.30	28.82	26.98	29.38	30.68
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0.93* (b)**	3.61 (a)	3.71 (b)	2.36 (b)	2.71 (b)	1.72 (b)	1.07 (b)	2.25 (b)	3.59 (b)
Poids frais	9.18	8.86	8.84	8.09	10.84	8.21	7.68	9.04	11.67
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0.56 (abc)	2.00 (abc)	1.19 (abc)	1.36 (bc)	2.86 (ab)	1.45 (bc)	1.13 (bc)	1.02 (abc)	1.49 (a)
Poids sec	0.38	1.26	1.27	0.89	0.63	1.43	0.97	0.99	1.32
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0.09 (d)	0.36 (ab)	0.26 (ab)	0.20 (bcd)	0.26 (cd)	0.38 (a)	0.28 (abc)	0.12 (ab)	0.24 (ab)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de

Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.2 Nombre de nodules

Le nombre de nodules estimé chez les plants des différents traitements bactérisés mis en évidence une meilleure nodulation par rapport aux témoins respectifs.

Le nombre maximal de nodules a été produit par les plants bactérisés avec la combinaison des souches P64-R2 qui présentent une moyenne de 90.80 nodules, contre 34.47 nodules produit chez les plants non bactérisés (Figure 3.12, Tableau 3.8).

3.1.3 Teneur en matière azotée totale (MAT%)

Le dosage de la matière azotée totale chez les plants bactérisés avec les différentes souches révèle une meilleure teneur en azote. Chez les plants traités avec l'interaction P64-R2 la teneur en matière azotée est de 21.29 %, suivie par les interactions CHAO-R2 avec un taux de 19.02 % et P64-R1 avec 17.91%, alors que le témoin n'a enregistré que 14.82 % (Tableau 3.9).

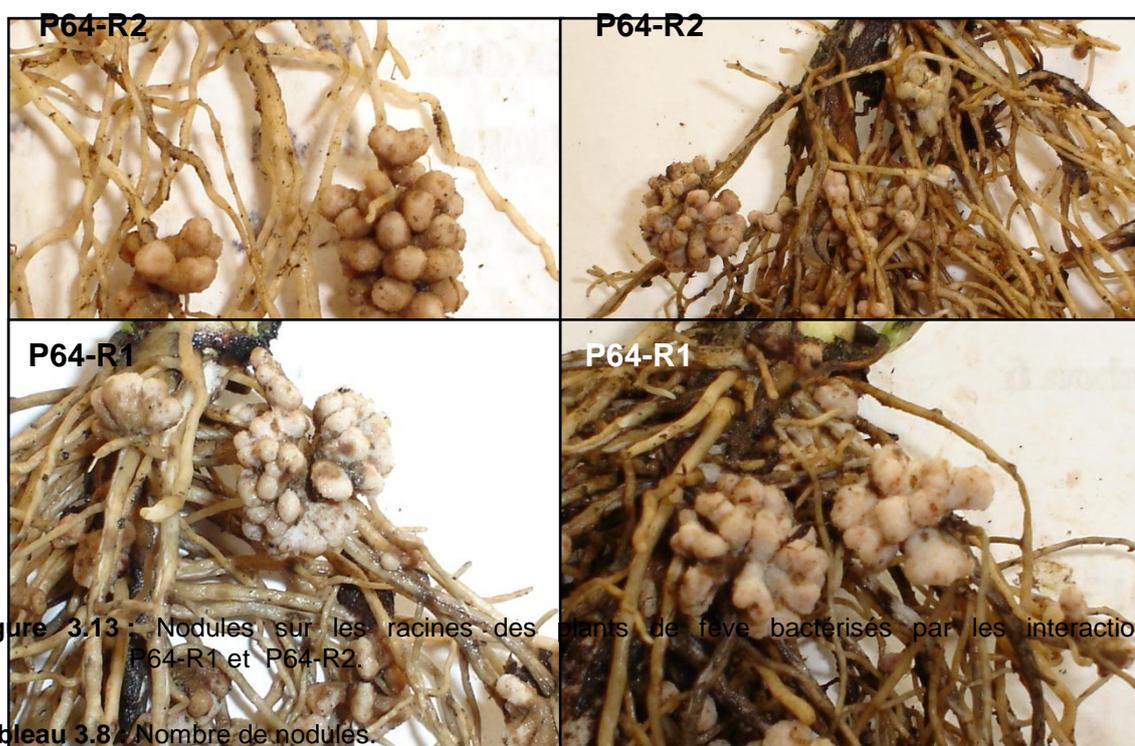


Figure 3.13 : Nodules sur les racines des plants de fève bactérisés par les interactions P64-R1 et P64-R2.

Tableau 3.8 : Nombre de nodules.

	Témoïn	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
	34.47	64.67	91.67	67.09	83.02	62.59	77.24	82.42	90.80
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Nombre de nodules	10.35*	6.25	1.84	3.70	7.13	0.94	4.21	5.67	6.17
	(e)**	(c)	(c)	(bc)	(ab)	(c)	(abc)	(ab)	(a)

(*) : Ecarts types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de

Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

Tableau 3.9 : Teneur matière azotée totale (MAT%).

	Témoïn	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Teneur en azote	14.82	16.26	15.48	16.27	14.79	14.94	19.02	17.91	21.29
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.90*	0.95	1.02	1.39	1.04	0.56	0.71	0.89	0.90
	(c)**	(c)	(c)	(c)	(c)	(c)	(b)	(b)	(a)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de

Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.4 Estimation des gains

3.1.4.1 Paramètres de croissance

Les gains obtenus révèlent que l'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* et les souches de *Rhizobium* sp. a influencé positivement la biostimulation de la croissance végétale.

Une certaine fluctuation a été enregistrée dans les différentes interactions étudiées ; en effet la souche P64 a induit des gains appréciables au niveau des différents paramètres étudiés, notamment en interaction avec la souche R2 de *Rhizobium* sp., où les gains étaient de 247.36 % en poids sec de la partie racinaire, de 44 % en poids sec de la partie aérienne, et de 27.12 % en poids frais de la partie racinaire. L'interaction de cette souche (P64) avec la souche R1 de *Rhizobium* sp. a induit un taux d'inhibition de -1.52 % pour le dernier paramètre (Figures 3.13, 3.14).

La meilleure performance de la souche CHAO a été enregistrée au niveau de son interaction avec la souche R1 ; induisant un gain de 276.31 % en poids sec de la partie racinaire, tandis que ce gain diminue jusqu'à 155.26 % en interaction avec la souche R2 (Figures 3.13, 3.14).

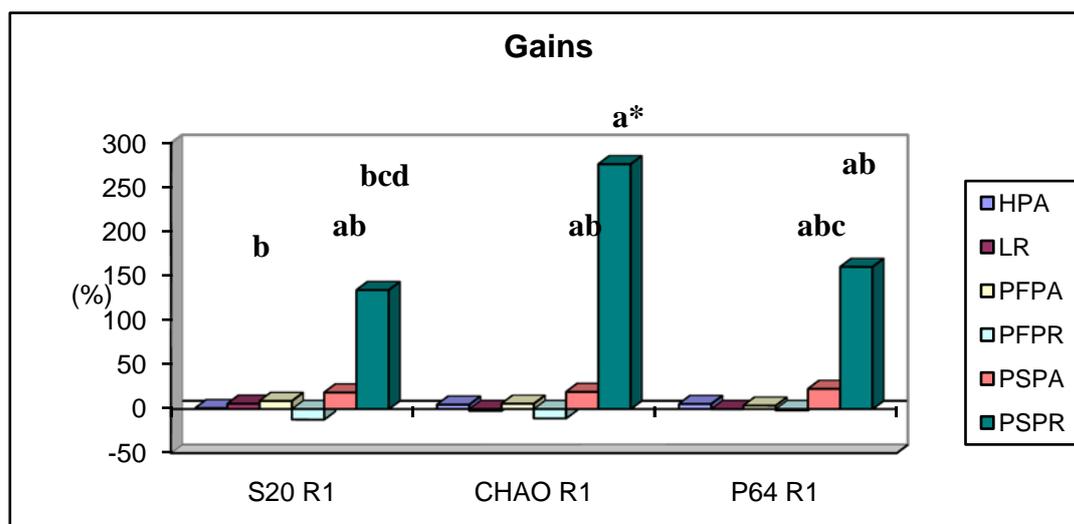


Figure 3.14 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et la souche de *Rhizobium* sp. R1.

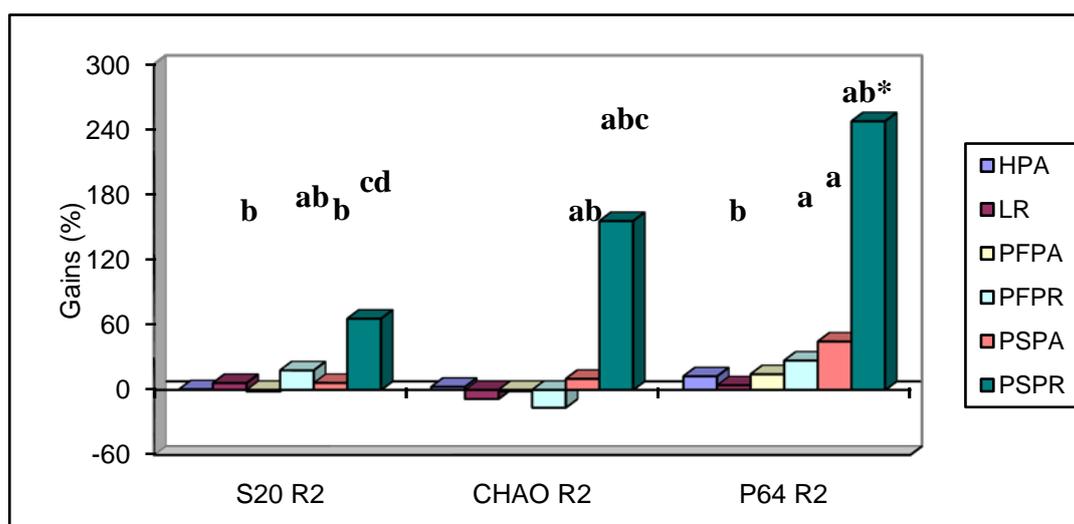


Figure 3.15 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et la souche de *Rhizobium* sp. R2.

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

LR : Longueur racinaire.

PFPA : Poids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids sec de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie racinaire.

3.1.4.2 Nombre de nodules

Les valeurs obtenues montrent que l'effet de l'interaction est plus notable sur le nombre de nodules produit par les plants associés aux *Pseudomonas* et *Rhizobium* sp. a la fois. Ceci est nettement noté avec la souche P64 où nous avons

obtenu des gains appréciables de 139.1 % et de 163.41 % en interaction respectivement avec les souches R1 et R2. Le meilleur taux de gain (141.33 %) a été obtenu dans l'interaction des souches S20 et R2 (Figure 3.15).

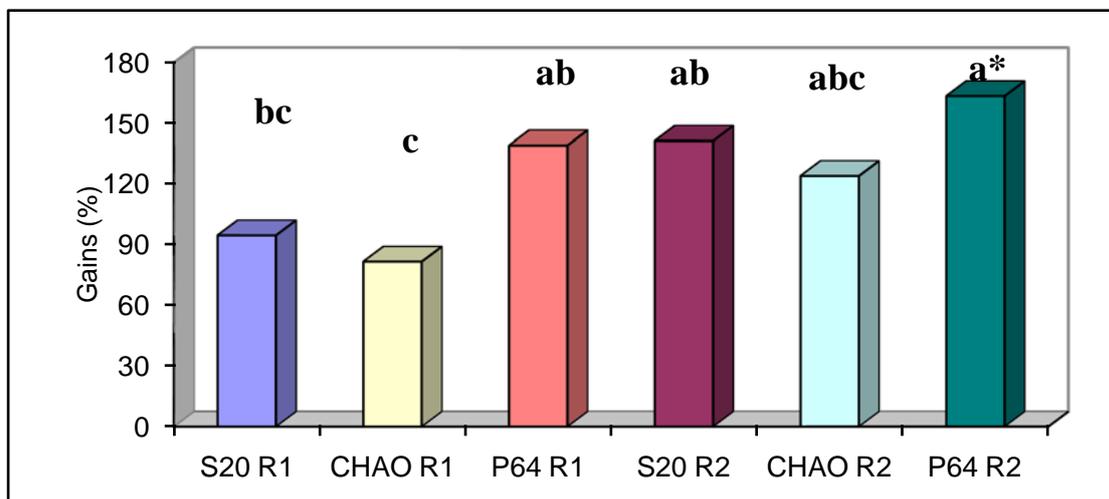


Figure 3.16 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.4.3 Teneur en matière azotée totale (MAT%)

Le dosage de la matière azotée totale montre que les meilleurs teneurs en azote ont été obtenus dans la bactérisation associant les souches P64 et R2, en induisant un gain de l'ordre de 43.65 % par rapport aux témoins (Figure 3.16).

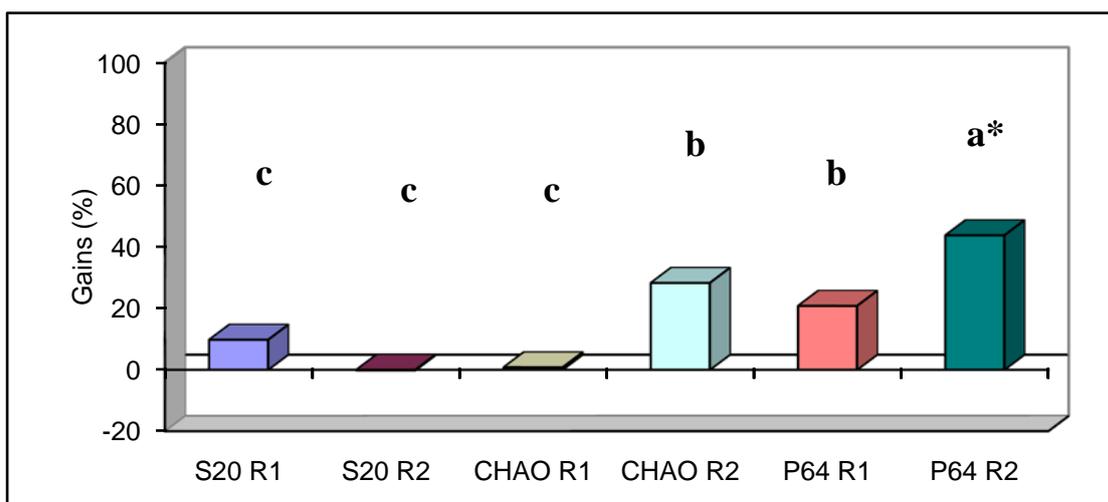


Figure 3.17 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.5 Evaluation de la phytostimulation en deux différentes périodes

Les paramètres de croissance étudiés sur les plants sous serre ont été évalués à deux périodes différentes, correspondant respectivement, aux mensurations réalisées après 30 jours du semis (P1), et après 45 jours du semis (P2).

3.1.5.1 Hauteur des tiges et longueur des racines

D'après les résultats obtenus pour la hauteur des tiges, aucune différence significative entre les traitements étudiés n'a été enregistrée pendant la première période. Cependant, ces différences deviennent significatives durant la deuxième période, où nous avons enregistré les hauteurs les plus élevées. Chez les plants bactérisés avec la combinaison des souches P64 et R2, la hauteur était de 77.60 cm, et dans le cas de la souche P64 ; elle est de 77.47 cm, comparativement au témoin qui n'a enregistré que 67.13 cm (Tableau 3.10).

Concernant la longueur des racines, les différentes mesures effectuées durant la première période montrent une différence significative entre les traitements étudiés. La valeur maximale (32.00 cm) a été enregistrée chez les plants bactérisés par la souche R1. Nous avons constaté pendant cette période que les autres interactions

Tableau 3.10 : Hauteur des tiges et longueur des racines en centimètre (cm).

		Témoïn	R1	R2	S20	CHAO	P64	S20-R1	S20-R2	CHAO-R1	CHAO-R2	P64-R1	P64-R2
Hauteur des tiges (cm)	Période 1 (J30)	50.33	60.33	48.83	51.00	49.67	50.17	48.00	48.50	49.67	45.17	49.67	54.67
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		7.19*	7.09	1.95	3.53	6.28	6.89	7.14	7.68	8.14	3.14	3.15	6.48
	Période 2 (J45)	67.13	76.33	74.67	69.93	71.20	77.47	70.67	69.73	73.73	75.73	74.60	77.60
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1.59 (b)**	6.44 (a)	3.45 (a)	2.79 (ab)	9.13 (ab)	6.51 (a)	8.12 (ab)	4.11 (ab)	7.07 (ab)	4.22 (a)	6.21 (a)	1.96 (a)
Longueur des racines (cm)	Période 1 (J30)	28.17	32.00	24.67	25.17	24.17	22.83	29.17	29.33	26.50	20.83	23.50	27.83
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.97 (ab)	4.79 (a)	3.87 (c)	2.88 (c)	1.65 (c)	4.40 (c)	3.51 (ab)	1.90 (a)	2.69 (b)	0.49 (c)	3.43 (c)	3.43 (ab)
	Période 2 (J45)	30.67	39.93	36.93	33.60	33.47	36.93	33.27	33.27	31.13	33.13	35.27	33.53
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1.01 (c)	3.10 (a)	4.40 (ab)	3.83 (b)	0.33 (b)	4.40 (b)	1.28 (b)	3.84 (b)	0.39 (b)	1.61 (b)	0.94 (ab)	4.53 (b)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

bactériennes, ainsi que les traitements bactérisés avec chaque souche indépendamment, ont présenté tous des valeurs inférieures par rapport aux témoins.

En deuxième période, la meilleure performance (39.93 cm) a été obtenue chez les plants bactérisés par la souche R1 par rapport au témoin qui a présenté une longueur de 30.67 cm (Tableau 3.10).

3.1.5.2 Poids frais et poids sec de la partie aérienne

L'estimation des poids frais et sec de la partie aérienne a révélé des effets notables de phytostimulation et des différences significatives entre les traitements étudiés, notamment à la deuxième période.

Dans la première période, aucune différence significative en poids frais n'a été révélée entre les différents traitements. Durant la deuxième période, la valeur maximale (51.83 g) a été obtenue dans le cas de l'interaction P64-R2, alors que le témoin n'a enregistré que 39.27 g en poids frais (Tableau 3.11).

Concernant le poids sec, les résultats obtenus ne révèlent pas une différence significative durant la première période. Ces différences deviennent significatives pendant la deuxième période où l'interaction P64-R2 a induit le poids le plus élevé (5.55 g) ; comparativement au témoin (3.17 g). Les autres interactions ont présenté des poids supérieurs par rapport à leurs témoins respectifs (Tableau 3.11).

3.1.5.3 Poids frais et poids sec de la partie racinaire

Les résultats obtenus en poids frais et en poids sec de la partie racinaire, ont montré qu'il existe une différence significative entre les traitements étudiés dans les deux périodes.

Pour le poids frais, et durant les deux périodes, les meilleures valeurs ont été obtenues avec les plants non bactérisés, avec un poids de 6.97 g pour la première période, et 39.27 g pour la deuxième période (Tableau 3.12).

En ce qui concerne le poids sec, les interactions CHAO-R1 et P64-R2 ont induit les poids les plus élevés avec respectivement 1.46 g et 1.34 g. Les plants bactérisés séparément par les souches R1 et R2 ont enregistré des poids légèrement supérieurs.

Tableau 3.11 : Poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie aérienne.

		Témoïn	R1	R2	S20	CHAO	P64	S20-R1	S20-R2	CHAO-R1	CHAO-R2	P64-R1	P64-R2
Poids frais (g)	Période 1 (J30)	27.79	32.70	22.54	26.87	25.68	19.94	23.39	23.42	24.84	18.82	21.38	24.97
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		2.16*	9.58	2.56	2.89	5.51	3.84	3.00	2.20	9.18	3.26	3.77	1.09
	Période 2 (J45)	39.27	45.69	47.91	44.43	42.51	49.41	49.85	42.78	46.27	47.48	48.28	51.83
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		5.14 (c)**	8.06 (c)	6.14 (c)	5.13 (bc)	5.85 (c)	8.02 (bc)	1.09 (b)	3.32 (bc)	0.19 (b)	1.74 (b)	4.06 (ab)	1.64 (a)
Poids sec (g)	Période 1 (J30)	2.68	3.03	2.31	2.52	2.48	1.89	2.25	2.46	2.52	1.98	2.32	2.93
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.33	0.97	0.62	0.61	0.52	0.66	0.52	0.29	0.93	0.28	0.07	0.19
	Période 2 (J45)	3.17	4.01	4.86	4.40	4.71	4.89	4.70	3.77	4.49	4.48	4.88	5.55
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.21 (c)	0.65 (b)	0.38 (ab)	0.69 (ab)	0.80 (ab)	0.47 (ab)	0.49 (ab)	0.40 (bc)	0.50 (ab)	0.26 (ab)	0.20 (ab)	0.59 (a)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

Tableau 3.12 : Poids frais et poids sec en gramme (g) de la partie racinaire.

							S20-R1	S20-R2	CHAO-R1	CHAO-R2	P64-R1	P64-R2	
Poids frais (g)	Période 1 (J30)	6.97	6.14	4.11	2.90	3.03	1.66	3.53	9.48	3.80	2.73	2.91	5.18
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.88*	3.15	1.33	0.41	0.13	0.42	1.18	4.01	1.90	1.01	1.19	2.32	
	(a)**	(ab)	(ab)	(bc)	(b)	(c)	(b)	(a)	(b)	(bc)	(bc)	(a)	
Poids sec (g)	Période 2 (J45)	39.27	11.58	13.56	14.23	14.80	13.39	12.65	12.21	12.62	12.64	15.16	18.17
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	5.14	0.39	1.33	1.84	0.49	2.52	1.79	2.07	1.29	1.47	1.08	0.35	
	(a)	(d)	(cd)	(c)	(c)	(cd)	(cd)	(cd)	(cd)	(cd)	(c)	(b)	
Poids sec (g)	Période 1 (J30)	0.26	1.51	1.48	0.42	0.49	0.71	0.77	0.44	1.46	0.82	0.83	1.34
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.14	0.28	0.39	0.40	0.31	0.24	0.18	0.19	0.41	0.16	0.12	0.29	
	(d)	(a)	(a)	(c)	(c)	(bc)	(bc)	(c)	(a)	(b)	(b)	(a)	
Poids sec (g)	Période 2 (J45)	0.50	1.02	1.06	0.70	0.95	1.02	1.00	0.82	1.41	1.12	1.15	1.31
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.05	0.50	0.14	0.14	0.38	0.31	0.26	0.37	0.45	0.41	0.14	0.24	
	(c)	(a)	(a)	(bc)	(b)	(ab)	(b)	(b)	(a)	(ab)	(ab)	(a)	

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

Durant la deuxième période, les meilleures performances ont été obtenues avec les plants bactérisés par l'interaction CHAO-R1 avec 1.41 g, et l'interaction P64-R2 avec 1.31 g, comparativement au témoin qui n'a enregistré que 0.50 g en poids sec (Tableau 3.12).

3.1.5.3 Teneur en matière azotée totale (MAT%)

Le dosage de la matière azotée totale montre une différence significative entre les traitements étudiés durant les deux périodes. Des teneurs très appréciables en azote ont été obtenues durant la première période chez les plants traités par la souche P64 (17.59 %), et par les interactions P64-R2 (19.73 %), P64-R1 (17.49 %), et l'interaction CHAO-R2 avec 17.22 %.

Pendant la deuxième période, l'interaction P64-R2 a induit la teneur la plus élevée (22.85 %), suivie par l'interaction CHAO-R2 avec 20.82 %, comparativement au témoin avec une teneur de 16.24 % (Tableau 3.13).

3.1.6 Estimation des gains

- **Paramètres de croissance**

En général, les interactions étudiées révèlent des gains appréciables en croissance végétale, notamment durant la deuxième période.

Pendant la première période, des taux d'inhibition en hauteur des tiges ont été enregistrés chez tous les traitements étudiés, à l'exception de l'interaction P64-R2 ayant montré un gain de 8.62 %, et la souche R2 qui a induit le maximum de gain 19.86 % (Tableau 3.14, Figure 3.17).

En longueur racinaire, le meilleur gain (13.59 %) a été noté chez les plants bactérisés par la souche R1. Les autres traitements ont induit des inhibitions en longueur racinaire, allant jusqu'à -26.05 % avec l'interaction CHAO-R2.

Concernant le poids frais de la partie aérienne, toutes les interactions ont présenté des taux d'inhibition en poids frais. Le meilleur gain (9.32 %) en poids sec a été obtenu avec l'interaction P64-R2 par rapport aux témoins.

Tableau 3.13 : Teneur en matière azotée totale (MAT%).

		Témoïn	R1	R2	S20	CHAO	P64	S20-R1	S20-R2	CHAO-R1	CHAO-R2	P64-R1	P64-R2	
Teneur en azote total (%)	Période 1 (J30)	13.40	15.42	14.46	13.65	13.38	17.59	16.31	13.66	13.73	17.22	17.49	19.73	
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		1.14* (c)**	1.10 (b)	0.85 (b)	0.96 (c)	0.93 (c)	1.43 (a)	1.98 (b)	1.01 (c)	0.67 (c)	0.80 (a)	0.97 (a)	1.30 (a)	
	Période 2 (J45)	16.24	17.11	16.49	15.53	15.53	18.53	16.23	15.92	16.14	20.82	18.34	22.85	
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.84 (b)	1.02 (ab)	1.37 (ab)	0.76 (b)	1.12 (b)	1.59 (ab)	0.95 (ab)	1.29 (b)	0.56 (b)	0.78 (a)	1.02 (ab)	0.58 (a)	

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

Tableau 3.14 : Taux d'inhibition ou de gains (%) des différents paramètres étudiés en P1 (après 30 jours) et en P2 (après 45 jours).

Paramètres		R1	R2	S20	CHAO	P64	S20 R1	S20 R2	CHAO R1	CHAO R2	P64 R1	P64 R2
Hauteur de la partie aérienne	P1	19.86	-2.98	1.33	-1.31	-0.31	-4.62	-3.63	-1.31	-10.25	-1.31	8.62
	P2	13.70	11.02	4.17	6.06	15.40	5.27	3.87	9.83	12.81	11.12	15.59
Longueur des racines	P1	13.59	-12.42	-10.64	-14.19	-18.95	3.54	4.11	-5.92	-26.05	-16.57	-1.20
	P2	30.19	20.41	9.55	3.45	9.12	8.47	8.47	1.49	8.02	14.99	9.32
Poids frais de la partie aérienne	P1	17.66	-18.89	-3.13	-7.59	-28.24	-15.83	-15.72	-10.61	-32.27	-23.06	-10.14
	P2	16.34	22.00	13.13	8.25	25.82	26.94	8.93	17.82	20.90	22.94	31.98
Poids frais de la partie racinaire	P1	-11.90	-41.03	-58.39	-56.52	-76.18	-49.35	36.01	-45.48	-60.83	-58.24	-25.68
	P2	-70.51	-65.46	-63.76	-62.31	-65.90	-67.78	-68.90	-67.86	-67.81	-61.39	-53.73
Poids sec de la partie aérienne	P1	13.05	-13.80	-5.97	-7.46	-29.47	-16.04	-8.20	-5.97	-26.11	-13.43	9.32
	P2	26.49	53.31	38.80	51.93	54.25	48.26	18.92	41.64	44.51	53.94	75.07
Poids sec de la partie racinaire	P1	480.76	469.23	61.53	88.46	173.07	196.15	69.23	461.53	215.38	219.23	415.38
	P2	104	112	40	90	104	100	64	182	124	130	162
Teneur en matière azotée totale	P1	15.07	7.91	1.86	-0.14	31.26	21.71	1.94	2.46	28.50	30.52	47.23
	P2	5.35	1.53	-4.37	-4.37	14.10	-0.06	-1.97	-0.61	28.20	12.93	40.70

Le meilleur gain (36.01 %) en poids frais de la partie racinaire a été enregistré par l'interaction S20-R2. Les souches R1 et R2, ainsi que les interactions CHAO-R1 et P64-R2 ont induit les meilleures performances en poids sec, avec un maximum (480.76 %) chez la souche R1 (Tableau 3.14, Figure 3.17).

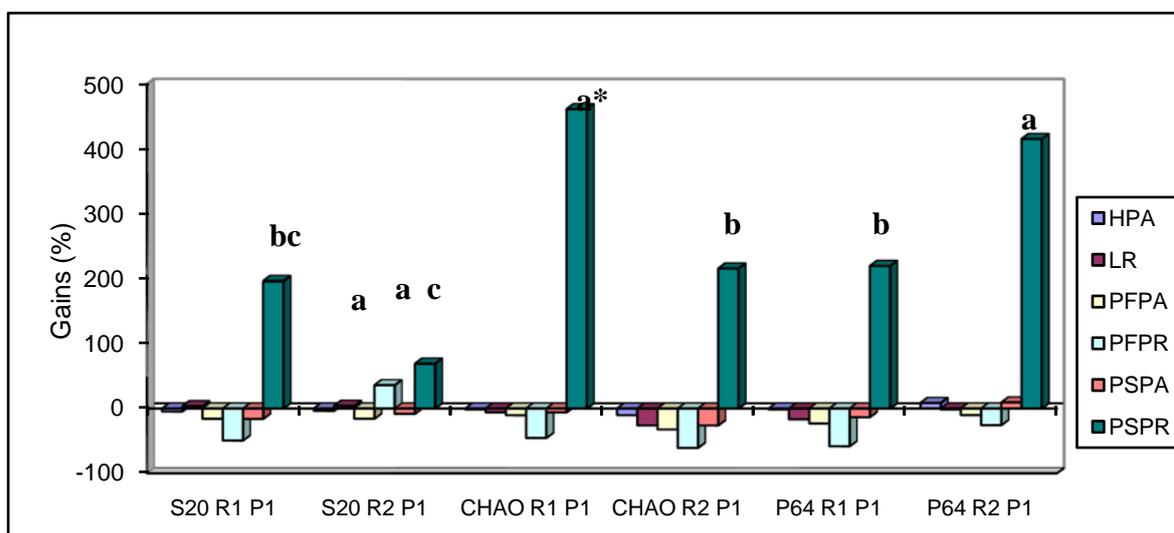


Figure 3.18 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R2 et R2), en première période (P1).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

LR : Longueur racinaire.

PFPA : Poids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids sec de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie racinaire.

Durant la deuxième période, le meilleur gain (15.59 %) en hauteur des tiges a été obtenu par l'interaction P64-R2 par rapport aux témoins, tandis que la meilleure performance en longueur racinaire a été enregistrée chez la souche R1 (30.19 %).

L'interaction de la souche P64 avec la souche R2 a induit les meilleures performances en poids frais et en poids sec de la partie aérienne, avec des gains respectifs de 31.98 % et de 75.07 % par rapport à leurs témoins.

La même constatation a été observée au niveau des gains en poids sec de la partie racinaire, où nous avons obtenu un gain de 162 % chez l'interaction P64-R2, tandis qu'aucun traitement n'a enregistré des valeurs supérieures aux témoins concernant le poids frais de la partie racinaire (Tableau 3.14, Figure 3.18).

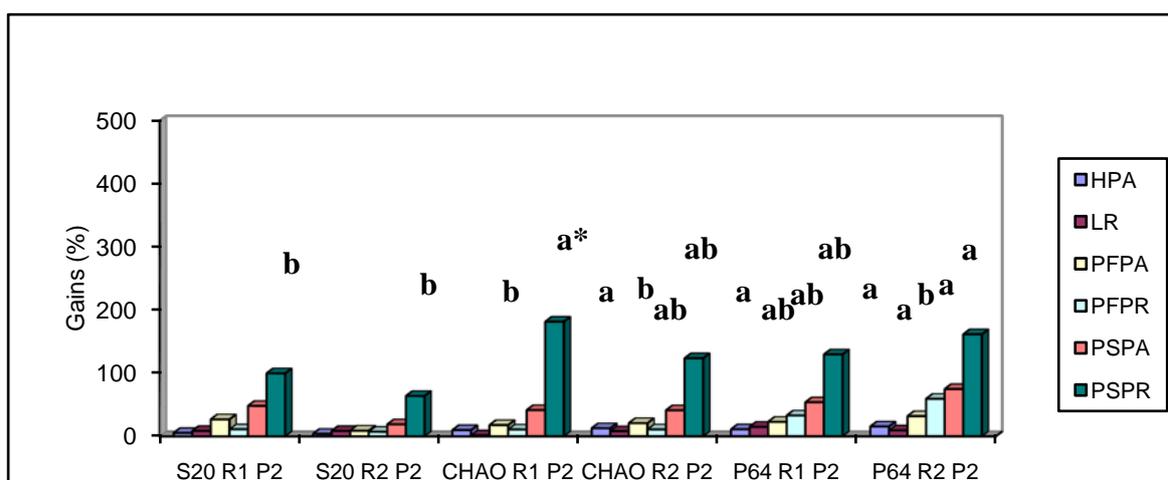


Figure 3.19 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R2 et R2), en deuxième période (P2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

HPA : Hauteur de la partie aérienne.

LR : Longueur racinaire.

PFPA : Poids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids sec de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie racinaire.

• Teneur en matière azotée totale (MAT%)

L'effet de l'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* et les souches de *Rhizobium* sp. est plus notable sur la teneur en azote total durant les deux périodes.

En première période, les résultats obtenus montrent que l'interaction de la souche P64 avec la souche R2 a enregistré les meilleures teneurs avec un gain de 47.23 %, suivie par les interactions P64-R2 et CHAO-R2 avec 30.52 % et 28.50 % (Tableau 3.14, Figure 3.19).

Les mêmes constatations ont été observées en deuxième période avec une supériorité de l'interaction CHAO-R2 (28.20 %) (Tableau 3.14, Figure 3.20).

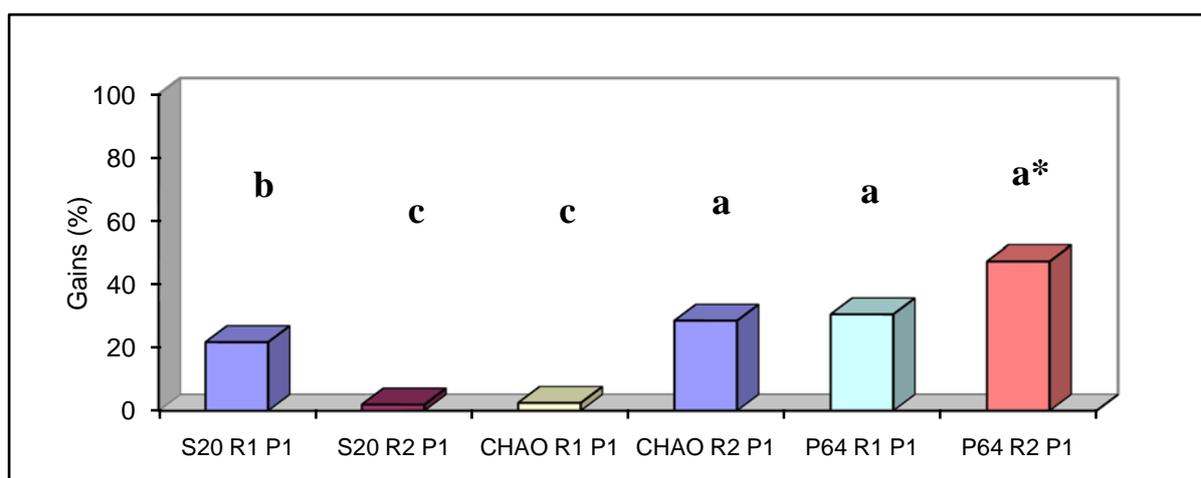


Figure 3.20 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2), en première période (P1).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

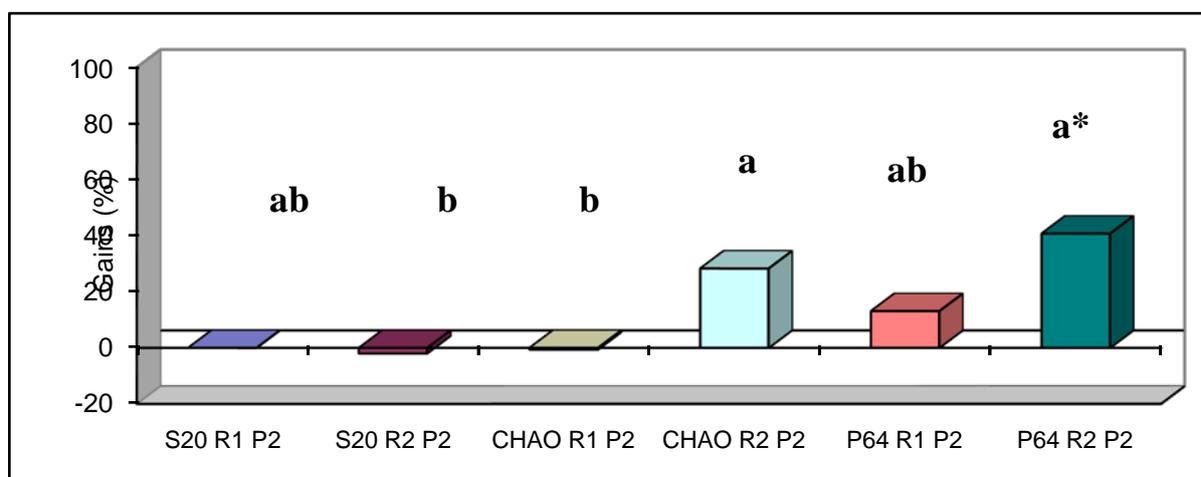


Figure 3.21 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2), en deuxième période (P2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.1.8 Colonisation rhizosphérique

Les observations effectuées sur les fragments racinaires, après 72 heures d'incubation à 27°C, révèlent la présence de nombreuses colonies de *Pseudomonas fluorescens* autour de ces fragments (Figure 3.21).

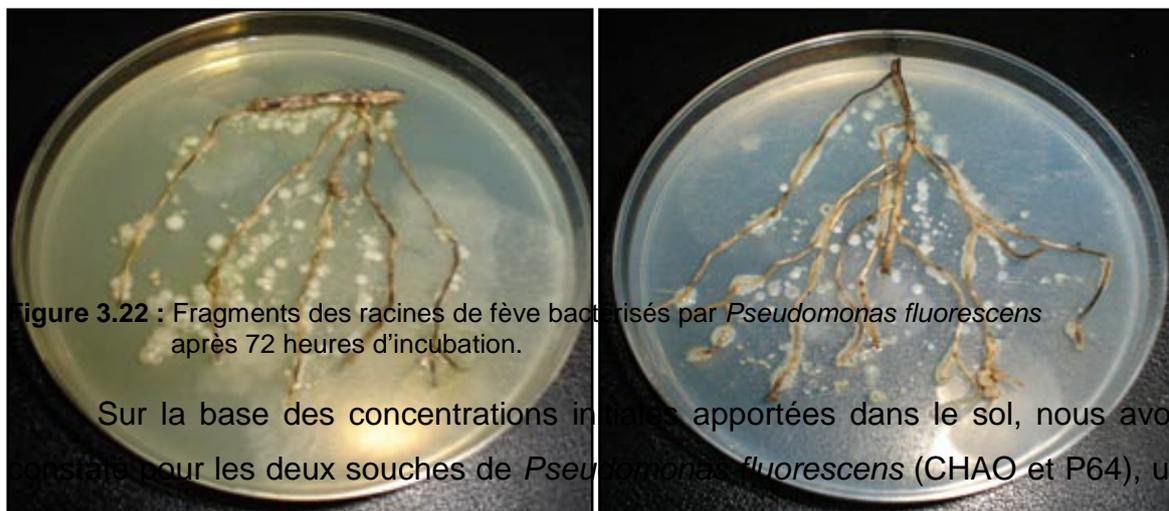


Figure 3.22 : Fragments des racines de fève bactériésés par *Pseudomonas fluorescens* après 72 heures d'incubation.

Sur la base des concentrations initiales apportées dans le sol, nous avons constaté pour les deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (CHA0 et P64), une nette évolution de leurs populations bactériennes avec des degrés de colonisation appréciables (Figure 3.22). En effet, nous avons noté des concentrations bactériennes très élevées, de l'ordre de 10^9 CFU/g de sol, par rapport à la

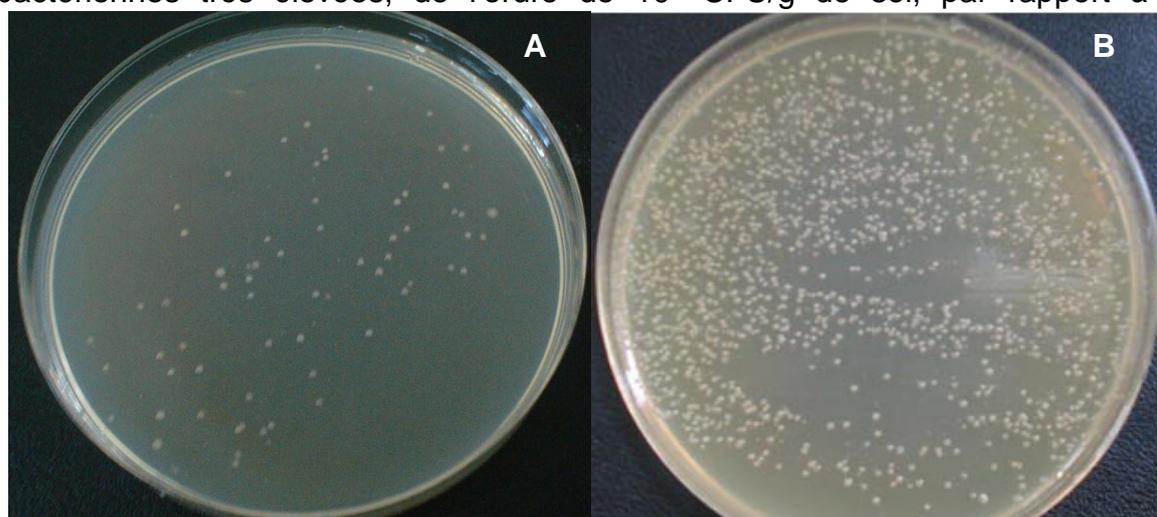


Figure 3.23 : Boîtes présentant des colonies bactériennes sur le milieu King B après 24 heures d'incubation.

A : boîte contenant plus de 30 colonies.

B : boîte contenant moins de 600 colonies.

concentration initialement introduite qui est de l'ordre de 10^7 CFU/g de sol. La plus forte progression (1.28×10^9 CFU/d de sol) a été obtenue avec la souche P64 (Tableau 3.15, Figure 3.23).

Tableau 3.15 : La concentration finale des bactéries (CFU/g de sol) dans la rhizosphère de la fève.

Traitements	Concentration initiale (CFU/g)	Concentration finale (CFU/g)	Log CFU/g
CHAO	10^7	9.07×10^8	8.95
P64	10^7	1.28×10^9	9.10

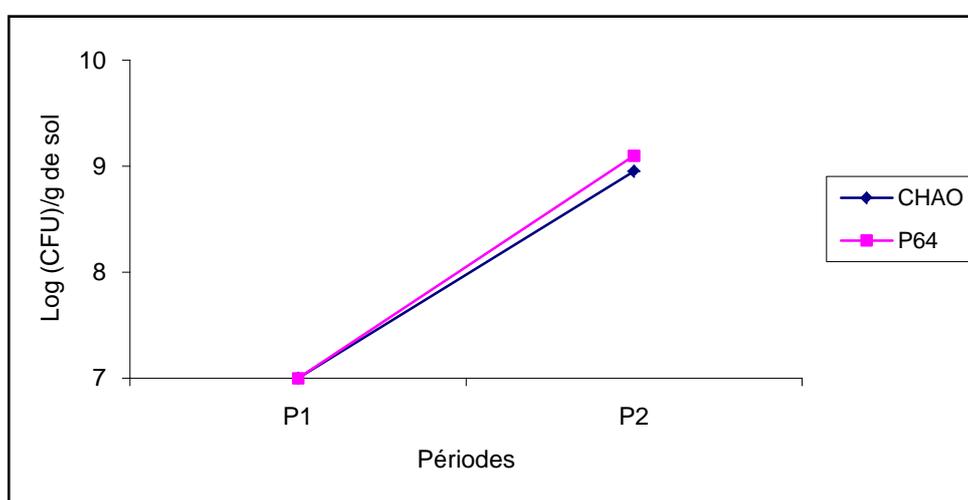


Figure 3.24: Evolution des populations bactériennes en fonction du temps dans la rhizosphère de la fève.

3.1.9 Discussion

Dans notre étude, les effets de la coinoculation avec les souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. sur l'amélioration de la croissance végétale, la nodulation et la fixation d'azote ont été évalués. L'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. a amélioré significativement le développement de la biomasse aérienne et racinaire, le nombre de nodules et la teneur en matière azotée totale.

Dans notre expérimentation, les effets de la biostimulation sont mieux perceptibles avec la souche P64 sur la plupart des paramètres de croissance,

surtout la hauteur des tiges où nous avons noté l'accroissement le plus rapide, le poids sec du système racinaire, la nodulation et la teneur en matière azotée. Les gains obtenus suite à la bactériation avec la souche CHAO sont moins importants et enregistrent même des taux d'inhibition.

En comparant la souche CHAO aux souches locales P64 et S20, nous avons noté des situations d'inhibition de la croissance exercées par cette souche. La souche CHAO, considérée comme souche modèle dans les expériences de ce genre, produit des métabolites certes bénéfiques, à l'exemple des acides organiques et des hormones de croissance telle que l'AIA [386], mais cette souche est incapable d'utiliser le précurseur de l'éthylène, l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC), elle est donc dépourvue d'activité ACC désaminase qui peut diminuer la concentration de l'éthylène produit par la plante et permet l'élongation racinaire [159].

Dans les travaux réalisés par Chennaoui [33], il a été aussi signalé quelques cas d'inhibition de la croissance par la souche CHAO, comparée aux mêmes souches de *Pseudomonas fluorescens* utilisées dans notre travail. Par rapport aux souches isolées en Algérie, en l'occurrence P64 (isolée à Mitidja) et S20 (isolée à Ghardaïa), le problème de l'origine géographique peut être relaté, du moment que la souche CHAO est une souche de référence isolée en Suisse. En effet l'influence de l'origine écologique sur l'expression et la stabilité des effets bénéfiques des souches bactériennes a été signalée par plusieurs auteurs [387, 238], étant donné que les souches les plus performantes sont d'origine locale.

Dans des expériences en conditions contrôlées, la promotion des paramètres de croissance et de rendement de diverses plantes cultivées en réponse à l'inoculation avec des PGPR ont été rapportés [388, 389, 390].

Plusieurs études ont montré que les PGPR peuvent exercer des effets bénéfiques sur différentes cultures d'intérêt agronomique telles que l'haricot [391], le coton [392], le soja, l'arachide [393] et le maïs [390]. L'inoculation des semences avec des *Pseudomonas fluorescens* a amélioré significativement la nodulation, la teneur en azote, la croissance et le rendement de plusieurs cultures [387, 389,

390].

La bactérisation avec les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2) a montré des effets bénéfiques considérables sur la promotion de la croissance, notamment sur la nodulation et la fixation symbiotique de l'azote. Ces rhizobactéries génèrent la formation des nodules [283], permettant de fixer l'azote atmosphérique (N₂) et le réduire en ammoniacque (NH₄OH) assimilable par la plante [394]. De même, les Rhizobiums profitent de cette interaction par l'acquisition de molécules carbonées produites par la plante par voie de photosynthèse [395].

Des études récentes suggèrent que la combinaison des souches de *Pseudomonas fluorescens* avec des *Rhizobium* sp. pourrait être plus efficace que l'application de ces souches indépendamment [396]. Plusieurs études ont été réalisées sur la pratique de la coinoculation des légumineuses par les PGPR [397, 398, 399, 400], dans la plupart des cas, aucun effet négatif de l'interaction PGPR-Rhizobium symbiotique sur la croissance des plantes n'a été rapporté.

L'effet de la coinoculation avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* sur les performances symbiotiques des rhizobia nodulatrices est fortement influencé par les caractéristiques génétiques des associés symbiotiques, la spécificité et la compatibilité avec la plante hôte, ainsi que les conditions de culture [401, 402, 403]

La coinoculation avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. a influencé positivement les paramètres de croissance des plantes, la nodulation, l'activité de nitrogénase, l'assimilation de l'azote et du phosphore, ainsi que la teneur du sol en phosphore assimilable. La possibilité de produire un inoculant commun contenant un mélange d'un PGPR (*Pseudomonas* Kb-133), et des espèces de *Rhizobium* efficaces pour la nodulation et le rendement de l'haricot à graines noires, a été récemment démontrée [16, 17].

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

semences peut créer des conditions favorisant la germination. Il a été démontré par Latour et *al.* [22] que l'analyse de distribution des isolats bactériens en fonction de leur origine a fourni l'évidence que la plante a une influence sélective sur les populations des souches de *Pseudomonas fluorescens*. Ces dernières diffèrent d'un sol non cultivé à l'autre et d'une rhizosphère à l'autre selon l'espèce végétale.

La coinoculation avec *Pseudomonas fluorescens* 2137 a augmenté la colonisation de *Bradyrhizobium japonicum* sur les racines de soja ainsi que le nombre de nodules produit, tandis que la coinoculation avec *Pseudomonas fluorescens* WCS365 avait des effets opposés [404]. La même étude suggère également que la colonisation des racines par *Pseudomonas fluorescens* 2137 pourrait augmenter la nodulation par le dégagement des substances de croissance qui stimulent l'infection par *Bradyrhizobium japonicum*.

La stimulation de la croissance et de la nodulation a été également rapportée chez le pois chiche (*arietinum de cicer*), en utilisant des souches de *Pseudomonas* qui sont antagonistes aux champignons phytopathogènes (*Aspergillus* sp., *Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidrematum* et *Rhizoctonia solani*) en coinoculation avec *Mesorhizobium* [405]. Ceci a eu comme conséquence la formation de 68 à 115% de nodules supplémentaires, comparée à l'inoculation simple par *Mesorhizobium*. L'effet bénéfique sur la matière sèche de pousse a été traduit par la production d'HCN par les souches de *Pseudomonas* [405].

L'étude menée par Buddrus et *al.* [406] a mis en évidence les possibilités de retrouver des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans toutes les parties racinaires, particulièrement dans la zone du chevelu racinaire et dans les cellules corticales des racines (endophytiques).

Dans notre étude, nous avons noté des gains significatifs, permettant de dire que les souches de *Pseudomonas fluorescens* étudiées présentent une adaptation par une bonne colonisation racinaire. Il semble que l'adhésion des bactéries à la racine, en leur conférant un avantage sélectif, constitue une composante importante de la colonisation racinaire. Par ailleurs l'utilisation de souches aptes à coloniser l'endorhizosphère de la plante pourrait permettre de maintenir la densité des bactéries pendant une période plus longue [407, 408, 409].

L'adhérence de ces rhizobactéries s'explique par la présence des pili qui facilitent leur déplacement [410]. Simons et al. [411], démontrent l'inefficacité de la colonisation rhizosphérique en utilisant des mutants non mobiles de *Pseudomonas putica* WCS 358.

3.2 Essai de phytostimulation en plein champs

3.2.1 Partie aérienne

- **Poids frais et poids sec de la partie aérienne**

Selon les résultats obtenus, la différence est significative entre les traitements étudiés pour le poids frais de la partie aérienne. La meilleure performance (31.96 g) a été enregistrée chez les plants bactérisés par l'interaction des souches P64-R2, par rapport au témoin qui n'a enregistré que 16.62 g (Tableau 3.16).

L'analyse de la variance ne montre aucune différence significative entre les traitements étudiés et le témoin pour le poids sec de la partie aérienne (Appendice D).

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

	Témoin	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Poids frais	16.62	22.51	21.13	19.46	22.50	26.09	27.26	25.20	31.96
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	7.32* (b)**	3.07 (ab)	1.75 (ab)	3.83 (ab)	0.71 (ab)	5.61 (ab)	3.15 (ab)	0.53 (ab)	7.78 (a)
Poids sec	3.31	3.40	4.46	3.72	5.01	5.06	4.36	5.07	3.97
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.67	0.41	0.92	1.12	1.56	1.64	0.16	0.89	0.00

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.2.2 Partie racinaire

- **Longueur des racines**

Les plants bactérisés par l'interaction des souches P64-R2 ont enregistré la meilleure performance (13.93 cm) en longueur racinaire, comparativement à un témoin qui a enregistré 9.38 cm (Tableau 3.17).

- **Poids frais et poids sec de la partie racinaire**

Les résultats obtenus pour le poids frais et le poids sec de la partie racinaire, ne révèlent pas de différences significatives entre les traitements étudiés (Tableau 3.17).

Tableau 3.17 : Longueur des racines, poids frais et poids sec de la partie racinaire.

	Témoïn	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Longueur	9.38	10.33	9.67	12.07	12.20	12.47	12.60	13.20	13.93
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1.11* (d)**	3.61 (bcd)	1.14 (cd)	0.93 (abcd)	0.61 (abcd)	0.92 (abcd)	0.88 (abc)	1.11 (ab)	0.31 (a)
Poids frais	2.59	2.96	3.36	2.57	3.30	2.87	3.67	4.31	4.49
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.43	0.27	1.13	0.48	0.34	0.57	0.27	0.68	0.68
Poids sec	0.59	0.57	0.52	0.41	0.53	0.57	0.62	0.55	0.41
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.26	0.08	0.18	0.05	0.04	0.02	0.10	0.02	0.13

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.2.3 Nombre de nodules

Au terme de notre expérimentation, le nombre de nodules comptabilisé chez les différents traitements révèle une meilleure nodulation chez les plants bactérisés par rapport aux témoins. La valeur maximale en nombre de nodules (50.60 nodules) a été obtenue chez les plants bactérisés avec l'interaction P64-R1. La bactérisation avec la combinaison P64-R2 a induit aussi, un bon niveau de nodulation, de l'ordre de 43.80 nodules, relativement au témoin qui n'est que de 17.53 nodules (Figure 3.24, Tableau 3.18).

3.2.4 Teneur en matière azotée totale (MAT %)

Les résultats obtenus d'après le dosage de la matière azotée totale, révèlent une meilleure teneur en azote chez les traitements bactérisés par la souche P64 en interaction avec la souche R2 (23.19 %), alors que le témoin n'a enregistré que 13.53 % (Tableau 3.19).



Figure 3.25 : Nodules sur les racines des plants de fève bactérisés par l'interaction P64-R1.

Tableau 3.18 : Nombre de nodules.

	Témoin	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Nombre de nodules	17.53 ± 2.24* (e)**	22.13 ± 2.69 (de)	35.80 ± 9.61 (bcd)	29.27 ± 4.54 (cde)	40.13 ± 5.53 (abc)	26.20 ± 4.24 (cde)	32.20 ± 1.89 (bcd)	50.60 ± 4.62 (a)	43.80 ± 10.41 (ab)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

Tableau 3.19 : Teneur en matière azotée totale (MAT %).

	Témoïn	R1	R2	S20		CHAO		P64	
				R1	R2	R1	R2	R1	R2
Teneur en azote	13.53 ± 0.89* (d)**	19.09 ± 0.49 (b)	20.29 ± 0.79 (b)	14.96 ± 1.60 (cd)	15.52 ± 2.08 (cd)	19.72 ± 0.36 (b)	20.89 ± 0.17 (ab)	17.91 ± 0.44 (ab)	23.19 ± 0.73 (a)

(*) : Ecart types issus des quinze répétitions.

(**) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls à $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.2.5 Estimation des gains

3.2.5.1 Paramètres de croissance

L'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* avec les souches de *Rhizobium* sp. a influencé positivement la biostimulation de la croissance des plants cultivés en plein champs.

En effet, la bactérisation des plants avec la souche P64 a révélé des taux plus ou moins appréciables au niveau des différents paramètres étudiés, particulièrement en interaction avec la souche R2 de *Rhizobium*, où elle a induit des gains, en poids frais de la partie aérienne de 92.29 %, et en longueur racinaire de 48.5 %. Il est à noter un taux d'inhibition de -30.5 % en poids sec de la partie racinaire (Figure 3.25).

3.2.5.2 Nombre de nodules

L'effet de l'interaction a été constaté également sur le nombre de nodules produit par les plants bactérisés, où nous avons obtenus d'importants gains chez les plants traités par la souche P64, avec 188.64 % et de 149.85 % en interaction respectivement avec les souches R1 et R2 de *Rhizobium* (Figure 3.26).

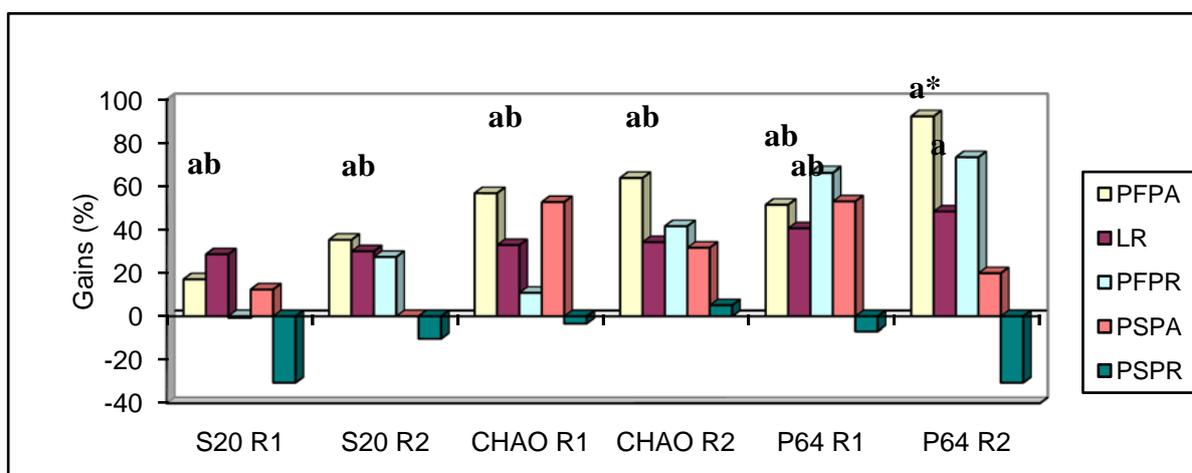


Figure 3.26 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

LR : Longueur racinaire.

PFPA : Poids frais de la partie aérienne.

PFPR : Poids sec de la partie aérienne.

PFPR : Poids frais de la partie racinaire.

PSPA : Poids sec de la partie racinaire.

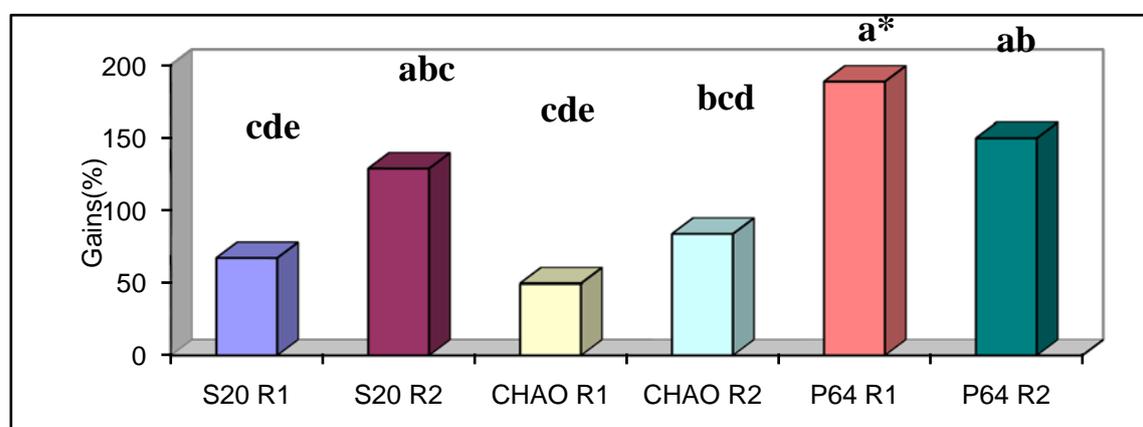


Figure 3.27 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.2.5.3 Teneur en matière azotée totale

Les meilleures teneurs en azote ont été obtenues par l'interaction de la souche P64 avec la souche R2 avec un gain de 71.39 % par rapport aux témoins (Figure 3.27).

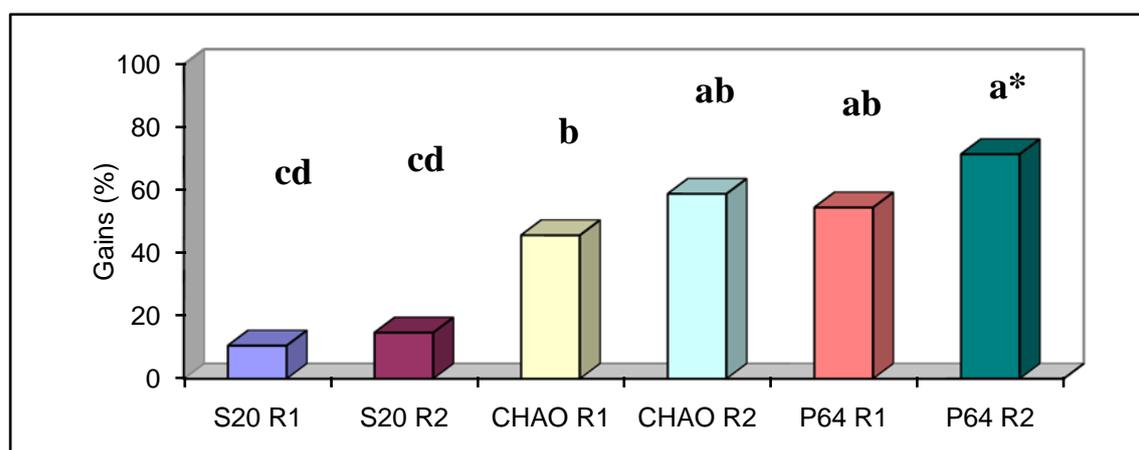


Figure 3.28 : Gains obtenus des interactions entre les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO et P64) et les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2).

(*) : Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman – Keuls au seuil $\alpha = 5\%$ (Analyse ANOVA).

3.2.6 Discussion

D'après Bai et *al.* [412] et dans le but de la sélection des souches bactériennes favorisant la croissance des plantes, les évaluations finales doivent être faites sur le terrain. L'environnement de champ est généralement beaucoup plus stressant, et les conditions sur le terrain sont plus complexes que celles dans un environnement contrôlé. Ainsi, les résultats obtenus, en expérience sous serre, ne reflètent pas nécessairement le potentiel pour la promotion de croissance des plantes sur le terrain.

Pour notre étude, la coinoculation de la fève avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. a provoqué une augmentation importante de la croissance des semis en serre, ce qui a nécessité une analyse des taux relatifs de croissance pour évaluer la performance des semis au champ.

L'interaction des souches a augmenté considérablement la croissance des tiges et des racines, la nodulation, ainsi que la fixation d'azote, la réaction de la croissance était spécifique selon les interactions étudiées.

D'après nos résultats, la coinoculation en plein champ avec les différentes souches bactériennes a enregistré des gains considérables par rapport aux témoins non bactérisés, ces gains sont moins importants comparativement à ceux enregistrés suite à l'inoculation sous serre. Cependant, nous avons obtenu en général des gains considérables en teneur en matière azotée totale chez les plantes cultivées sur terrain. Ces gains sont plus importants que ceux enregistrés dans l'expérimentation sous serre, malgré le plus grand nombre de nodules produits dans cet essai. Ceci peut être expliqué par la disponibilité et la forte teneur en azote atmosphérique en plein champ que sous serre.

Dans des expériences sur terrain, la coinoculation avec *Pseudomonas fluorescens* a amélioré significativement la croissance et le rendement des cultures telles que le blé [413, 414], le maïs [415], le soja [416] et la betterave sucrière [417]. Une telle amélioration des paramètres de croissance due à l'inoculation des rhizobactéries (PGPR), peut être attribuée à l'augmentation de la fixation d'azote, la production des hormones de croissance, la solubilisation du phosphore, l'oxydation du sulfure, l'augmentation de la disponibilité de nitrates, la production extracellulaire d'antibiotiques, d'enzymes lytiques, d'acide hydrocyanique, l'amélioration de la perméabilité racinaire, la compétition pour les nutriments et l'induction de la résistance systémique [418, 19, 419].

Il a été rapporté que la capacité des plantes à produire les phytohormones dont elles ont besoin pour leur croissance peut être empêchée, particulièrement sous des conditions environnementales stressantes (plein champ), dans telles conditions, les plantes dépendent des sources exogènes telles que les phytohormones produites par les rhizobactéries bénéfiques (PGPR) [420].

L'inoculation des plantes avec quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* a eu un effet plus stimulant sur la croissance des plantes dans un sol

non stérile. Abbass et Okon [421] ont présumé que l'AIA et d'autres phytohormones étaient responsables d'une augmentation de la croissance du canola, de la tomate et du blé dans un sol non stérile inoculé avec des souches PGPR. Les auxines produites par ces rhizobactéries peuvent influencer la croissance des plantes, y compris le développement racinaire qui améliore l'absorption d'éléments nutritifs, en augmentant de ce fait la croissance des plantes [422]. Ceci peut impliquer que ces rhizobactéries ont eu une capacité plus concurrentielle de survivre et d'affecter la croissance des plantes inoculées en présence d'une microflore indigène [423].

Kumar *et al.* [424] ont montré par des études sur terrain que la coinoculation du pois avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* et des souches de *Rhizobium* a provoqué une réduction de nombre de pois infectés par *Fusarium oxysporum* cultivés dans des sols infestés, et une amélioration de la croissance des plantes en terme de taille de pousses et de poids sec.

Le mécanisme de promotion de la croissance sur le pois a été étudié en utilisant le 2.4-diacetylphloroglucinol (DAPG) produit par *Pseudomonas fluorescens* et son négatif mutant [425]. Des concentrations élevées de DAPG dans la rhizosphère de pois, suggèrent que ce dernier puisse agir en tant qu'une hormone induisant des changements morphologiques sur la plante et qui peut mener à l'infection et à la nodulation par *Rhizobium*. D'autres travaux ont noté également que l'introduction d'une souche productrice de DAPG dans la rhizosphère de la betterave sucrière cause un changement dans la population de *Pseudomonas fluorescens* indigènes. Ce changement se traduit par une augmentation de la population capable d'assimiler le tryptophane, l'érythritol et l'adonitol, alors que ces trois composés ne sont pas assimilés par l'inoculant. Plus encore, ce changement se fait seulement au niveau du rhizoplan et n'affecte pas les proportions relatives des différents groupes phylogénétiques [426].

Un faible taux de nodulation et une réponse variable à l'inoculation sont principalement attribués aux caractéristiques intrinsèques de la plante hôte, ainsi qu'à la grande sensibilité à d'autres facteurs limitant la nodulation tels que les taux élevés d'engrais azotés utilisés dans l'agriculture intensive, les températures élevées et la sécheresse du sol [82, 415].

La fixation de l'azote atmosphérique peut fortement influencer la croissance de la partie aérienne des légumineuses. L'inoculation avec des *Pseudomonas fluorescens* a augmenté significativement le nombre de nodules. Les exopolysaccharides sont connus par leur influence sur l'infection racinaire et la nodulation [229].

La croissance et l'activité métabolique des *Pseudomonas fluorescens* est plus forte et peut être maintenue pour un plus longtemps dans la rhizosphère que dans le sol environnant [427, 428]. La colonisation de la flore bactérienne dépend de plusieurs caractéristiques tels que la texture du sol, le pH de la rhizosphère, l'écoulement de l'eau dans le sol, l'espèce végétale et le génotype de la plante [429, 430, 22, 431].

Quelques souches isolées de certaines cultures particulières montrent une certaine variation dans l'activité de la promotion de croissance avec d'autres légumineuses, qui peut être dû à différents potentiels de colonisation [432], à leur réponse à la composition d'exsudats racinaires [433], et à la variation des températures saisonnières [434].

Pour avoir une efficacité des PGPR sur le champ, les colonies bactériennes doivent s'établir dans la rhizosphère avec des densités de population suffisantes pour produire un effet bénéfique. Ainsi, des échecs dans des études précédentes de promotion de la croissance ont été souvent corrélés en raison de faibles colonisations racinaires [13].

D'après Shishido et Chamvay [435], l'évaluation de la colonisation des racines par les PGPR a montré que les chutes de populations bactériennes n'étaient pas reliées à la variabilité de la réaction de croissance au champ. Leurs résultats indiquent qu'une fois que la stimulation de la croissance a été induite en serre, le taux relatif de croissance des semis peut augmenter de plus de 100% au champ.

3.3 Comparaison de la phytostimulation sous serre et en plein champ

L'inoculation des plants de fève avec les souches de *Rhizobium* sp. (R1 et R2), et les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO, et P64), ainsi que la coinoculation avec l'interaction des différentes souches, ont influencé considérablement les paramètres de croissance végétale, le nombre de nodules produits sur les racines, ainsi que la teneur en matière azotée totale de la biomasse aérienne des plants cultivés sous serre et en plein champ (Tableau 3.20).

- **Partie aérienne**

La comparaison des résultats, nous a permis de constater que les meilleures performances pour la croissance de la biomasse aérienne, ont été enregistrées chez la souche P64 de *Pseudomonas fluorescens*, notamment en interaction avec la souche R2 de *Rhizobium* sp.

Les résultats obtenus pour le poids frais des plants cultivés en plein champ, sont plus importants que ceux enregistrés sous serre, où nous avons obtenus des gains très appréciables allant jusqu'à 98 % enregistrés chez les plants inoculés par l'interaction P64-R2. Pour les plants cultivés sous serre, les résultats montrent que la meilleure performance a été enregistrée chez la souche R1 (16.91 %) et chez l'interaction P64-R2 (14.52 %). Quelques cas d'inhibition ont été révélés chez les plants bactérisés par les interactions S20-R2 et CHAO-R2.

En ce qui concerne le poids sec, l'interaction P64-R2 a enregistré la meilleure performance avec un gain de 44.70 % chez les plants sous serre, tandis que le meilleur taux en plein champ a été enregistré chez l'interaction P64-R1, avec une valeur supérieure de 53.17 %.

- **Partie racinaire**

L'interaction P64-R2 a induit les meilleures performances en longueur racinaire des plants cultivés en plein champ, avec un gain de 48.05 %. Pour les plants cultivés en pots (sous serre), la plupart des traitements étudiés ont présenté des taux d'inhibition de la longueur racinaire avec un maximum de -8.30 % chez l'interaction CHAO-R2. Le meilleur gain (22.26 %) a été obtenu par la souche R1.

La même constatation a été observée pour le poids frais des racines, où la majorité des traitements sous serre ont provoqué des taux d'inhibition allant de -0.78 % jusqu'à -17.97 %. Tandis qu'un maximum de gain a été induit par l'interaction P64-R2 avec 27.12 %. Des gains plus importants et plus élevés ont été obtenus en plein champs, avec une valeur maximale de 73.35 % enregistrée au niveau de l'interaction P64-R2.

Concernant le poids sec, des taux de gain très appréciables obtenus par les traitements appliqués sous serre, allant jusqu'à 276.31 % chez la combinaison CHAO-R1. Pour les plants cultivés en plein champ, nous avons noté des taux d'inhibition chez la plupart des traitements, allant jusqu'à -30.5 % chez les interactions S20-R1 et P64-R2. Le maximum de gain (37.28 %) a été enregistré chez la souche S20.

- **Nombre de nodules et teneur en matière azotée totale**

L'effet de la souche P64 a été également constaté sur le nombre de nodules produit par les plants bactérisés sous serre et en plein champ, où nous avons obtenus d'importants gains en interaction avec la souche R2 (163.41 %) pour les plants sous serre, et en interaction avec la souche R1 (188.64 %) pour les plants de champ.

Les meilleures teneurs de la biomasse aérienne en matière azotée totale, pour les deux essais, ont été obtenues par les plants bactérisés par la souche P64 avec des gains de 21.86 % et 62.23 % respectivement pour les plants sous serre et en plein champ. Ces gains augmentent considérablement lors de l'interaction de cette souche avec la souche R2 de *Rhizobium*, pour enregistrer des gains de 43.65 % et 71.39 % respectivement sous serre et en plein champ.

Il est à noter que malgré le nombre le plus élevé de nodules produits par les plants bactérisés sous serre par rapport au champ, avec la plupart des souches et des combinaisons bactériennes, la teneur en matière azotée est plus forte chez les plants cultivés en plein champ.

Tableau 3.20 : Taux d'inhibition ou de gains (%) en paramètres de croissance et en nodulation des plants sous serre et en plein champs.

		Poids frais de la partie aérienne	Poids sec de la partie aérienne	Longueur des racines	Poids frais de la partie racinaire	Poids sec de la partie racinaire	Nombre de nodules	Teneur en matière azotée
R1	Sous serre	16.91	20.13	22.26	-3.48	231.17	87.61	9.71
	Plein champs	35.43	2.71	10.12	14.28	-3.39	26.24	41.09
R2	Sous serre	5.07	22.18	4.69	-3.70	234.21	156.94	4.45
	Plein champs	27.13	34.74	3.09	29.72	-11.86	104.23	49.96
S20	Sous serre	6.32	18.08	-0.14	-6.75	47.36	40.81	-1.55
	Plein champs	10.89	11.17	13.75	35.52	37.28	54.42	26.68
CHAO	Sous serre	1.69	22.86	-5.00	-2.83	89.47	113.51	-2.42
	Plein champs	23.10	48.03	32.19	41.31	6.77	87.84	12.93
P64	Sous serre	3.39	15.69	-4.32	-17.97	128.94	129.24	21.86
	Plein champs	39.83	43.08	28.67	43.24	5.08	113.34	62.23
S20-R1	Sous serre	9.21	18.77	6.11	-11.87	134.21	94.63	9.78
	Plein champs	17.08	12.38	28.67	-0.78	-30.5	66.97	10.56
S20-R2	Sous serre	-1.28	6.48	6.39	18.08	65.78	141.33	-0.20
	Plein champs	35.37	51.35	30.06	27.41	-10.16	128.92	14.7
CHAO-R1	Sous serre	6.05	19.45	-2.04	-10.56	276.31	81.57	0.80
	Plein champs	56.97	52.87	32.94	10.81	-3.39	49.45	45.75
CHAO-R2	Sous serre	-1.13	10.23	-8.30	-16.33	155.26	124.07	28.34
	Plein champs	64.01	31.72	34.32	41.69	5.08	83.68	58.75
P64-R1	Sous serre	3.87	22.86	-0.14	-1.52	160.52	139.10	20.65
	Plein champs	51.62	53.17	40.72	66.04	-6.78	188.64	54.39
P64-R2	Sous serre	14.52	44.70	4.28	27.12	247.36	163.41	43.65
	Plein champs	92.29	19.93	48.05	73.35	-30.5	149.85	71.39

3.4 Discussion générale

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) est un groupe de bactéries qui colonisent activement les racines des plantes, en améliorant la croissance et en augmentant le rendement de ces dernières [436]. L'exploitation de ces souches constitue une alternative intéressante pour améliorer la croissance, le développement et la production de plusieurs espèces végétales notamment en conditions contrôlées [377, 437, 438, 404, 23, 25, 439, 27, 28, 406, 30, 32, 33].

Les mécanismes par lesquels les PGPR favorisent la croissance des plantes ne sont pas entièrement compris, mais ils incluent la capacité de produire les phytohormones [415, 390], la fixation non symbiotique d'azote [440, 414], le biocontrôle des microorganismes phytopathogènes par la production de sidérophores, la synthèse des antibiotiques, des enzymes et de composés fongicides [441, 442, 443] et la solubilisation des phosphates minéraux et d'autres éléments nutritifs [444]. En outre le traitement avec les PGPR peut induire la résistance systémique des plantes contre un large éventail de maladies provoquées par des virus, des bactéries, des champignons, et même des insectes, en sensibilisant les plantes pour se défendre contre l'attaque de ces phytopathogènes [445, 446].

La coinoculation avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. a influencé considérablement la croissance des plantes, le nombre de nodules produit, et la fixation de l'azote atmosphérique sous des conditions contrôlées en serre, et non contrôlées en plein champ. Khalid *et al.* [423] ont montré que les réponses de la croissance des plantes à l'inoculation avec des rhizobactéries dépendent du génotype végétal, des souches de PGPR, et des conditions environnementales.

Le développement de la biomasse aérienne et racinaire peut être attribué à la capacité de quelques souches PGPR à la solubilisation du phosphate et la production des substances de croissance telles que les auxines et les cytokinines.

En effet, plusieurs études ont démontré la capacité des *Pseudomonas* spp. fluorescents à la solubilisation du phosphate inorganique et à la minéralisation du phosphate organique grâce à des phosphatases [447, 448, 449]. **10**Chabot *et al.*

[450] ont attribué une croissance positive du maïs inoculé avec des *Pseudomonas* capables de solubiliser le phosphore organique. La solubilisation du phosphore présente un autre facteur d'augmentation du nombre de nodules ainsi que de la fixation d'azote [451], Toro et *al.* [452] ont démontré que grâce à l'azote enrichi (N^{15}), le processus de nodulation et de fixation d'azote augmente dans les plants de la luzerne en parallèle avec l'augmentation du phosphate dans les tissus.

Le rôle des phytohormones comme les auxines et les cytokinines dans l'activation de la division cellulaire et le développement racinaire a été rapporté [453]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents stimulent la croissance végétale par la production des substances de croissance comme l'acide indole-acétique [393], et les cytokinines [454].

Plusieurs études ont observé l'inhibition du processus de nodulation ou de diminution du nombre de nodules par l'éthylène sur différentes cultures de légumineuses comme le soja, l'haricot, le pois et le trèfle [455, 456, 457]. Les *Pseudomonas fluorescens* abaissent les niveaux d'éthylène dans la racine grâce à l'enzyme ACC deaminase (1-aminocyclopropane-1-Acide carboxylique, précurseur de l'éthylène) qui réduit l'association racine-molécule ACC, tout en favorisant l'élongation des racines [458, 459, 58, 460, 455].

Les niveaux de l'ion ferrique à pH neutre dans les conditions d'aérobies sont moins de 10^{-17} M [461], la plupart des micro-organismes répondent à ce stress en produisant des transporteurs de fer appelés les sidérophores. Kloepper *et al.* [134] attribuent à ces sidérophores un rôle d'intermédiaire dans la mobilisation du fer dans la rhizosphère. Les pyoverdines chélatent le Fe^{3+} avec une grande spécificité et servent de transporteurs de l'ion Fe^{3+} à l'intérieur de la cellule microbienne [462, 463, 464]. Ces caractéristiques expliquent en grande partie l'aptitude aux *Pseudomonas* fluorescents à s'installer en nombre et durablement sur et à proximité des racines [465]. Il a été démontré que l'intensité de la synthèse des sidérophores varie selon les souches de *Pseudomonas* fluorescents [128], et que l'affinité pour le fer des sidérophores dépend de leur structure chimique [466, 467, 468].

Les Pyoverdines chélatent efficacement le fer, le rendant moins disponible aux phytopathogènes, et de ce fait, favorisant la croissance des plantes. L'évidence

génétique qui soutient l'hypothèse que les pyoverdines sont impliqués dans la stimulation de la croissance est venue des résultats des expériences dans lesquelles les mutants pyoverdine-négatifs ont perdu la capacité de favoriser la croissance des plantes [167, 469]. Vansuyt *et al.* [470] ont montré que les pyoverdines produits par les *Pseudomonas* spp. fluorescents contribuent de façon active à l'acquisition du fer par les plantes dicotylédones, et que ces pyoverdines sont capables d'extraire le fer des structures minérales des sols. Il a de plus été montré que les pyoverdines de certaines souches pouvaient être utilisés par la plante pour sa nutrition en fer [470]. Ces souches bactériennes possèdent en outre un système de sécrétion de type III (T3SS), système connu pour permettre une interaction cellulaire directe entre la plante et la bactérie [471]. Des essais préliminaires ont montré que la teneur en fer de l'environnement peut influencer l'effet de la bactérie sur la croissance et la santé de la plante en relation avec la synthèse de sidérophores.

L'efficacité des effets bénéfiques des *Pseudomonas fluorescens* dans le champ, dépend d'une colonisation racinaire réussie qui nécessite une bonne compréhension de la localisation, de l'organisation, de l'activité et de la viabilité des colonies bactériennes dans la rhizosphère le long de la racine [472]. Plusieurs facteurs biotiques et abiotiques contribuent au processus de la colonisation par les *Pseudomonas* dans la rhizosphère. Ces facteurs s'étendent du type et de la quantité des exsudats racinaires produits par les plantes, et la capacité des bactéries d'utiliser ces sources pour leur mobilité [473]. Le type et la quantité d'exsudats racinaires sont influencés par l'espèce et l'âge de la plante, la zone d'excrétion [472], ainsi que les conditions environnementales [474]. Ceci peut supprimer ou stimuler la croissance de certaines bactéries, influencer la composition bactérienne en espèce, aussi bien que la proportion de cellules viables et mortes [56, 472].

Selon le type d'exsudats et la zone d'excrétion, Dandurant *et al.* [475], ont observé la formation des colonies bactériennes sur les racines du pois après inoculation avec *Pseudomonas fluorescens* 2-79RN10 et *Pseudomonas fluorescens* 2-79B44. Les colonies ont été localisées uniformément sur la longueur

des parois cellulaires de la racine, bien que la densité bactérienne diminuée vers le bout, jusqu'à absence des bactéries au bout de la racine.

Bloemberg et Lugtenberg [13] ont montré que la compétition et le potentiel de colonisation sont liés à des gènes qui sont impliqués dans la colonisation rhizosphérique. Rainey [476] a décrit une méthode qui a permis l'isolement des gènes de *Pseudomonas fluorescens* qui ont montré des niveaux élevés de l'expression dans la rhizosphère. Cette méthode a identifié 20 gènes qui ont été induits dans la colonisation rhizosphérique. Quatorze gènes ont montré une homologie significative, ils sont impliqués dans l'acquisition des éléments nutritifs et la réponse aux différents stress, six gènes n'ont montré aucune homologie, et sept gènes de l'induction rhizosphérique (*rhi*) ont une homologie pour connaître les gènes non-*Pseudomonas*. La grande capacité de quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* à coloniser la rhizosphère des plantes, a permis son utilisation dans la rhizoremediation [477].

Chin-A-Woeng et al. [174] ont observé que la capacité de colonisation racinaire de certains PGPR est liée au mécanisme impliqué dans le biocontrôle. Le mécanisme d'antibiose exige une colonisation appropriée de la souche impliquée, alors que pour le mécanisme de la résistance induite, un petit nombre de cellules bactériennes pendant une période limitée, peut être suffisant pour obtenir une réponse positive de la plante hôte.

Les modes d'inoculation des PGPR et de *Rhizobium* peuvent avoir comme conséquence des effets variables sur la croissance des légumineuses, ceci peut dépendre de la phase du processus modifiée par PGPR : infection, nodulation ou fixation de l'azote. Ceci a été conclu des résultats prouvant que les souches de PGPR (*P. fluorescens*, *Chryseobacterium balusim* et *Serratia fonticola*) et *Sinorhizobium fredii* ont donné les augmentations les plus significatives sur la croissance et le rendement des plantes quand elles étaient inoculées à différentes heures (PGPR ou *S. fredii* d'abord), l'inoculation au même temps n'a eu aucun effet, ceci est probablement dû à la concurrence entre les souches de PGPR et *S. fredii* [400].

Les résultats de cette étude suggèrent que la sélection simultanée des rhizobactéries promotrices de la croissance et de rendement en expérience sous serre et en plein champ peut être un bon outil de choix de PGPR efficaces, pour des applications biotechnologiques (biofertilisants).

CONCLUSION

Notre travail sur l'étude des effets bénéfiques de quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* a mis en évidence leurs potentialités dans la stimulation de la croissance végétale et de la nodulation, en interaction avec les souches de *Rhizobium*. Des taux de phytostimulation ont atteint des seuils de 50 %, d'où le potentiel phytostimulateur des souches bactériennes sélectionnées.

La phytostimulation exercée par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO, P64) chez la fève s'est traduite par un raccourcissement dans le temps d'émergence des plantules, notamment en interaction avec la souche P64, en plus d'une amélioration de la phytomasse aérienne et racinaire.

L'impact de l'interaction des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sur la stimulation de la nodulation, chez les plantules de fève, a été plus accentué avec l'interaction P64-R2. Des gains très appréciables, en nombre de nodules dépassant le taux de 150 %, ainsi que des gains en matières azotées totales atteignant 70 %.

L'étude de la dynamique des populations bactériennes des souches de *Pseudomonas fluorescens* a mis en évidence leur compétence rhizosphérique, caractérisée par une nette évolution des concentrations bactériennes dans la rhizosphère, estimée à une moyenne de 10^9 CFU/g de sol par rapport à la concentration initiale. Ceci indique une bonne adaptation des souches inoculées et leur forte colonisation rhizosphérique. Cette colonisation racinaire peut être liée à la souche bactérienne et à la plante hôte. Rappelant que les souches de *Pseudomonas fluorescens* sont caractérisées par leur capacité à utiliser une large gamme de composés organiques libérés par les plantes, et elles ont montré des niveaux de population suffisamment élevés pour la réussite et l'expression de leurs effets bénéfiques, malgré leur origine végétale différente par rapport à la plante testée.

La comparaison de phytostimulation des plants sous serre et en plain champ a révélé des niveaux appréciables de biostimulation de la croissance et de la

nodulation. Néanmoins, l'amélioration de la biomasse végétative et le développement des nodules restent meilleurs chez les plants conduits sous serre qu'en plein champ. Ceci peut être dû aux conditions favorables au développement racinaire et à la bonne colonisation rhizosphérique dans les conditions contrôlées par rapport aux conditions naturelles. Le taux des matières azotées totales reste plus élevé en plein champ, ceci semble être lié à l'optimisation de la fixation d'azote dans les conditions naturelles.

L'utilisation des PGPR comme phyto stimulateurs de la croissance végétale et de biocontrôle, et leur inoculation dans la rhizosphère peut avoir un impact sur la communauté microbienne rhizosphérique, ce qui peut influencer les effets bénéfiques des PGPR. Pour cela, il est nécessaire de mieux comprendre les mécanismes de communication entre les rhizobactéries (Quorum sensing), qui sont impliqués dans les interactions plante-bactérie. Une mauvaise compréhension des mécanismes d'action ou de potentiel rhizosphérique des souches introduites peut contribuer à de nombreux échecs. Pour cela, il est indispensable de sélectionner des souches douées de potentialités stables, reproductibles et adaptées aux différentes conditions telluriques.

Les PGPR possèdent plusieurs avantages pour une utilisation à grande échelle, ils colonisent efficacement les racines de plantes génétiquement très éloignées, de plus, les nombreuses connaissances acquises sur leur production commerciale, leur physiologie et leur génétique s'ajoutent à ces avantages. La formulation des inoculums de bactéries sélectionnées, destinées aux applications pratiques comme biofertilisants, constitue une solution économiquement rentable afin de minimiser l'application de fertilisants chimiques, maximiser la croissance et la nutrition des plantes.

APPENDICE A
LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

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

APPENDICE B

Milieux de culture

Milieu B de King (KB) King *et al.*, [384]

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

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

Milieu PDAE (Potato Dextrose Agar + Extrait de levure)

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

pH 7, autoclavage 20 minutes à 120° C

APPENDICE C

Composition du Catalyseur :

250 g de K_2SO_4 ,

250 g de $CuSO_4$

5 g de Sélénium

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

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

20 g d'acide borique

200 ml d'éthanol absolu

10 ml d'indicateur contenant : $\frac{1}{4}$ de rouge de méthyle à 0.2% dans l'alcool à 95 °et de $\frac{3}{4}$ de vert de bromocresol à 0.1% dans l'alcool à 95°.

APPENDICE D

ANALYSE DE LA VARIANCE

Essai sous serre

Hauteur des tiges

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	12543.73	71	176.67				
VAR FACTEUR	562.65	11	51.15	1.42	0.1940		
VAR.BLOCS	741.84	2	370.92	10.33	0.0002		
VAR RESIDUEL	1651.32	46	35.90			5.99	9.7%

Longueur des racines

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	2096.43	71	29.53				
VAR FACTEUR	354.63	11	32.24	3.88	0.0006		
VAR.BLOCS	103.77	2	51.89	6.24	0.0041		
VAR RESIDUEL	382.40	46	8.31			2.88	9.6%

Poids frais de la partie aérienne

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	10813.08	71	152.30				
VAR FACTEUR	248.12	11	22.56	0.91	0.5375		
VAR.BLOCS	117.71	2	58.86	2.38	0.1019		
VAR RESIDUEL	1137.99	46	24.74			4.97	14.1%

Poids frais de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	1935.86	71	27.27				
VAR FACTEUR	96.91	11	8.81	3.06	0.0038		
VAR.BLOCS	13.75	2	6.87	2.39	0.1013		
VAR RESIDUEL	132.51	46	2.88				1.70 19.0%

Poids sec de la partie aérienne

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	110.06	71	1.55				
VAR FACTEUR	6.78	11	0.62	2.05	0.0444		
VAR.BLOCS	4.74	2	2.37	7.90	0.0012		
VAR RESIDUEL	13.82	46	0.30				0.55 15.8%

Poids sec de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	13.55	71	0.19				
VAR FACTEUR	7.27	11	0.66	7.18	0.0000		
VAR.BLOCS	0.16	2	0.08	0.89	0.4195		
VAR RESIDUEL	4.23	46	0.09				0.30 32.2%

Teneur en matière azotée totale (MAT %)

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	450.82	71	6.35				
VAR FACTEUR	305.38	11	27.76	22.31	0.0000		
VAR.BLOCS	0.59	2	0.29	0.24	0.7941		
VAR RESIDUEL	57.24	46	1.24				0.30 6.8%

Nombre de nodules

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	10729.67	35	306.56				
VAR FACTEUR	9505.71	11	864.16	18.28		0.0000	
VAR.BLOCS	183.79	2	91.89	1.94		0.1653	
VAR RESIDUEL	1040.16	22	47.28				6.88 9.8%

Essai plein champLongueur de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	100.10	35	2.86				
VAR FACTEUR	66.25	11	6.02	4.94		0.0008	
VAR.BLOCS	7.02	2	3.51	2.88		0.0763	
VAR RESIDUEL	26.83	22	1.22				1.10 9.4%

Poids frais de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	21.22	35	0.61				
VAR FACTEUR	21.27	11	1.12	3.00		0.0137	
VAR.BLOCS	0.78	2	0.39	1.04		0.3703	
VAR RESIDUEL	8.18	22	0.37				0.61 17.8%

Poids sec de la partie aérienne

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	58.57	35	1.67				
VAR FACTEUR	14.70	11	1.34	1.23	0.3253		
VAR.BLOCS	19.97	2	9.98	9.19	0.0013		
VAR RESIDUEL	23.90	22	1.09			1.04	24.2%

Poids sec de la partie racinaire

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	0.95	35	0.03				
VAR FACTEUR	0.36	11	0.03	1.36	0.2600		
VAR.BLOCS	0.06	2	0.03	1.35	0.2807		
VAR RESIDUEL	0.53	22	0.03			0.15	27.2%

Nombre de nodules

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	3567.14	35	101.92				
VAR FACTEUR	2873	11	261.20	9.12	0.0000		
VAR.BLOCS	63.75	2	31.87	1.11	0.3475		
VAR RESIDUEL	630.17	22	28.64			5.35	16.3%

Teneur en matière azotée totale (MAT%)

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR.TOTAL	366.31	35	10.47				
VAR FACTEUR	335.51	11	30.50	23.54	0.0000		
VAR.BLOCS	2.30	2	1.15	0.89	0.4294		
VAR RESIDUEL	28.51	22	1.30			1.14	6.1%

REFERENCES

1. Vance. C.P, «Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources». *Plant Physiol*, N°127, 2001, pp. 390-397.
2. Brockwell. J, Bottomley. P.J and Thies. J.E, «Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment». *Plant Soil*, N° 174, 1995, pp. 143–180.
3. Peoples. M. B, Ladha. J.K and Herridge. D.F, «Enhancing legume N₂ fixation through plant and soil management». *Plant Soil* N°174, 1995, pp. 83–101.
4. Thies. J. E, Woome. P.L and Singleton. P.W, «Enrichment of *Bradyrhizobium* spp. populations in soil due to cropping of the homologous host legume». *Soil Biol. Biochem*, N° 27, 1995, pp. 633–636.
5. Wals. K. B, «Physiology of the legume nodule and its response to stress». *Soil Biol. Biochem*, N° 27, 1995, pp. 637–655.
6. Van Loon. L. C. and Bakker. P. A. H. M, «Signalling in rhizobacteria-plant interactions». In De Kroon. H and Visser. E. J. W, *Root ecology*, (Ecological studies Vol. 168, pp. 297–330). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2003.
7. Bais. H.P, Park. S.W, Weir. T. L, Callaway. R. M, and Vivanco. J. M, «How plants communicate using the underground information superhighway». *Trends in Plant Science*. N° 9, 2004, pp. 26–32.
8. Kiely. P.D, Haynes. J.M, Higgins. C.H, Franks. A, Mark. G.L, Morrissey. J.P and O’Gara. F, «Exploiting new systems-based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere». *Microbial Ecology*, N°51, 2006, pp. 257–266.
9. Mercado-Blanco. J and Bakker P.A.H.M, «Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection», *Antonie Van Leeuwenhoek*, N° 92, 2007, pp. 367-389.
10. Kloepper. J.W. et Schroth. M.N, «Plant growth-promoting rhizobacteria in radish», *Plant Pathogenic Bact*, 1978, pp. 879-882.
11. Roesti. D, Gaur. R, Johri. B.N, Imfeld. G, Sharma. S, Kawaljeet. K and Aragno. M, «Plant growth stage, fertiliser management and bio-inoculation of 137 arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields». *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, N° 38, pp.1111-1120.
12. Van Loon. L.C, Bakker. P.A.H.M, and Pieterse. M.J, «Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria», *Annual Review Of Phytopathology*, N° 36, 1998, pp. 453 - 483.
13. Bloemberg.G.V, Lugtenberg. B.J, «Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria», *Curr Opin plant boil*, N° 4, 2001, pp. 343 - 350.

14. Lemanceau. P, «Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents», *Agronomie*, N°12, 1992, pp. 413 - 437.
15. Journet. E.P, El-Gachtouli. N, Vernoud. V, De Billy. F, Pichon. M, Dedieu. A, Arnould. C, Morandi. D, Barker. D.G, Gianinazzi-Pearson. V, «*Medicago truncatula* ENOD11: a novel RPRP-encoding early nodulin gene expressed during mycorrhization in arbuscule-containing cells». *Mol Plant-Microbe Interact*, N°14, 2001, pp. 737-748.
16. Prasad. H and Chandra. R, «Growth pattern of urdbean *Rhizobium* sp. with PSB and PGPR in consortia». *J. Indian Soc. Soil Sci*, N°51, 2003, pp. 76-78.
17. Gunasekaran. S, Balachandar. D and Mohanasundaram. K, «Studies on synergism between *Rhizobium*, plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and phosphate solubilizing bacteria in blackgram». in: *Biofertilizer technology for rice based cropping system*, S. Kannaiyan, K. Kumar and K. Govimdarajan, eds, Scientific Publ. Jodhpur, 2004, pp. 269-273.
18. Moëgne-Loccoz. Y, « Ecologie microbienne : Interactions Rhizosphériques ». Publication rhizosphère, N°3, 2003, CNRS, INRA, UCBL1, ENVL.
19. Vessey. J.K, «Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers». *Plant and Soil*, N° 255, 2003, pp. 571-586.
20. Costa. C.L, Fedoseyenko. D, Chen. X.H, Borriss. R, Venderleyden. J, Neumann. G, Von Wirén. N, «Effect of root exudates on the expression of plant-growth promoting genes in rhizobacteria». *International Conference, Rhizosphere*, Vol. 2, N° 2, 2007, pp. 13-56.
21. Gagné. S, Dehbi. L, Le Quéré. D, Cayer. F, Morin. J.L, Lemay. R, Fournier. N, «Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media». *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 2, N°25, 1993, pp. 269-272.
22. Latour. X, Corberand. T, Laguerre. G, Allard. F, «The composition of fluorescent *Pseudomonas* populations associated with roots is influenced by plant and soil type». *Applied and environmental Microbiology*, Vol. N°62, 1996, pp. 2449-2456.
23. Sindhu. S.S, Suneja. S, Goel. A.K, Parmar. N, Dadarwal. K.R, «Plant growth promoting effects of *Pseudomonas* sp. on co-inoculation with *Mesorhizobium* sp. *cicer* strain under sterile and "wilt sick" soil conditions». *Applied Soil Ecology*, N° 19, 2002, pp. 57-64.
24. Latour. X, Delorme. S, Mirleau. P, Lemanceau. P, «Identification of traits implicated in the rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* : description of strategy based on population and model strain studies». *Agronomie*, N° 23, 2003, pp. 397-405.
25. Chain. F, Benizri. E, «Influence de l'inoculation d'une bactérie PGPR sur la structure phénotypique et génétique des communautés bactériennes indigènes de la rhizosphère du maïs». 3^{ème} Colloque Rhizosphère. UMR Agronomie et Environnement, France, 2004.
26. Touraine. B, «Identification des bases moléculaires de la réponse du développement racinaire d'*Arabidopsis* sp. à des bactéries PGPR». Fiche de

présentation de la thèse, Laboratoire Symbioses tropicales et méditerranéennes, 2004.

27. Benchabane. M, «Caractérisation des effets d'antagonisme microbien et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents». Thèse Doctorat d'état. FSB-UTHB, Alger, 2005, 235p.
28. Gilles. C, Moëgne-Loccoz. Y, Bertrand. C, «Mise au point d'une méthode globale d'analyse du métabolisme végétale pour caractériser l'effet des bactéries PGPR sur la plante». UMR Ecologie Microbienne, Lyon, France, 2005.
29. Guerineau. C, «Biotisation des plants de fraisiers, rapport final, production et protection des plants et semences en agriculture biologique». Dossier n°02/22-AB : Plants et semences, 2005.
30. Carmen. M, Carmen. S, Marta. A, Antonio. D, Maria. C, «Rooting induction of olive plants cuttings by plant growth promoting rhizobacteria». International Conference, Rhizosphere, Vol. 2 N° 2, 2007, pp. 13-56.
31. Mijajlovic. G, Deaker. D.R, Kennedy. I.R, «Methods of the isolation and quantification of beneficial bacteria in the rhizosphere of crop plants». International Conference, Rhizosphere, Vol. 2, N° 5, 2007, pp. 77-93.
32. Oswald. A, Calvo. P, Zuniga. D, «Plant growth promoting rhizobacteria to improve productivity and plant health of potato based cropping systems in the Central Andean Highlands». International Conference, Rhizosphere, Vol. 1, N° 2, 2007, pp. 1-12.
33. Chennaoui. N, «actions des rhizobacteries bénéfiques sur l'amélioration de la stimulation de la croissance des plantes : Importance de la compétence rhizosphérique chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents». Thèse Magister. USD. Blida. 2008, 161p.
34. Buscot. F, «What are soils? ». In: Buscot. F, Varma. S, « Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions». Soil Biology, Vol 3, 2005, 403p.
35. Pace. N.R, «A molecular view of microbial diversity». Science, Vol. 276, 1997, p. 734.
36. Barea. J.M, Werner. D, Azco'n-Aguilar. C, Azco'n. R, «Interactions of arbuscular mycorrhiza and nitrogen fixing symbiosis in sustainable agriculture». In: Werner, D. Newton, WE. Eds, Agriculture, forestry, ecology and the environment, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. Biosphere. Science. N°276, 2005, pp.734–740.
37. Kennedy. A.C and Papendick. R, «Microbial characteristics of soil quality». J. Soil and Water Conservation. Vol. 50, 1995, pp. 243-248.
38. Stendberg. B, «Monitoring soil quality of arable land: Microbiological indicators». Acta. Agriculturae Scandinavica. Section Biologi soil and Plant science. vol. 49, 1999, pp. 1-24.
39. Nielsen. T. H, Sorensen. D, Tobiasen. C, Andersen. J. B, Christophersen. C, Givskov. M, and Sorensen. J, «Antibiotic and biosurfactant properties of cyclic lipopeptides produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. from the sugar beet rhizosphere». *App. Environ. Microbiol.* N°68, 2002, pp.3416-3423.

40. Molin. J, Molin. S, «CASE: complex adaptive systems ecology». In: Jones. J.G, Ed. *Advances in Microbial Ecology*. Plenum, New York. Vol. 15, 1997, pp. 27– 79.
41. Trevors. J.T, «Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soils». *Water Air Soil Pollut.* N°101, 1998, pp.45– 67.
42. Wall. D.H, Virginia. R.A, «Controls on soil biodiversity: insights from extreme environments». *Appl. Soil Ecol.* N°13, 1999, pp.137– 150.
43. George. E, Marschner. H, Jakobsen. I, «Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorous and nitrogen from soil». *Crit. Rev. Biotechnol.* N°15, 1995, pp.257–270.
44. Timonen. S, Finlay. R.D, Olsson. S, Soderstrom. B, «Dynamics of phosphorous translocation in intact ectomycorrhizal systems: non-destructive monitoring using a B-scanner». *FEMS Microbiol. Ecol.* N°19, 1996, pp.171– 180.
45. Srivastava. D, Kapoor. R, Srivastava. S.K, Mukerji. K.G, «Vesicular arbuscular mycorrhiza—an overview». In: Mukerji. K.G, Ed. *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishing. Netherlands. 1996, pp. 1 –39.
46. Fillion. M, St-Arnaud. M, Fortin. J.A, «Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms». *New Phytol.* N°141, 1999, pp. 525–533.
47. Smith. K.P, Goodman. R.M, «Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°37, 1999, pp.473– 491.
48. Wright. S.F, Upadhyaya. A, «A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi». *Plant Soil.* N°198, 1998, pp.97–107.
49. Dodd. J.C, Boddington. C.L, Rodriguez. A, Gonzalez-Chavez. C, Mansur. I, «Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection». *Plant Soil.* N°226, 2000, pp.131–151.
50. Yao, H. He, Z. Wilson, M.J. Campbell, C.D. «Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use». *Microb, Ecol*, N°40, 2000, pp.223– 237.
51. O'Donnell. A.G, Seasman. M, Macrae. A, Waite. I, Davies. J.T, «Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils». *Plant Soil*, N°232, 2001, pp.135– 145.
52. Booth. M.S, Stark. J.M, «Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: A synthetic analysis of literature data». *Ecological Monographs*, Vol. 75, N° 2, 2005, pp. 139-157.
53. Jenkinson. D. S, and Ladd. J. N, «Microbial biomass in soil: Measurement and turnover». In Paul. E. A, and Ladd. J. N, eds. *Soil Biochemistry*. Marcel Decker. New York. Vol. 5, 1981, pp. 415–471.

54. Wardle. D. A. A, «Comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil». *Biol. Rev.* N°67, 1992, pp. 321–358.
55. Tracy. B. F and Frank. D. A, «Herbivore influence on soil microbial biomass and nitrogen mineralization in a northern grassland ecosystem». *Yellowstone National Park, Oecologia.* N°114, 1998, pp. 556–562.
56. Lynch. JM, «The rhizosphere: Effects of culture filtrates of rhizobacteria isolated from wild lupin on germination, growth, and biological nitrogen fixation of lupin seedlings». *Journal of Plant Nutrition.* N°26, 1990, pp.1101–1115.
57. Linderman. RG, «Vesicular–arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions». In: Bethlenfalvay. GJ, Linderman. RG, Eds. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, Madison, Wisconsin: ASA Special Publication. 1992, pp.45–70.
58. Glick. BR, «The enhancement of plant growth by free-living bacteria». *Canadian Journal of Microbiology.* N°41, 1995, pp.109–117.
59. Kennedy. AC, «The rhizosphere and spermosphere» In: Sylvia. DM, Fuhrmann. JJ, Hartel. PG, Zuberer. DA, Eds. *Principles and applications of soil microbiology*, Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall. 1998, pp.389–407.
60. Bowen. GD, Rovira. AD, «The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances*». In *Agronomy.* N°66, 1999, pp.1–102.
61. Barea. JM, Gryndler. M, Lemanceau. Ph, Schuëpp. H, Azco'n. R, «The rhizosphere of mycorrhizal plants». In Gianinazzi. S, Schuëpp H. Barea, JM. Haselwandter. K, eds. *Mycorrhiza technology in agriculture: from genes to bioproducts*. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag, 2002, pp.1–18.
62. Hu. S, Chapin. F.S, Firestone. M. K, Field. C. B, Chiariello. N. R, «Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grassland under elevated CO₂». *Nature*, N°409, 2001, pp.188-191.
63. Ibekwe. AM, Kennedy. AC, «Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils». In *soils: roles in genesis and functions*. Heidelberg, Germany:Springer. Verlag, 3–18 *Plant Soil.* N°206, 1998, pp.151–161.
64. Marshner. P, Yang. CH, Lieberei. R, Crowley. DE, «Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere». *Soil Biol Biochem*, N°33, 2001, pp. 1437–1445
65. Miethling. R, Wieland. G, Backhaus. H, Tebbe. CC, «Variation of microbial rhizosphere communities in response to crop species, soil origin and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L 33». *Microb Ecol.* N°40, 2000, pp. 43–56.
66. Carelli. M, Gnocchi. S, Fancelli. S, Mengoni. A, Paffetti. D, Scotti. C, Bazzicalupo. M, «Genetic diversity and dynamics of *Sinorhizobium meliloti* populations nodulating different alfalfa cultivars». In *Italian soils. Appl Environ Microbiol.* N°66, 2000, pp. 4785–4789

67. Degens. BP, Schipper. LA, Sparling. GP, Vojvodic-Vukovic. M, «Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities». *Soil Biol Biochem.* N°32, 2000, pp 189–196.
68. Gelsomino. A, Keijzer-Wolters. AC, Cacco. G, Van Elsas. JD, «Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis». *J. Microbiol. Methods.* N°38, 1999, pp. 1–15.
69. Van Loon L.C. and Bakker P.A.H.M., «Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria». *In: Siddiqui Z.A., ed. PGPR: Biocontrol and biofertilization.* Dordrecht, the Netherlands: Springer, 2005, pp. 39-66.
70. Rosello-Mora. R, Amann. R, «The species concept for prokaryotes, *FEMS Microbiol.* Rev. N°25, 2001, pp.39-67.
71. Dilworth. M.J, James. E.K, Sprent. J.I and Newton. W.E, «Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses», *Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress*, Vol. 7, 2008, 401p.
72. Augé. R, «Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis». *Mycorrhiza.* N°11, 2001, pp. 3–42.
73. Jeffries. P, Gianinazzi. S, Perotto. S, Turnau. K, Barea. J.M, «The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility». *Biol. Fertil. Soil.* N°37, 2003, pp. 1–16.
74. Caravaca. F, Hernández. M.T, García. C, and Roldán. A, «Improvement of rhizosphere aggregates stability of afforested semi-arid plant species subjected to mycorrhizal inoculation and compost addition». *Geoderma.* N°108, 2002, pp. 133–144.
75. Toro. M, Azcón. R, and Barea. J.M, «Improvement of arbuscular mycorrhizal development by inoculation of soil with phosphate solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (³²P) and nutrient cycling». *Appl. Environ. Microbiol.* N°63, 1997, pp. 4408–4412.
76. Kennedy. AC, Smith. KL, «Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils». *Plant and Soil.* N°170, 1995, pp. 75–86.
77. Stintzi. A, Browse. J, «The Arabidopsis male-sterile mutant, opr3, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis» *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* N° 97, 2000, pp. 10625–10630.
78. Stotz. HU, Pittendrigh. BR, Kroymann. J, Weniger. K, Fritsche. J, Bauke. A, Mitchell-Olds. T, «Induced plant defense responses against chewing insects. Ethylene signaling reduces resistance of Arabidopsis against Egyptian cotton worm but not diamondback moth». *Plant Physiol.* N°124, 2000, pp.1007–1018.
79. Darrah. P. R, «The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach». *Plant Soil.* N° 156, 1993, pp.1-20.
80. Hiltner. L, «Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Grundüngung und Brache», *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft*, N°98, 1904, pp.59 - 78.

81. Bowen. G D, Rovira. A. D, «The rhizosphere: the hidden half of the hidden half». In: Waisel. Y, Eshel. A, Kafkafi. U, Eds. *Plant Roots: The Hidden Half*, Marcel-Dekker Inc, New York. 1991, pp. 641-649.
82. Bais. H P, Weir. T L, Perry. L .G, Gilroy. S, 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.
83. Gobat. J.M, Aragno. M, Matthey. W, «the living soil. Fundamentals of soil science and soil biology». Science publishers, Inc. , USA, 2004, 475p.
84. Kuzyakov. Y, Domanski. G, «Carbon input by plants into the soil. Review». *J. Plant. Nutr. Soil Sci.* N°163, 2000, pp.421-431.
85. Uren. N.C, «Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants». In Pinton. R, Varanini. Z, Nannipieri. P, Eds. *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*. Marcel Dekker, Inc, New York. 2000, pp. 19-40.
86. Neumann. G, Römheld. V, «The release of root exudates as affected by the plant physiological status». In: Pinton. R, Varanini. Z, Nannipieri. P, Eds. *The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*, (Second Edition), Marcel Dekker, New York. 2007, pp. 23-72.
87. Farrar. J, Hawes. M, Jones. D, Lindow. S, «How roots control the flux of carbon to the rhizosphere». *Ecology*, N°84, 2003, pp. 827–837.
88. Lynch. J.M, Whipps. J.M, «Substrate flow in the rhizosphere». *Plant and soil.* N°29, 1990, pp. 1-10.
89. Kuzyakov. Y, «Factors affecting rhizosphere priming effects». *Journal of plant nutrition and soil science.* N°165, 2002, pp. 382-396.
90. Kuzyakov. Y and Demin. V, «CO₂ efflux by rapid decomposition of low molecular organic substance in soils». *Sciences of soil.* N°3, 1998.
91. Bertin. C, Yang. X, Weston. L.A, «The role of root exudates and allelochemicals in the Rhizosphere ». *Plant Soil.* N°256, 2003, pp. 67-83.
92. Nguyen. C, «Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls». *Agronomie.* N°23, 2003, pp. 375-396.
93. Hawes. M C, Gunawardena. U, Miyasaka. S, Zhao. X, «The role of root border cells in plant defense». *Trends Plant Sci.* N°5, 2000, pp. 128-133.
94. Aragno. M and Tarnawski. S, «La plante: une intermédiaire essentielle entre le CO₂ atmosphérique et le carbone du sol». *Bulletin de la société suisse de pédologie.* N°26, 2002, pp. 5-9.
95. Jones. D L, Hodge. A, Kuzyakov. Y, «Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition». *New Phytol.* N° 163, 2004, pp.459-480.
96. Uren. NC, «Types, amounts and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants». In: Pinton. R, Varanini. Z, Nannipieri. P, eds. *The Rhizosphere, Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL. 2007, pp. 1-21.

97. Dubos. C, Huggins. D, Grant. G H, Knight. M R, Campbell. M M, «A role for glycine in the gating of plant NMDA-like receptors». *Plant J.* N°35, 2003, pp. 800-810.
98. Flores. H E, Vivanco. J M, Loyola-Vargas. V M, «Radicle biochemistry: the biology of root-specific metabolism». *Trends Plant Sci.* N°4, 1999, pp. 220-226.
99. Nair. M.G, Safir. G.R, Siqueira. J.O, «Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza-stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots». *Appl Environ Microbiol.* N°57, 1991, pp. 434-439.
100. Giovannetti. M, Ayio. L, Sbrana. C, Silvia. Citernesi. A, «Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe». *New Phytol.* N° 123, 1993a, pp. 115-122.
101. Giovannetti. M, Sbrana. C, Avio. L, Citernesi. A S, Logi. C, «Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages». *New Phytol.* N°125, 1993b, pp. 587-593.
102. Meyer. J R, Linderman. R G, «Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*». *Soil Biol. Biochem.* N°18, 1986, pp. 191-196.
103. Christensen. H, Jakobsen. I, «Reduction of bacterial growth by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.) ». *Biol Fert Soils.* N°15, 1993, pp. 253-258.
104. Bansal. M, Mukerji. K G, «Positive correlation between VAM-induced changes in root exudation and mycorrhizosphere mycoflora». *Mycorrhiza.* N°5, 1994, pp. 39-44.
105. Sood. S G, «Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants». *FEMS Microbiol Ecol.* N°45, 2003, pp. 219-227.
106. Antoun. H, and Kloeppe. J. W, «Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) ». In: *Encyclopedia of Genetics*, Brenner. S, and Miller. J.H, eds. Academic Press, N.Y. 2001, pp. 1477-1480.
107. Nehl. D. B, Allen. S. J, and Brown. J. F, «Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective». *Appl. Soil Ecol.* N°5, 1996, pp.1-20.
108. Sturz. A. V, and Christie. B. R, «Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria». *Soil Til. Res.* N°72, 2003, pp.107-123.
109. Suslov. T.V, «Role of root-colonizing bacteria in plant growth». In: Mount. M.S, Lacy. G.H, Editors, *Phytopathogenic Prokariotes*, Academic Press, London, 1982, pp. 187-223.
110. Davinson. J, « Plant beneficial bacteria ». *Bio/Technology.* N° 6, 1988, pp. 282-286.

111. Kloepper. J.W., «Plant growth promoting bacteria (other systems) ». In Okon. J, Editor, *Azospirillum/Plant Association*. CRC Press, Boca Raton, FL. 1994, pp. 137–154.
112. Bossis. E, Lemanceau. P, Latour. X and Gardan. L, «The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision». *Agronomie*. N°20, 2000, pp. 51-53.
113. 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.
114. Chin-A-Woeng. T. F Bloemberg. G. V, Mulders. I. H, Dekkers. L.C, and Lugtenberg. B. J « Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot». *Mol. Plant Microbe Interact.* N°13, 2000, pp.1340-1345.
115. Chin-A-Woeng. T. F, Thomas-Oates. J. E, Lugtenberg. B. J, and Bloemberg. G. V, «Introduction of the *phzH* gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 extends the range of biocontrol ability of phenazine-1-carboxylic acid-producing *Pseudomonas* spp». strains. *Mol. Plant Microbe Interact.* N° 14, 2001, pp. 1006-1015.
116. Fenton. A. M, Stephens. P. M, Crowley. J, O'Callaghan. M, and O'Gara. F, «Exploitation of gene(s) involved». In 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* N° 58, 1992, pp.3873-3878.
117. Kim. M. S, Kim. Y. C, and Cho. B. H, «Gene expression analysis in cucumber leaves primed by root colonization with *Pseudomonas chlororaphis* O6 upon challenge inoculation with *Corynespora cassiicola*». *Plant Biol. Mar-Apr.* Vol. 6, N° 2, 2004, pp. 105-108.
118. Suslow. T.V, Schroth. M.N, «Rhizobacteria of sugar beet: effects of seed application and root colonization on yield». *Phytopathology.* N°72, 1982, pp. 199-206.
119. Lifshitz. R, Kloepper. J.W, Kozlowsk. M, Simonson. C, Carlson. J, Tipping. E.M, Zaleska. I, «Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions». *Can J. Microbiol.* N°33, 1987, pp. 390-395.
120. Kloepper. J.W, Hume. D.J, Scher. F.M, Singleton. C, Tipping. B, Laliberte. M, Frauley. K, Kutchaw. T, Simouson. C, Lifshitz. R, Zaleska. I, Lee. L, «Plant growth promoting rhizobacteria on canola (rapeseed)». *Plant Diseases.* N°72, 1988, pp. 42-46.
121. Gardner. J.M, Chandler. J.L, Feldman. A.W, «Growth promoting and inhibition by antibiotic production fluorescent *Pseudomonas* spp. on citrus roots». *Plant Soil.* N°77, 1984, pp. 103-119.
122. Van Peer. R, Schippers. B, «Plant growth responses to bacterisation with selected *Pseudomonas* spp. strains and rhizosphere microbial development in hydroponics cultures». *Can J Microbiol.* N°35, 1989, pp. 456-463.

123. Yuen. G.Y, Schroth. M.N, «Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* by iron competition with an *Alcaligenes* spp». *Phytopathology*. N°75, 1986, pp. 171-176.
124. Digat. B, Gaudillat. M, Labadie. J.M, «Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plant-growth promoting *Pseudomonas*». *Symbiosis*. N° 9, 1990, pp. 259-303.
125. Caesar. A.J, Burr. T.J, «Growth promoting of apple seedlings and root stocks by specific strains of bacteria». *Phytopathology*. N°77, 1987, pp. 1583-1588.
126. Digat. B, Caille. C, Guinebault. P, Trillot. M, «Pommier : Fertilisation bactériologique». *Infos-CTIFL*. N°41, 1988, pp. 8-12.
127. Sakthivel. N, Gnanamanickam. S.S, 1987. «Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for suppression of sheath rot disease and for enhancement of gain yields in rice (*Oryza sativa* L.) ». *Appl Environ Microbiol*. N°53, 1987, pp. 2056-2059.
128. Lemanceau. P, Samson. R, «Relations entre quelques caractéristiques *in vitro* de 10 *Pseudomonas* fluorescents et leur effet sur la croissance du haricot *Phaseolus vulgaris* L». In : *Les antagonismes microbiens*, 24^e colloque SFP, Bordeaux, INRA, 1983, pp. 327-328.
129. Bakker. P.A.H.M, Bakker. A.W, Marugg. J.D, Weisbeek. P.J, Schippers. B, «Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations». *Soil Biol Biochem*. N°19, 1987, pp. 443-449.
130. Bakker. P.A.H.M, Weisbeek. P.J, Schippers. B, «The role of siderophore in plant growth stimulation by fluorescent *Pseudomonas* spp». *Meded Fac Landbouww Rijksuniv Gent*. N° 51, 1986, pp. 1357-1362.
131. Burr. T.J, Schroth. M.N, Suslow. T.V, «Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*». *Phytopathology*. N° 68, 1978, pp. 1377-1383.
132. Geels. F.P, Schippers. B, «Reduction of yield depressing in high frequency potato cropping soil after seed tuber treatment with antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp». *Phytopathol Z*. N° 108, 1983, pp. 207-214.
133. Geels. F.P, lamers. J.G, Hoekstra. O, Schippers. B, «Potato plant response to seed tuber bacterisation in the field in various rotations». *Neth J Plant Pathol*. N° 92, 1986, pp. 257-272.
134. Kloepper. J.W, Leong. J, Teintze. M, Schroth. M.N, «Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria». *Nature*. N° 286, 1980, pp. 885-886.
135. Xu. G.W, Gross. D.C, «Field evaluations of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia carotovora*, and potato yield». *Phytopathology*. N° 76, 1986, pp. 423-430.
136. Weller. D.M, Cook. R.G, «Suppression of take-all of wheat by seed treatment with fluorescent *Pseudomonas*». *Phytopathology*. N° 73, 1983, pp. 463-509.

137. Youssef. Y, Andrea. S, Frank. D, «Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* and wheat its potential to promote wheat plant growth and crop performance». International Conference, Rhizosphere. N° 2, 2007, pp. 1-12.
138. Lidia. S.P, Edward. Z, Stawomir. G, «The influence of mycorrhiza on the growth and yielding of strawberry and the processus taking place in the rhizosphere». International Conference, Rhizosphere. N° 2, 2007, pp. 1-12.
139. Katharina. B, Schmid. M, Hartmann. A, «Application and plant growth promoting effect of commercially used biological plant stimulator in barley». International Conference, Rhizosphere. N° 2, 2007, pp. 1-12.
140. Esitken. A, Karlidag. H, Ercisli. S and Sahin. F, «Effects of foliar application of Frankenberger». W.T.Jr and Arshad. M, "Phytohormones in soils: Microbial production and function. Marcel Dekker" Inc. NewYork, NY, 1995, 503p.
141. Dobbelaere. S, Vanderleyden. J, and Okon. Y, «Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere». *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* Vol. 22, N° 2, 2003, pp.107-149.
142. Lee. J.P, Lee. S.W, Kim. C.S, Son. J.H, Song. J.H, Lee. K.Y, Kim. H.J, Jung. S.J, and Moon. B.J, «Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*». *Biol. Control.* Vol .37, N° 3, 2006, pp. 329-337.
143. 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.
144. Burd. G. I, Dixon. D.G, and Glick. B. R, «A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings». *Appl. Environ. Microbiol.* N° 64, 1998, pp.3663-3668.
145. Whipps. J.M, «Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere». *J. Exp. Bot.* N° 52, 2001, pp. 487-511.
146. Frankenberger. W.T.Jr. and Arshad. M. «Phytohormones in soils: Microbial production and function». Marcel Dekker, Inc. NewYork, NY, 1995, 503p.
147. García de Salamone. I. E and Nelson. L. M, «Effects of cytokinin-producing *Pseudomonas* PGPR strains on tobacco callus». 2000. Auburn University Web Site, Available: www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/garciadesalamone.pdf [Accessed 12/20/2004].
148. Kampert. M, Strzelczyk. E, and Pokojska. A, «Prodcution of auxins by bacteria isolated from the roots of pine seedlings (*Pinus silvestris* L.) and from soil». *Acta. Microbiologica. Polonica.* N° 7, 1975, pp.135-143.
149. Loper. J.E, and Schroth. M.N, «Influence of bacterial sources of indole-2-acetic acid on root elongation of sugar beet». *Phytopathology.* N° 76, 1986, pp. 386-389.
150. Patten. C, and Glick. B.R, «Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid». *Canadian Journal of Microbiology.* N° 42, 1996, pp. 207-220.

151. Steenhoudt. O and Vanderleyden. J, «*Azospirillum*, a free-living nitrogen fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects». FEMS Microbiology reviews. N° 24, 2000, pp.487-506.
152. Dubeikovskiy. A.N, Mordukhova. E.A, Kochetkov. V.V, Polikarpova. F.Y and Boronin. A.M, «Growth promotion of blackcurrant softwood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* BSP53a synthesizing an increased amount of indole-3-acetic acid». Soil Biology and Biochemistry. N° 25, 1993, pp.1277-1281.
153. Arshad. M, and Frankenberger Jr. W. T, «Ethylene: Agricultural Sources and Applications». New York, Kluwer Academic Publishers. 2002, 342 p.
154. Wang. S. Y, Wang. C. Y and Welburn. A. R, «Role of ethylene under stress conditions». In Alscher. R and Cumming. J, eds, Stress Responses in Plants Adaptation and Acclimation Mechanisms. Wiley-Liss, New York, U.S.A. 1990, pp. 147-173.
155. Morgan. P. W, and Drew. M. C, «Ethylene and plant responses to stress». Plant Physiol. N° 100, 1997, pp.620-630.
156. Glick. B. R, Penrose. D. M, Li. J, «A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth promoting bacteria». J. Theor. Biol. N° 190, 1998, pp. 63-68.
157. Grichko. V. P and Glick. B. R, «Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth promoting bacteria». Plant Physiol. Biochem. N° 39, 2001, pp. 11-17.
158. Grichko. V. P, Filby. B and Glick. B. R, «Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn». J. Biotechnol. N° 81, 2000, pp. 45-53.
159. Wang. C, Knill. E, Glick. B. R, and Defago. G, «Effect of transferring 1-aminocyclopropane-l-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO and its *gac A* derivative CHA96 on their growth promoting and disease-suppressive capacities ». Can. J. Microbiol. N° 46, 2000, pp. 898-907.
160. Mayak. S, Tirosh. T and Glick. B. R, «Plant growthpromoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress». Plant Physiol. Biochem. N° 42, 2004a, pp.565-572.
161. Mayak. S, Tirosh. T and Glick. B. R, «Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and peppers». J. Plant Sci. N° 166, 2004b, pp.525-530.
162. Saravanakumar. D, and Samiyappan. R, «ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants». Journal of Applied Microbiology. N° 102, 2007, pp.1283-92.
163. Ma. W.B, Guinel. F.C and Glick. B.R, «*Rhizobium leguminosarum* biovar viciae 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promotes nodulation of pea plants». Applied and Environmental. Microbiology. N° 69, 2003a, pp. 4396-4402.

164. Ma. W.B, Sebestianova. S.B, Sebestian. J, Burd. G.I, Guinel. F.C and Glick. B.R, «Prevalence of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase in *Rhizobium* spp». *Journal of General and Molecular Microbiology*. N°83, 2003b, pp.285-291.
165. Belimov. A.A, Safronova. V.I, Sergeyeva. T.A, Egorova. T.N, Matveyeva. V.A, Tsyganov. V.E, Borisov. A.Y, Tikhonovich. I.A, Kluge. C, Preisfeld. A, Dietz. K.J and Stepanok. V.V, «Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase». *Can. J. Microbiol.* Vol 47, N° 7, 2001, pp. 642–652.
166. Kloepper. J.W, Lifshitz. R and Zablotowicz. R.M, «Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity». *Trends in Biotechnology*. N° 7, 1989, pp.39-44.
167. Höfte. M, Boelens. J, Vestraete. W, «Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2 and ANP15». *Soil Biol Biochem*. N° 23, 1991, pp.407-410.
168. 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.
169. 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.
170. Adam.A, « Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxigénase par des rhizobactéries non-pathogènes ». Thèse Doctorat en sciences. Université de Liège, Belgique. 2008, 165p.
171. Bender. C, Rangaswamy. V, Loper. J, «Polyketide production by plant-associated *Pseudomonads*». *Annu. Rev. Phytopathol.* N°37, 1999, pp. 175-196.
172. Dwevedi. D and Johri. B. N, «Antifungals from fluorescent pseudomonads: biosynthesis and regulation». *Curr. Sci.* Vol. 85, N°12, 2003, pp.1693-1673.
173. Delaney. S. M, Mavrodi, D. V, Bonsall, R. F, and Thomashow. L. S, «*phzO*, a gene for biosynthesis of 2-hydroxylated phenazine compounds in *Pseudomonas aureofaciens* 30-84». *J. Bacteriol.* N° 183, 2001, pp.318-327.
174. Chin-A-Woeng. T. F, Bloemberg. G. V, and Lugtenberg. B. J, «Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria». *New. Phyto.* N° 157, 2003, pp.503-523.
175. Mavrodi. D. V, Ksenzenko. V. N, Bonsall. R. F, Cook. R. J, and Boronin. A. M, L. S, «A seven-gene locus for synthesis of phenazine-1-carboxylic acid by *Pseudomonas fluorescens* 2-79». *J. Bacteriol.* N° 180, 1998, pp.2541-2548.
176. El-Banna. N, and Winkelmann.G, «Pyrrolnitrin from *Burkholderia cepacia*: antibiotic activity against fungi and novel activities against streptomycetes». *J. Appl. Microbiol.* N° 85, 1998, pp.69-78.

177. Hammer. P. E, Burd. W, Hill. S. D, Ligon. J. M, and van Pée. K. H, «Conservation of the pyrrolnitrin gene cluster among six pyrrolnitrin-producing strains». *FEMS Microbio. Lett.* N° 180, 1999, pp.39-44.
178. Sarniguet. A, Kraus. J, Henkels. M.D, Muehlchen. A.M, and Loper. J. E, «The sigma factor sigma s affects antibiotic production and biological control activity of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5». *Proc Natl Acad Sci U S A.* Vol. 92, N° 26, Dec. 19, 1995, pp.12255-12259.
179. Ramette. A, Frapolli. M, Defago. G, Moenne-Loccoz. Y, «Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability». *Mol Plant Microbe Interact.* N° 16, 2003, pp.525-535.
180. Raaijmakers. J.M, Vlami. M, and de Souza. J.T, «Antibiotic production by bacterial biocontrol agents». *Antonie van Leeuwenhoek.* Vol. 81, N° 1-4, 2002, pp.537-547.
181. McGowan. S.J, Barnard. A.M.L, Bosgelme. G, Sebaihia. M, Simpson. N.J.L, Thomson. N.R, Todd. D.E, Welch. M, Whitehead. N.A and Salmond. 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.
182. Mathieu. A, «Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel». Mémoire de Maître en Sciences, Université Laval, Québec. 2005, 80p.
183. Bergsma-Vlami. M, Prins. M. E and Raaijmakers. J.M, «Influence of plant species on population dynamics, genotypic diversity and antibiotic production in the rhizosphere by indigenous *Pseudomonas* spp». *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 52, N°1, 2005, pp.59-69.
184. 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.
185. Pieterse. C.M.J, van Wees. S.C.M, Ton. J, van Pelt. J.A and van Loon. L.C, «Signaling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*». *Plant Biol.* Vol 4, N°5, 2002, pp.535-544.
186. 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.
187. 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.
188. Harman. G.E, Howell. C.R, Viterbo. A, Chet. I and Lorito. M, «*Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts ». *Nat. Rev. Microbiol.* N° 2, 2004, pp.43–56.

189. 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.* N° 20, 2001, pp. 1-11.
190. 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.
191. Bakker. P.A.H.M, Pieterse. C.M.J and van Loon. L.C, «Induced Systemic Resistance by Fluorescent *Pseudomonas* spp». *Phytopathology.* Vol 97, N°2, 2007, pp.239-243.
192. Ongena. M and Thonart. P, «Resistance Induced in Plants by Non-pathogenic Microorganisms: Elicitation and Defense Responses». *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*, III, 2006, pp. 448-463.
193. Vernié.T, « Analyse fonctionnelle d'EFD, un régulateur transcriptionnel de la nodulation au cours de l'interaction symbiotique entre *Medicago truncatula* et *Sinorhizobium meliloti* ». Thèse Doctorat. universite toulouse III – paul sabatier, 2008, 229p.
194. Freiberg. C, Fellay. R, Bairoch. A, Broughton. W.J, Rosenthal. A and Perret. X, «Molecular basis of symbiosis between Rhizobium and legumes». *Nature.* N°387, 1997, pp.394-401.
195. de Faria. SM, Lewis. GP, Sprent. JI, et Sutherland. JM, «Occurrence of nodulation in the leguminosae». *New Phytol.* N°111, 1989, pp.607-619.
196. Hirsch. AM, Lum. MR, et Downie. JA, «What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? ». *Plant Physiol.* N°127, 2001, 1484-1492.
197. Patriarca. EJ, Tatè. R, Ferraioli. S, et Iaccarino. M, «Organogenesis of legume root nodules». *Int Rev Cytol.* N°234, 2004, pp.201-262.
198. Gage. DJ, «Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes». *Microbiol Mol Biol Rev.* N°68, 2004, pp.280-300.
199. Stacey. G, Libault. M, Brechenmacher. L, Wan. J, et May. GD, «Genetics and functional genomics of legume nodulation». *Curr Opin Plant Biol.* N°9, 2006, pp.110-121.
200. Cronk. Q, Ojeda. I, and Pennington. R.T, «Legume comparative genomics: progress in phylogenetics and phylogenomics». *Curr Opin Plant Biol.* N°9, 2006, pp.99-103.
201. Doyle. J.J and Luckow. M. A, «The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context». *Plant Physiol.* N°131, 2003, pp.900-910.
202. Sawada. H, Kuykendall. L.D and Young. J.M, «Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts». *J Gen Appl Microbiol.* N°49, 2003, pp.155-179.

203. Jaftha. J.B, Strijdom. B.W and Steyn. P.L, «Characterization of pigmented methylotrophic bacteria which nodulate *Lotononis bainesii*». Syst Appl Microbiol. N° 25, 2002, pp. 440-449.
204. Sy. A, Giraud. E, Jourand. P, Garcia. N, Willems. A, de Lajudie. P, Prin. Y, Neyra. M, Gillis. M, Boivin-Masson. C, and Dreyfus. B, «Methylotrophic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes». J Bacteriol. N° 183, 2001, pp.214-220.
205. Rivas. R, Velazquez. E, Willems. A, Vizcaino. N, Subba-Rao. N.S, Mateos. P.F, Gillis. M, Dazzo. F.B and Martinez-Molina. E, «A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans* (L.f.) druce». Appl Environ Microbiol. N°68, 2002, pp.5217-5222.
206. Garcia-Fraile. P, Rivas. R, Willems. A, Peix. A, Martens. M, Maptinez-Molina. E, Mateos. P.F, Velazquez. E, «*Rhizobium cellulosityticum* sp. Nov., isolated from sawdust of *Populus alba* ». Int J Syst Evol Microbiol. N° 57, 2007, pp. 844-848.
207. Quan. Z.X, Bae. H.S, Baek. J.H, Im. W.T, Lee. S.T and Chen. W.F, «*Rhizobium daejeonense* sp. Nov. isolated from a cyanide treatment bioreactor». International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Vol.55, N°6, 2005, pp. 2543-2549.
208. Segovia. L, Young. J. P. W, and Martinez-Romero. E, «Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type 1 strains as *Rhizobium etli* sp». nov. Int. J. Syst. Bacteriol. N°43, 1993, pp.374-377.
209. Wang. E. T, van Berkum. P, Sui. X. H, Beyene. D, Chen. W.X and Martinez-Romero. E, «Diversity of rhizobia associated with *Amorpha fruticosa* isolated from Chinese soils and description of *Mesorhizobium amorphae* sp». nov. Int. J. Syst. Bacteriol. N° 49, 1999, pp.51-65.
210. Lindstrom. K, «*Rhizobium galegae*, a new species of legume root nodule bacteria». Int. J. Syst. Bacteriol. N° 39, 1989, pp.365-367.
211. Amarger. N, Macheret. V, and Laguerre. G, «*Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules». Int. J. Syst. Bacteriol. N° 47, 1997, pp.996-1006.
212. Beyhaut. E, Tlusty. B, van Berkum. P, and Graham. P. H, «*Rhizobium giardinii* is the microsymbiont of Illinois Bundleflower (*Desmanthus illinoensis* (Michx.) Macmillan) in Midwestern prairies». Can. J. Microbiol. N° 52, 2006, pp.903-907.
213. Chen. W. X, Tan. Z. Y, Gao. J. L, Li. Y, and Wang. E. T, «*Rhizobium hainanense* sp. nov. isolated from tropical trees». Int. J. Syst. Bacteriol. N° 47, 1997, pp.870-873.
214. Wang. E. T, van Berkum. P, Beyene. D, Sui. X. H, Dorado. O, Chen. W. X, and Martinez-Romero. E, «*Rhizobium huautlense* sp. nov., a symbiont of *Sesbania herbacea* that has a close phylogenetic relationship with *Rhizobium galegae*». Int. J. Syst. Bacteriol. N° 48, 1998, pp.687-699.

215. Wei. G. H, Wang. E. T, Tan. Z. Y, Zhu. M.E and Chen. W. X, «*Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp. nov., respectively isolated from *Indigofera* spp. And *Kummerowia stipulacea*». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°52, 2002, pp.2231-2239.
216. Dangeard. P. A, «Recherches sur les tubercules radicaux des legumineuses ». *Le Botaniste* Series 16, Paris. 1926, 270p.
217. Jordan. D. C, «Family III. *Rhizobiaceae* Conn 1938». In Krieg. N.R and Holt. J. C, Eds. Baltimore, ND: Williams and Wilkins. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol 1, 1984, pp. 234-254.
218. Wei. G. H, Tan. Z. Y, Zhu. M. E, Wang. E. T, Han. S. Z and Chen. W. X, «Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium loessense* sp. Nov». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°53, 2003, pp.1575-1583.
219. Vaverde. A, Igual. J.M, Peix. A, Cervantes. E, Velazquez. E, «*Rhizobium lusitanum* sp. Nov. a bacterium that nodulates *Phaseolus vulgaris*». *Int. J Syst. Evol. Microbiol.* N° 56, 2006, pp. 2631-2637.
220. van Berkum. P, Beyene. D, Bao. G, Campbell. T.A and Eardly. B. D, «*Rhizobium mongolense* sp. nov. is one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen-fixing symbioses with *Medicago ruthenica* [(L.) Ledebour] ». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°48, 1998, pp.13-22.
221. Squartini. A, Struffi. P, Doring. H, Selenska-Pobell. S, Tola. E, Giacomini. A, et al, «*Rhizobium sullae* sp. nov. (formerly '*Rhizobium hedysari*'), the root nodule microsymbiont of *Hedysarum coronarium*». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°52, 2002, pp.1267-1276.
222. Martinez-Romero. E, Segovia. L, Mercante. F. M, Franco. A. A, Graham. P, and Pardo. M. A, «*Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* beans and *Leucaena* sp trees». *Int.J. Syst. Bacteriol.* N°41, 1991, pp.417-426.
223. Tan. Z. Y, Kan. F. L, Peng. G. X, Wang. E. T, Reinhold-Hurek. B, and Chen. W. X, «*Rhizobium yanglingense* sp. nov. isolated from arid and semi-arid regions in China». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°51, 2001, pp.909-914.
224. De Lajudie. P, Laurent-Fulele. E, Willems. A, Torck. U, Coopman. R, Collins. M. D, et al, «*Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. nov., nitrogen fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°48, 1998a, pp.1277-1290.
225. Ogasawara. M, Suzuki. T, Mutoh. I, Annapurna. K, Arora. N. K, Nishimura. Y and Maheshwari. D. K, «*Sinorhizobium indiaense* sp. nov. and *Sinorhizobium abri* sp. nov. isolated from tropical legumes, *Sesbania rostrata* and *Abrus precatorius*, respectively». *Symbiosis.* N°34, 2003, pp.53-68.
226. Toledo. I, Lloret. L, and Martinez-Romero. E, «*Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp. in Mexico». *Syst. Appl. Microbiol.* N°26, 2003, pp.54-64.

227. Nick. G, de Lajudie. P, Eardly. B. D, Suomalainen. S, Paulin. L, Zhang. X. P, *et al*, «*Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov. isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°49, 1999, pp.1359-1368.
228. Scholla. M.H and Elkan. G. H, «*Rhizobium fredii* sp. nov., a fast growing species that effectively nodulates soybeans». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°34, 1984, pp.484-486.
229. Chen. W. X, Yan. G. H, and Li. J. L, «Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°38, 1988, pp.392-397.
230. Rome. S, Fernandez. M. P, Brunel. B, Normand. P and Cleyet-Marel. J. C, «*Sinorhizobium medicae* sp. nov. isolated from annual *Medicago* spp». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°46, 1996, pp.972-980.
231. De Lajudie. P, Willems. A, Pot. B, Dewettinck. D, Maestrojuan. G, Neyra. M, *et al*, «Polyphasic taxonomy of rhizobia: Emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. Nov». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°44, 1994, pp.715-733.
232. Wang. E. T, Tan. Z. Y, Willems. A. Y, Fernandez-Lopez. M, Reinhold-Hurek. B and Martinez-Romero. E, «*Sinorhizobium morelense* sp. nov., a *Leucaena leucocephala* associated bacterium that is highly resistant to multiple antibiotics». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°52, 2002a, pp. 1687-1693.
233. Boivin. C, Ndoeye. I, Lortet. G, Ndiaye. A, de Lajudie. P, and Dreyfus. B, «The *Sesbania* root symbionts *Sinorhizobium saheli* and *S. teranga* bv *sesbaniae* can form stem nodules on *Sesbania rostrata*, although they are less adapted to stem nodulation than *Azorhizobium caulinodans*». *Appl. Environ. Microbiol.* N°63, 1997, pp.1040-1047.
234. Lortet. G, Mear. N, Lorquin. J, Dreyfus. B, De Lajudie. P, Rosenberg. C and Boivin. C, «Nodfactor thin-layer chromatography profiling as a tool to characterize symbiotic specificity of rhizobial strains - application to *Sinorhizobium saheli*, *S. teranga*, and *Rhizobium* sp. strains isolated from *Acacia* and *Sesbania*». *Mol. Plant-Microbe Interact.* N°9, 1996, pp.736-747.
235. Lloret. L, Ormeno-Orrillo. E, Rincon. R, Martinez-Romero. J, Rogel-Hernandez. M.A, Martinez-Romero. E, «*Ensifer mexicanus* sp. Nov. a new species nodulating *Acacia angustissima* (Mill.) ». Kuntze in Mexico. *Syst Appl Microbiol.* Vol.30, N°4, June 2007, pp. 280-290.
236. Young. J. M, «The genus *Ensifer* (Casida, 1982) takes priority over *Sinorhizobium* (Chen *et al.*, 1988) and *Sinorhizobium morelense* (Wang *et al.*, 2002) is a later synonym of *Ensifer adhaerens* (Casida, 1982). Is the combination '*Sinorhizobium adhaerens*' (Casida, 1982) Willems *et al.*, 2003 legitimate? Request for an opinion». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°53, 2003, pp.2107-2110.
237. Willems. A, Fernandez-Lopez. M, Munoz-Adelantado. E, Goris. J, de Vos. P, Martinez-Romero. E, *et al*, «Description of new *Ensifer* strains from nodules and proposal to transfer *Ensifer adhaerens* Casida 1982 to *Sinorhizobium* as

- Sinorhizobium adhaerens* comb. nov. Request for an opinion». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°53, 2003, pp.1207-1217.
238. 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.
239. Wang. E. T, Rogel. M. A, Sui. X. H, Chen. W. X, Martinez-Romero. E, and van Berkum. P, «*Mesorhizobium amorphae*, a rhizobial species that nodulates *Amorpha fruticosa*, is native to American soils». *Arch. Microbiol.* N°178, 2002b, pp.301-305.
240. Velasquez. E, Igual. J. M, Willems. A, Fernandez. M. P, Munoz. E, Mateos. P. F, *et al*, «*Mesorhizobium chacoense* sp. nov., a novel species that nodulates *Prosopis alba* in the Chaco Arido region (Argentina) ». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°51, 2001, pp.1011-1021.
241. Nour. S. M, Fernandez. M. P, Normand. P, and Cleyet-Marel. J. C, «*Rhizobium ciceri* sp. nov., consisting of strains that nodulate chickpeas (*Cicer arietinum* L.) ». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°44, 1994, pp.511-522.
242. Chen. W. X, Li. G. S, Qi. Y. L, Wang. E. T, Yuan. H. L, and Li. J. L, «*Rhizobium huakuii* sp. nov. isolated from the root nodules of *Astragalus sinicus*». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°41, 1991, pp.275-280.
243. Jarvis. B. D. W, van Berkum. P, Chen. W. X, Nour. S. M, Fernandez. M. P, Cleyet-Marel. J. C, and Gillis. M, «Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°47, 1997, pp.895-898.
244. Jarvis. B. D. W, Pankhurst. C. E, and Patel. J. J, «*Rhizobium loti*, a new species of root nodule bacteria». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°32, 1982, pp.378-380.
245. Nour. S. M, Cleyet-Marel. J. C, Normand. P, and Fernandez. M. P, «Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp». *Nov. Int. J. Syst. Bacteriol.* N°45, 1995, pp.640-648.
246. De Lajudie. P, Willems. A, Nick. G, Moreira. F, Molouba. F, Hoste. B, *et al*, «Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. Nov». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°48, 1998b, pp. 369-382.
247. Gao. J. L, Turner. S. L, Kan. F. L, Wang. E. T, Tan. Z. Y, Qui. Y. H, *et al*, «*Mesorhizobium septentrionale* and *Mesorhizobium temperatum* isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°54, 2004, pp.2003-2012.
248. Ghosh.W and Roy.P, «*Mesorhizobium thiogangeticum* sp. Nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph from rhizosphere soil of an Indian tropical leguminous plant». *Int.j.Syst. Evol. Microbiol.* N°56, 2006, pp. 91-97.
249. Chen. W. X, Wang. E. T, Wang. S. Y, Li. Y. B, Chen. X. Q, and Li. Y, «Characteristics of *Rhizobium tianshanense*, sp. nov., a moderately and

- slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, People's Republic of China». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°45, 1995, pp.153-159.
- 250.** Tan. Z. Y, Xu. X. D, Wang. E. T, Gao. J. L, Martínez-Romero. E, and Chen. W. X, «Phylogenetic and genetic relationships of *Mesorhizobium tianshanense* and related rhizobia». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°47, 1997, pp.874-879.
- 251.** Achouak. W, Christen. R, Barakat. M, Martel. M. H, and Heulin. T, «*Burkholderia caribensis* sp. nov., an exopolysaccharide-producing bacterium isolated from vertisol microaggregates in Martinique». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°49, 1999, pp.787-794.
- 252.** Vandamme. P, Goris. J, Chen. W. M, de Vos. P, and Willems. A, «*Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes». *Syst. Appl. Microbiol.* N°25, 2002, pp.507-512.
- 253.** Chen. W.M, James. E.K, Coenye. T, Chou. J.H, Barrios. E, De Faria. S.M, Elliot. G.N, Sheu. S.Y, Sprent. J.I and Vandamma. P, «*Burkholderia mimosarum* sp. Nov., isolated from root nodules of *Mimosa* spp. From Taiwan and South America». *Int. J.Syst. Evol. Microbiol.* N°56, 2006, pp. 1847-1851.
- 254.** Chen .W.M, De Faria. S.M, James. E.K, Elliot. G.N, Lin. K.Y, Chou. J.H, Sheu. S.Y, Cnockaert. M, Sprent. J.I and Vandamme. P, « *Burkholderia nodosa* sp. Nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°57, 2007, pp. 1055-1059.
- 255.** Elliott. G. N, Chen. W. M, Chou. J-H, Wang. H-C, Sheu. S-Y, Perin. L, *et al*, «*Burkholderia phymatum* is a highly effective nitrogen-fixing symbiont of *Mimosa* spp. and fixes nitrogen *ex planta*». *New Phytol.* N° 173, 2007, pp.168-180.
- 256.** Vinuesa. P, Leon-Barrios. M, Silva. C, Willems. A, Jarabo-Lorenzo. A, Perez-Galdona. R, *et al*, «*Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae: Genistae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. *Genistearum*, *Bradyrhizobium* genospecies alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°55, 2005a, pp. 569-575.
- 257.** Vinuesa. P, Silva. C, Werner. D, and Martinez-Romero. E, «Population genetics and phylogenetic inference in bacterial molecular systematics: The role of migration and recombination in *Bradyrhizobium* species cohesion and delineation». *Mol. Phylogen. Evol.* N°34, 2005b, pp. 29-54.
- 258.** Stepkowski. T, Moulin. L, Krzyzanska. A, McInnes. A, Law. I. J, and Howieson. J, «European origin of *Bradyrhizobium* populations infecting lupins and serradella in soils of Western Australia». *Appl. Environ. Microbiol.* N°71, 2005, pp.7041-7052.
- 259.** Kuykendall. L. D, Saxena. B, Devine. T. E and Udell. S. E, «*Bradyrhizobium elkanii* sp.nov. Validation of the publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB, List No 45». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°43, 1993, pp.398-399.

260. Xu. L. M, Ge. C, Cui. Z, Li. J, and Fan. H, «*Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov., isolated from the root nodules of soybeans». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°45, 1995, pp.706-711.
261. Yao. Z. Y, Kan. F. L, Wang. E. T, Wei. G. H, and Chen. W. X, «Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. Nov». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°52, 2002, pp.2219-2230.
262. van Berkum. P, and Eardly. B. D, «The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a nitrogen-fixing symbiont of *Aeschynomene indica*». *Appl. Environ. Microbiol.* N°68, 2002, pp.1132-1136.
263. van Berkum. P, Leibold. J. M, and Eardly. B. D, «Proposal for combining *Bradyrhizobium* spp. (*Aeschynomene indica*) with *Blastobacter denitrificans* and to transfer *Blastobacter denitrificans* (Hirsch and Muller, 1985) to the genus *Bradyrhizobium* as *Bradyrhizobium denitrificans* (comb. nov.)». *Syst. Appl. Microbiol.* N°29, 2006, pp.207-215.
264. Dreyfus. B, Garcia. J. L, and Gillis. M, «Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen.nov., sp. nov. a stem-nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*». *Int. J. Syst. Bacteriol.* N°38, 1988, pp.89-98.
265. Moreira. F. M. S, Cruz. L, Faria. S. M, Marsh. T, Martinez-Romero. E, «*Azorhizobium doebereineriae* sp. nov. Microsymbiont of *Sesbania virgata* (Caz.) ». *Pers. Syst. Appl. Microbiol.* N°29, 2006, pp.197-206.
266. Rivas. R, Willems. A, Subba-Rao. N. S, Mateos. P. F, Dazzo. F. B, Kroppenstedt. R. M, *et al*, «Description of *Devosia neptuniae* sp. nov. that nodulates and fixes nitrogen in symbiosis with *Neptunia natans*, an aquatic legume from India». *Syst. Appl. Microbiol.* N°26, 2003, pp.47-53.
267. Chen. W. M, Laevens. S, Lee. T. M, Coenye. T, de Vos. P, Mergeay. M, *et al*, «*Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°51, 2001, pp.1729-1735.
268. Valverde. A, Velazquez. E, Gutierrez. C, Cervantes. E, Ventosa. A and Igual. J.M, «*Herbaspirillum lusitanum* sp. Nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. ». *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Vol.53, N°6, 2003, pp. 1979-1983.
269. Jourand. P, Giraud. E, Béna. G, Sy. A, Willems. A, Gillis. M, *et al*, «*Methylobacterium nodulans* nov. sp., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule forming and nitrogen-fixing bacteria». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°54, 2004, pp.2269-2273.
270. Zurdo-Pineiro. J.L, Rivas. R, Trujillo. M.E, Vizcaino, N, Carrasco, J.A, Chamber, M, Palomares. A, Mateos. P.F, Martinez-Molina. E, Velazquez. E, «*Ochrobactrum cytisi* sp. Nov., isolated from nodules of *Cytisus scoparius* in Spain». *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N°57, 2007, pp. 784-788.
271. Trujillo. M. E, Willems. A, Abril. A, Planchuelo. A. M, *et al*, «Nodulation of *Lupinus albus* by strains of *Ochrobactrum lupini* nov. sp». *Appl. Environ. Microbiol.* N°71, 2005, pp.1318-1327.

272. Graham. P.H and Vance. C.P, «Legumes: importance and constraints to greater use». *Plant Physiol.* N°131, 2003, pp.872-877.
273. Doyle. J.J, «Phylogenetic perspectives on nodulation: evolving views of plants and symbiotic bacteria». *Trends Plant Sci.* N°3, 1998, pp.473-478.
274. Gordon. A J, Lea. P J, Rosenberg. C, Trinchant. J C, «Nodule formation and function». In Lea. P J, Morot-Gaudry. J F, Eds. *Plant nitrogen*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2001, pp 101-146.
275. Broughton. W.J and Perret. X, «Genealogy of legume-Rhizobium symbioses. *Curr Opin*». *Plant Biol.* N°2, 1999, pp.305-311.
276. Kondorosi. E, et Kondorosi. A, «Control of root nodule organogenesis». In *Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for the analysis of a biological process*. Triplett, EW (ed) Horizon Scientific Press, Wymondham, UK. 2000.
277. Reid. T.C, «Nitrogen fixation by *Ulex europaeus* and *Cytisus scoparius*». University of Canterbury thesis, Lincoln College. 1973, pp. 23-37.
278. O'Toole. P, Cahalane. D.G, Farrell. E.P, «Effects of phosphate fertilizer on biomass production and N₂(C₂H₂) fixation by pot-grown *Ulex gallii* Planchon in a forest soil». *Biol. Fertil. Soils.* N° 12, 1991, pp. 177-181.
279. Binkley. D, Senock. R, Cromack. K.Jr, «Phosphorus limitation on nitrogen fixation by *Facaltaria* seedlings». *For. Ecol. Manage.* N° 186, 2003, pp. 171-176.
280. Gentili. F, Huss-Danell. K, «Local and systemic effects of phosphorus and nitrogen on nodulation and nodule function in *Alnus incana*». *Journal of Experimental Botany.* N° 54, 2003, pp. 2757-2767.
281. Dommergues. Y, Duhoux. E, Diem. HG, « *Les arbres fixateurs d'azote* ». Editions Espace 34, Montpellier, 1999, 528p.
282. Vance. C.P, Egli. M.A, Griffith. S.M and Müller. S.S, «Plant regulated aspects of nodulation and N₂ fixation». *Plant, Cell and Environment.* N°1, 1988, pp.423-427.
283. Perret. X, Staehelin. C and Broughton. W.J, «Molecular basis of symbiotic promiscuity». *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* N°64, 2000, pp. 180-201.
284. Savka. MA, Dessaux. Y, Oger. P, et Rossbach. S, «Engineering bacterial competitiveness and persistence in the phytosphere». *Mol Plant Microbe Interact.* N°15, 2002, pp.866-874.
285. Dénarié. J, Debelle. F and Prome. J.C, «*Rhizobium* lipo-chitooligosaccharide nodulation factors: signaling molecules mediating recognition and morphogenesis». *Annu Rev Biochem.* N°65, 1996, pp.503-35.
286. Ehrhardt. D.W, Wais. R and Long. S.R, «Calcium spiking in plant root hairs responding to *Rhizobium* nodulation signals». *Cell.* N°85, 1996, pp.673-681.
287. Spaik. H.P, «Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria». *Annu Rev Microbiol.* N°54, 2000, pp.257-88.
288. Kambara. K, Ardisson. S, Kobayashi. H, Saad. M, Schumpp. O, Broughton. W.J, and Deakin.W.J, «*Rhizobia* utilize homologues of pathogenic effector

- proteins during symbiosis». *Molecular Microbiology*. Submitted. 2008, pp. 92-106.
- 289.** Mateos. PF, Baker. DL, Petersen. M, Velázquez. E, Jiménez-Zurdo. JI, Martínez-Molina. E, Squartini. A, Orgambide. G, Hubbell. DH et Dazzo. FB, «Erosion of root epidermal cell walls by Rhizobium polysaccharide-degrading enzymes as related to primary host infection in the Rhizobium-legume symbiosis». *Can J Microbiol*. N°47, 2001, pp.475-487.
- 290.** Gage. DJ, et Margolin. W, «Hanging by a thread: invasion of legume plants by rhizobia». *Curr Opin Microbiol*. N°3, 2000, pp.613-617.
- 291.** Brencic. A, and Winans. S.C, «Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria». *Microbiol Mol Biol Rev*. N°69, 2005, pp.155-194.
- 292.** Reddy. P.M, Rendón-Anaya. M, Río. M.d.I.D.S.d, and Khandual. S, «Flavonoids as Signaling Molecules and Regulators of Root Nodule Development». *In Global Science Books*. Vol. 1, México. 2007, pp. 83-94.
- 293.** Chen. W. M, James. E. K, Chou. J. H, Sheu. S. Y, Yang. S. Z, and Sprent. J. I, «beta-Rhizobia from *Mimosa pigra*, a newly discovered invasive plant in Taiwan». *New Phytol*. N° 168, 2005, pp.661-675.
- 294.** Cosgrove. D.J, Li. L. C, Cho. H.T, Hoffmann-Benning. S, Moore. R.C and Blecker. D, «The growing world of expansions». *Plant Cell Physiol*. N°43, 2002, pp. 1436-1444.
- 295.** Downie. J. A, «Functions of rhizobial nodulation genes». In Spaink. H. P, Kondorosi. A, and Hooykaas. P. J. J, Eds. *The Rhizobiacea*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1998, pp. 387-402.
- 296.** Peters. N.K, Frost. J.W, and Long. S.R, «A plant flavone, luteolin, induces expression of Rhizobium meliloti nodulation genes». *Science*. N°233, 1986, pp.977-980.
- 297.** Normand. P, Lapierre. P, Tisa. LS, Gogarten. JP, Alloisio. N, Bagnarol. E, Bassi. CA, Berry. AM, Bickhart. DM, Choisne. N, Couloux. A, Cournoyer. B, Cruveiller. S, Daubin. V, Demange. N, Francino. MP, Goltsman. E, Huang. Y, Kopp. OR, Labarre. L, Lapidus. A, Lavire. C, Maréchal. J, Martinez. M, Mastronunzio. JE, Mulin. BC, Niemann. J, Pujic. P, Rawnsley. T, Rouy. Z, Schenowitz. C, Sellstedt. A, Tavares. F, Tomkins. JP, Vallenet. D, Valverde. C, Wall. LG, Wang. Y, Medigue. C, Benson. DR, «Genome characteristics of facultatively symbiotic *Frankia* sp. strains reflect host range and host plant biogeography». *Genome. Res*. N°17, 2007, pp. 7-15.
- 298.** Cullimore JV, Ranjeva. R, et Bono. JJ, «Perception of lipochitooligosaccharidic Nod factors in legumes». *Trends Plant Sci*. N°6, 2001, pp.24-30.
- 299.** Broughton. W.J, Jabbouri. S, and Perret. X, «Keys to symbiotic harmony». *J Bacteriol*. N°182, 2000, pp.5641-52.
- 300.** Peck. M.C, Fisher. R.F, and Long. S.R, «Diverse flavonoids stimulate NodD1 binding to *nod* gene promoters in *Sinorhizobium meliloti*». *J Bacteriol*. N°188, 2006, pp.5417-27.

301. Göttfert. M, Grob. p, and Hennecke. H, «Proposed regulatory pathway encoded by the *nodV* and *nodW* genes, determinants of host specificity in *Bradyrhizobium japonicum*». *Proc Natl Acad Sci U S A*. N°87, 1990, pp.2680-4.
302. Loh. J, Garcia. M, and Stacey. G, «NodV and NodW, a second flavonoid recognition system regulating *nod* gene expression in *Bradyrhizobium japonicum*». *J Bacteriol*. N°179, 1997, pp.3013-20.
303. Sanjuan. J, Carlson. R.W, Spaink. H.P, Bhat. U.R, Barbour. W.M, Glushka. J and Stacey. G, «A 2-Omethylfucose moiety is present in the lipooligosaccharide nodulation signal of *Bradyrhizobium japonicum*». *Proc Natl Acad Sci U S A*. N°89, 1992, pp. 8789-93.
304. Moulin. L, Munive. A, Dreyfus. B, and Boivin-Masson. C, «Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria». *Nature*. N°411, 2001, pp. 48-50.
305. Giraud. E, Moulin. L, Vallenet. D, Barbe. V, Cytryn. E, Avarre. J.C, Jaubert. M, Simon. D, Cartieaux. F, Prin. Y, Bena. G, Hannibal. L, Fardoux. J, Kojadinovic. M, Vuillet. L, Lajus. A, Cruveiller. S, Rouy. Z, Mangenot. S, Segurens. B, Dossat. C, Franck. W.L, Chang. W.S, Saunders. E, Bruce. D, Richardson. P, Normand. P, Dreyfus. B, Pignol. D, Stacey. G, Emerich. D, Vermeoglio. A, Medigue. C, and Sadowsky. M, «Legumes symbioses: absence of Nod genes in photosynthetic bradyrhizobia». *Science*. N°316, 2007, pp.1307-1312.
306. Yang. GP, Debellé. F, Savagnac. A, Ferro. M, Schiltz. O, Maillet. F, Promé. D, Trilhou. M, Vialas. C, Linstrom. K, Dénarié. J, Promé. JC, «Structure of the *Mesorhizobium huakuii* and *Rhizobium galegae* Nod factors: a cluster of phylogenetically related legumes are nodulated by rhizobia producing Nod factors with α,β -unsaturated N-acyl substitutions». *Molec Microbiol*. N°34, 1999, pp.227-237.
307. Price. N.P.J, Relic. E, Talmont. F, Lewln. A, Promb. D, Pueppke. S.G, Mallet. F, Dbnarlb. J, Promb. J.C and Broughton. W.J, «Broad-host-rang *Rhizobium* species strain NGR234 secretes a family of carbamoylated, and fucosylated, nodulation signas that are O-acetylated or sulphated». *MOI. Microbiol*. N°6, 1992, pp. 3575-3584.
308. Laeremans. T, and Vanderleyden. J, «Infection and nodulation signalling in *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis». *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol.14, N° 6, 1998, pp.787-808.
309. Schultze. M, Kondorosi. A, «Regulation of symbiotic root nodule formation». *Ann Rev Genetics*. N°32, 1998, pp.33-57.
310. Relić. B, Talmont. F, Kopcinska. J, Golinowski. W, Promé. J.C, and Broughton. J, «Biological-activity of *Rhizobium* sp NGR234 Nod-factors on *Macroptilium atropurpureum*». *Mol. Plant-Microbe Interact*. N° 6, 1993, pp.764-774.
311. Relić. B, Perret. X, Estrada-Garcia. M. T, Kopcinska. J, Golinowski. W, Krishnan. H. B, *et al*, « Nod factors of *Rhizobium* are a key to the legume door». *Mol. Microbiol*. N°13, 1994, pp.171-178.

312. Hirsch. A.M, «Role of lectins (and rhizobial exopolysaccharides) in legume nodulation». *Curr. Opin. Plant. Biol.* N°2, 1999, pp.320-326.
313. Fraysse. N, Couderc. F and Poinso. V, «Surface polysaccharide involvement in establishing the *rhizobium*-legume symbiosis». *Eur. J .Biochem.* N°270, 2003, pp.1365-80.
314. Gray. J.X and Rolfe. B.G, «Exopolysaccharide production in *Rhizobium* and its role in invasion». *Mol Microbiol.* N° 4, 1990, pp. 1425-1431.
315. Hotter. G.S and Scott. D.B, «Exopolysaccharide mutants of *Rhizobium loti* are fully effective on a determinate nodulating host but are ineffective on an indeterminate nodulating host». *J .Bacteriol.* N°173, 1991, pp.851-859.
316. Becker. A, Fraysse. N and Sharypova. L, «Recent advances in studies on structure and symbiosisrelated function of rhizobial K-antigens and lipopolysaccharides». *Mol Plant Microbe Interact.* N°18, 2005, pp.899-905.
317. Foucher. F, et Kondorosi. E, «Cell cycle regulation in the course of nodule organogenesis in *Medicago*». *Plant .Mol .Biol.* N°43, 2000, pp.773-786.
318. Kondorosi. E, Redondo-Nieto. M and Kondorosi. A, «Ubiquitin-mediated proteolysis. To be in the right place at the right moment during nodule development». *Plant Physiol.* N°137, 2005, pp.1197-1204.
319. Monahan-Giovanelli. H, Pinedo. C.A, and Gage. D.J, «Architecture of infection thread networks in developing root nodules induced by the symbiotic bacterium *Sinorhizobium meliloti* on *Medicago truncatula*». *Plant Physiol.* N°140, 2006, pp.661-670.
320. Truchet. G, Barker. D.G, Camut. S, de Billy. F, Vasse. J, and Huguet. T, «Alfalfa nodulation in the absence of *Rhizobium*». *Mol. Gen. Genet.* N°219, 1989, pp.65-68.
321. Truchet. G, Roche. P, Lerouge. P, Vasse. J, Camut. S, de Billy. F, Prome. J.C, and Denarie. J, «Sulfated lipo-oligosaccharide signals of *Rhizobium meliloti* elicit root nodule organogenesis in alfalfa». *Nature.* N°351, 1991, pp.670-673.
322. Timmers. A.C, Auriac. M.C and Truchet. G, «Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium*-*Medicago* interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements». *Development.* N°126, 1999, pp.3617-3628.
323. Kambara. K, «Regulation and Effects of the Type-three Secretion System of *Rhizobium* species NGR234». Thèse de Doctorat en sciences, université de Genève, 2008, 130p.
324. Vasse. J, de Billy. F, Camut. S and Truchet. G, «Correlation between ultrastructural differentiation of bacteroids and nitrogen fixation in alfalfa nodules». *J. Bacteriol.* N°172, 1990, pp.4295-4306.
325. Timmers. A.C, Auriac. M.C, de Billy. F and Truchet. G, «Nod factor internalization and microtubular cytoskeleton changes occur concomitantly during nodule differentiation in alfalfa». *Development.* N°125, 1998, pp.339-349.

326. Mergaert. P, Uchiumi. T, Alunni. B, Evanno. G, Cheron. A, Catrice. O, Mausset. A.E, Barloy-Hubler. F, Galibert. F, Kondorosi. A and Kondorosi. E, «Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the Rhizobium-legume symbiosis». *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* N°103, 2006, pp.5230-5235.
327. Timmers.A.C, Soupene.E, Auriac.M.C, de Billy.F, Vasse.J, Boistard.P, and Truchet.G, «aprophytic intracellular rhizobia in alfalfa nodules». *Mol.Plant icrobe Interact.* N°13, 2000, pp.1204-1213.
328. Hirsch. A.M, «Developmental biology of legume nodulation». *New Phytol.* N°122, 1992, pp.211-237.
329. Peret. B, «Transport de l'auxine et développement du nodule actinorhizien chez l'arbre tropical *Casuarina glauca*». Thèse de Doctorat, universite montpellier II, 2007, 71p.
330. Crespi. M and Galvez. S, «Molecular Mechanisms in Root Nodule Development». *J .Plant Growth. Regul.* N°19, 2000, pp.155-166.
331. Pawlowski. K, et Bisseling. T, «Rhizobial and Actinorhizal Symbioses: What Are the Shared Features? ». *Plant Cell.* N°8, 1996, pp.1899-1913.
332. Kneip. C, Lockhart. P, Voss. C and Maier. U.G, «Nitrogen fixation in eukaryotes--new models for symbiosis». *BMC Evol Biol.* N° 7, 2007, pp. 2148-2155.
333. Udvardi. M.K and Day. D.A, «Metabolite Transport across Symbiotic Membranes of Legume Nodules». *Annu. Rev. Plant Physiol .Plant Mol Biol.* N°48, 1997, pp.493-523.
334. Prell. J and Poole. P, «Metabolic changes of rhizobia in legume nodules». *Trends Microbiol.* N°14, 2006, pp.161-168.
335. Barsch. A, Carvalho. H.G, Cullimore. J.V, and Niehaus. K, «GC-MS based metabolite profiling implies three interdependent ways of ammonium assimilation in *Medicago truncatula* root nodules». *J. Biotechnol.* N°127, 2006, pp.79-83.
336. Rees. DC, et Howard. JB, «Nitrogenase: standing at the crossroads». *Curr. Opin. Chem. Biol.* N°4, 2000, pp.559-566.
337. Costerton. J.W, Stewart, P, and Greenberg. E, «Bacterial biofilms: a common cause of persistant infections». *Science.* N° 284, 1999, pp.1318-1322.
338. Fuqua. C and Greenberg. E. P, «Self perception in bacteria: quorum sensing with acylated homoserine lactones». *Curr. Opin. Microbiol.* N°1, 1998, pp.183-189.
339. Salmond. G.P. C, Bycroft. B.W, Stewart. G.S.A.B and Williams. P, «The bacterial 'enigma': cracking the code of cellcell communication». *Molec. Microbiol.* N°16, 1995, pp. 615-624.
340. Dunny. GM, Winans. SC, «Cell-cell signaling in bacteria». Washington, DC: ASM Press. 1999.
341. Gonzalez. J.E, Marketon. M.M, «Quorum sensing in nitrogenfixing rhizobia». *Microbiol Mol Biol Rev.* N° 67, 2003, pp. 574–592.

342. Greenberg. E.P, «Acyl-homoserine lactone quorum sensing in bacteria». J. Microbiol. N°38, 2000, pp.117–121.
343. Miller. M.B, Bassler. B.L, «Quorum sensing in bacteria». Annu. Rev. Microbiol. N°55, 2001, pp.165–199.
344. Waters. C. M, and Bassler. B. L, «Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria».Annu. Rev. Cell Dev. Biol. N°21, 2005, pp.319–346.
345. Bassler. B. L, «Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria». Cell. N°109, 2002, pp.421–424.
346. Fuqua. C, Parsek. M. R and Greenberg. E. P, «Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing». Annu. Rev. Genet. N°35, 2001, pp.439–468.
347. Whitehead. N. A, Barnard. A. M, Slater. H, Simpson. N. J and Salmond. G. P, «Quorum-sensing in Gram-negative bacteria». FEMS Microbiol. Rev. N°25, 2001, pp.365–404.
348. Winzer. K, Hardie. K. R, and Williams. P, « Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now—gone to lunch!». Curr. Opin. Microbiol. N°5, 2002, pp.216–222.
349. Withers. H, Swift. S and Williams. P, «Quorum sensing as an integral component of gene regulatory networks in Gram-negative bacteria». Curr. Opin. Microbiol. N°4, 2001, pp.186–193.
350. Uzureau. S, «Quorum Sensing chez *Brucella melitensis* : caractérisation du régulateur transcriptionnel VjbR et de son régulon». Thèse de Doctorat en sciences, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Belgique, 2007, 167p.
351. Lazazzera. B. A, «The intracellular function of extracellular signaling peptides». Peptides. N°22, 2001, pp.1519–1527.
352. Chhabra S. R, Philipp. B, Eberl. L, Givskov. M, Williams. P, & Cámara. M, «Extracellular communication in bacteria». In Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals. Edited by S. Schulz. Berlin/Heidelberg: Springer. N°2, 2005, pp. 279–315.
353. Williams. P, Winzer. K, Chan. W, & Camara. M, «Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world». Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. N°362, 2007, pp.1119–1134.
354. Fuqua. W. C and Winans. S. C, «A LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite». J. Bacteriol. N°176, 1994, pp.2796–2806.
355. Gray. K. M, «Intercellular communication and group behavior in bacteria». Trends Microbiol. N°5, 1997, pp.184–188.
356. Parsek. M. R and Greenberg. E. P, «Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms». Proc. Natl. Acad. Sci. USA. N°97, 2000, pp.8789–8793.

357. More´. M. I, Finger. L. D, Stryker. J. L, Fuqua. C, Eberhard. A, and Winans. S. C, «Enzymatic synthesis of a quorum-sensing autoinducer through use of defined substrates». *Science*. N°272, 1996, pp.1655–1658.
358. Parsek. M. R, Val. D. L, Hanzelka. B. L, Cronan. J. E. J and Greenberg. E. P, «Acyl homoserine-lactone quorum-sensing signal generation». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. N°96, 1999, pp.4360–4365.
359. Bassler. B.L, Wright. M, Showalter. R.E and Silverman. M.R, «Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence». *Mol. Microbiol.* N° 9, 1993, pp.773-786.
360. Nasser. W and Reverchon. S, «New insights into the regulatory mechanisms of the LuxR family of quorum sensing regulators». *Anal. Bioanal. Chem.* Vol.387, N°2, 2006, pp.381-390.
361. Laue. B.E, Jiang. Y, Chhabra. S.R, Jacob. S, Stewart. G.S, Hardman. A, Downie. J.A, O'Gara. F, and Williams. P, «The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, N-(3-hydroxy-7-cis-tetradecenoyl)homoserine lactone, via HdtS, a putative novel N-acylhomoserine lactone synthase». *Microbiology*. Vol.146, 2000, pp.2469-2480.
362. Leadbetter. J.R and Greenberg. E.P, «Metabolism of acyl-homoserine lactone quorumsensing signals by *Variovorax paradoxus*». *J. Bacterio.* N°182, 2000, pp. 6921-6926.
363. Marketon. M. M, Glenn S. A, Eberhard. A and Gonzales. J. E, «Quorum sensing controls exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*». *J. Bacteriol.* N°185, 2003, pp.325–331.
364. Ohtani. K, Hayashi. H and Shimizu. T, «The *luxS* gene is involved in cell-cell signalling for toxin production in *Clostridium perfringens*». *Mol. Microbiol.* N°44, 2002, pp.171–179.
365. Quinones. B, Dulla. G and Lindow. S. E, «Quorum sensing regulates exopolysaccharide production, motility, and virulence in *Pseudomonas syringae*». *Mol. Plant-Microbe Interact.* N°18, 2005, pp.682–693.
366. Rice. S. A, Koh K. S, Queck. S. Y, Labbate. M, Lam. K. W and Kjelleberg. S, «Biofilm formation and sloughing in *Serratia marcescens* are controlled by quorum sensing and nutrient cues». *J. Bacteriol.* N°187, 2005, pp.3477–3485.
367. Suntharalingam. P and Cvitkovitch. D. G, «Quorum sensing in streptococcal biofilm formation». *Trends Microbiol.* N°13, 2005, pp.3–6.
368. Kievit. T.R and Iglewski. B.H, «Bacterial quorum-sensing in pathogenic relationships». *Infect. Immun.* N°68, 2000, pp.4839-4849.
369. Hoang. H.H, Becker. A and Gonzalez. J. E, «The LuxR homolog ExpR, in combination with the Sin quorum-sensing system, plays a central role in *Sinorhizobium meliloti* gene expression». *J. Bacteriol.* N°186, 2004, pp.5460–5472.
370. Pellock. B. J, Teplitski. M, Boinay. R. P, Bauer. W. D and Walker. G. C, «A LuxR homolog controls production of symbiotically active extracellular

- polysaccharide II by *Sinorhizobium meliloti*». J. Bacteriol. N°184, 2002, pp.5067–5076.
- 371.** He. X, Chang. W, Pierce. D. L, Seib. L. O, Wagner. J and Fuqua. C, «Quorum sensing in *Rhizobium* sp. strain NGR234 regulates conjugal transfer (*tra*) gene expression and influences growth rate». J. Bacteriol. N°185, 2003, pp.809–822.
- 372.** Tun-Garrido. C, Bustos. P, Gonza'lez. V, and Brom. S, «Conjugative transfer of p42a from *Rhizobium etli* CFN42, which is required for mobilization of the symbiotic plasmid, is regulated by quorum sensing». J. Bacteriol. N°185, 2003, pp.1681–1692.
- 373.** Cubo. M. T, Economou. A, Murphy. G, Johnston. A. W and Downie. J. A, «Molecular characterization and regulation of the rhizosphere-expressed genes *rhiABCR* that can influence nodulation by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*». J. Bacteriol. N°174, 1992, pp.4026–4035.
- 374.** Daniels. R, De Vos. D. E, Desair. J, Raedschelders. G, Luyten. E, Rosemeyer. V, Verreth. C, Schoeters. E, Vanderleyden. J and Michiels. J, «The *cin* quorum sensing locus of *Rhizobium etli* CNPAF512 affects growth and symbiotic nitrogen fixation». J. Biol. Chem. N°277, 2002, pp.462–468.
- 375.** Rodelas. B, Lithgow. J. K, Wisniewski-Dye. F, Hardman. A, Wilkinson. A, Economou. A, Williams. P and Downie. J. A, «Analysis of quorum-sensing-dependent control of rhizosphere-expressed (*rhi*) genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*». J. Bacteriol. N°181, 1999, pp.3816–3823.
- 376.** Benzina. F, «Isolement et identification taxinomique des *Pseudomonas* spp fluorescents à partir de rhizosphère du palmier dattier et mise en évidence de leurs activités antagonistes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* ». Thèse Ing Ines Agro Blida. 2001, 77p.
- 377.** Toua. D, «Essai d'utilisation de *Pseudomonas fluorescens* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* et de *Verticillium dahliae* sur tomate et dans la promotion de la croissance végétale». Thèse Magister. INA. El Harrach. Alger.1996, 138p.
- 378.** Défago. G, Haas. D, Berling. C.H, Burger.U, Keel.C, Voisard.C, Wirthner.P, Wuthrich.B, «Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: Biological control of soil – borne plant pathogens» (D. Hornby, ed), CAB, Int, 1990, pp. 93-108.
- 379.** Keel. C, Schneider. U, Maurhofer. M, Voisard. C, Laville. J, Burger. U, Wirthmer. Haas. D and Défago. G, «Suppression of root disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the Bacterial secondary metabolite 2,4- diacetylphloroglucinol». Mol. Pant. Microbe Interact. N°5, 1992, pp. 4-13.
- 380.** Georgakopoulos. D. G, Hendson. M.N, Panopoulos. J and Schroth. M. N, «Cloning of a phenazine biosynthetic locus of *Pseudomonas aureofaciens* PGS12 and analysis of its expression in vitro with the ice nucleation reporter gene», Appl. Environ. Microbiol, N° 60, 1994, pp. 2931 - 2938.

381. Youard. Z.A, Mislin. G.L.A, Majcherczyk. P.A, Schalk. I.A, Reimmann. C, « *Pseudomonas fluorescens* CHA0 Produces Enantio-pyochelin, the Optical Antipode of the *Pseudomonas aeruginosa* Siderophore Pyochelin», J. Biol. Chem., Vol. 282, N° 49, December 2007, pp.35546-35553.
382. Bensaid.F, « Etude de l'effet des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de l'isolat FO47 de *Fusarium oxysporum* non pathogene dans la lutte biologique vis-à-vis des fusarioses vasculaires ». Thèse magister agro Blida. 2006, 135p.
383. Jousset. A, Scheu. S, Bonkowski. M, «Secondary metabolite production confers high competitive advantage for *Pseudomonas fluorescens* CHA0 through grazing resistance against protozoan predators (*Acanthamoeba castellanii*) ». International conference, Rhizosphere. Vol.2, N° 6, 2007, pp. 95-116.
384. King. E.O, Wark. M.K and Raney.D.E, «Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein». Journal of Laboratory and chemical medicine N°44, 1954, pp. 301-307.
385. Kjeldahl. J, «A new method for the determination of nitrogen in organic matter». Zeitschreft fur Analytische Chemie. N°22, 1883, 366p.
386. Pal. K.K, Tilak. K.V.B.R, Saxcna. A.K, Dey. R, Singh. C.S, «Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria». *Microbiol. Res.* N° 156, 2001, pp. 209-223.
387. Esashi. Y, «Ethylene and seed germination». In A.K Matoo and J.C. Suttle (ed.) «The plant hormone ethylene». CRC Press, Boca Raton, FL. 1991, pp. 133-157.
388. Gravel. V, Antoun. H and Tweddell. R.J, «Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA) ». *Soil. Biol. Biochem.*, vol.39, 2007, pp. 1968–1977.
389. Kozdroja. J, Trevorsb J.T and van Elsasc. J.D, «Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere». *Soil. Biol. Biochem.*, vol.36, 2004, pp.1775–1784.
390. Shaharoon. B, Arshad. M, Zahir. Z.A, «EVect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.) ». *Lett Appl Microbiol.* N° 42, 2006, pp. 155–159.
391. Anderson. A.J, Guerra. D, «Reponses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponoc system». *Phytopathology.* N°75, 1985, pp. 992-995.
392. Sakthivel. E, Sivamani. E, Unnamalai. N, Gnanamanickam. S.S, «plant growth-promoting rhizobacteria in enhanacing plant growth and suppressing plant pathogens». *Curr Sci (Bangalore).* N°55, 1986, pp. 22-25.

393. Dey. R, Pal. K.K, Bhatt. D.M, Chauhan. S.M, «Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria». *Microbiol. Res.* N°159, 2004, pp. 371-394.
394. Vitousek. P. M, Aber. J. D, Howarth. R. W, Likens. G. E, Matson. P. A, Schindler D. W. Schlesinger. W. H and Tilman. D. G, 1997. «Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences». *Ecol. Appl.* N°7, 1997, pp. 737-750.
395. Morot-Gaudry. J.F, «Assimilation de l'azote chez les plantes ». Inra, Editions Quae, 1997, 422p.
396. Rudresha. D.L, Shivaprakasha. M.K, Prasad. R.D, «Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and Trichoderma spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.) ». *Applied Soil Ecology*, N° 28, 2005, pp. 139–146.
397. Bagnasco. P, DE LA Fuente. L, Gualtieri. G, Noya. F, Arias. A, «Fluorescent pseudomonas spp. As biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi». *Soil Biology and Biochemistry*, V. 30, 1998, pp.1317-1322.
398. Marek-Kozaczuk. M, Kopcidska. J, Lotocka. B, Golinowski.W, Skorupska. A, «Infection of clover by plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* studied by mTn5-*gusA*». *Antonie von Leeuwenhock.* V. 78, 2000, pp. 1-11.
399. Martins. A, Kimura. O, Ribeiro. R.L.D, Baldani. J.I, «Efeito da microbiolização de sementes com rizobactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* sobre a “murcha fusariana” do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ». *Agronomia*, V. 37, N° 1, 2003, pp. 69-75.
400. Lucas Guarcia. J.A, Probanza. A, Ramos. B, Barriuso. J, Gutierrez. M, «Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and *Sinorhizobium fredii* on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Glycine max* cv. Osumi». *Plant and Soil*, V. 267, 2004, pp. 143-153.
401. Peix. A, Rivas-Boyer. A. A, Mateos. P. F, Ridriguez-Barrueco. C, Martinez-Molina. E and Velazquez. E, «Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions». *Soil Biol. Biochem.* N° 33, 2001, pp. 103-110.
402. Tilak. KVBR, Ranganayaki. N, Manoharachari. C, «Synergistic eVects of plant-growth promoting rhizobacteria and Rhizobium on nodulation and nitrogen Wxation by pigeonpea (*Cajanus cajan*)». *Eur J Soil Sci*, N° 57, 2006, pp. 67–71
403. Remans. R, Ramaekers. L, Schelkens. S, Hernandez. G, Galvez. L, Vanderleyden. J, «Effect of *Rhizobium-Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus vulgaris* L. genotypes cultivated across different environments in Cuba». *Plant and soil*, Vol 71, 2008, pp. 92-106.
404. Chebotar. V. K. K, Asis. C.A, Akao. S, «Production of growth-promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum*». *Biol Fert Soils*, N° 34, 2001, pp. 427-432.

405. Goel. A. K, Sindhu. S.S and Dadarwal. K.R., 2002, «Stimulation of nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by *Pseudomonas* spp. antagonistic to fungal pathogens». *Biol. Fertil. Soils*, N° 36, 2002, pp. 391-396.
406. Buddrus. K, Schmid. M, Hartmann. A, «Application and plant growth promoting effect of a commercially used biological plant stimulator in barley». International Conference, Rhizosphere. Vol. 2, N° 1, 2007, pp. 1-12.
407. Kloepper. J.W, Schroth M.N, «Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora». *Phytopathology*, N° 71, 1981, pp. 1020-1024.
408. Paa A.S, «Formulation useful in applying beneficial microorganisms to seeds». *Trend Biotechnol*, N° 6, 1989, pp. 276-279.
409. Digat. B, «A new encapsulation technology for bacterial inoculants and seeds». *Trends Biotechnol*, N° 6, 1991, pp. 276-279.
410. Vesper. J.S, «Production of Pili (Fimbriae) by *Pseudomonas fluorescens* and Correlation with Attachment to Corn Roots», *Appl Environ Microbiol.* vol.53, N°7, 1987, pp. 1397-1405.
411. Simons. M, van der Bij. A.J, Brand. J, de Weger. L.A, Wijffelman. C.A and Lugtenberg. B.J.J, «Gnotobiotic system for studying rhizosphere colonization by plant growth-promoting *Pseudomonas* bacteria», *Mol. Plant-Microbe Interact.* N°9, 1996, pp. 600-607.
412. Bai. Y, D'Aoust. F, Smith. D.L and Driscoll. B.T, «Isolation of plant-growth promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules». *Can. J. Microbiol*, N° 48, 2002, pp. 230 -238.
413. Ozturk. O, Caglar. O and Sahin. F, «Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of nitrogen fertilization». *J. Plant. Nutr. Soil Sci*, vol.166, 2003, pp. 262–266.
414. Salantur. A, Ozturk. A and Akten. S, «Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria». *Plant Soil Environ*, N° 52, 2006, pp. 111-118.
415. Egamberdiyeva. D, «The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils». *Appl. Soil. Eco*, vol.36, 2007, pp.184-189.
416. Cattelan. A.J, Hartel. P.G and Fuhrmann. J.J, «Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth». *Soil Sci.Soc.Am. J.*, vol. 63, 1999, pp.1670–1680.
417. Cakmakc. R.I, Aydyn. D.F and Sahin. A.F, «Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions». *Soil Biol. Biochem*, N° 38, 2006, pp. 1482-1487.
418. Kloepper, J.W.E, «Plant growth-promoting rhizobacteria as biocontrol agents. *In* F.B. Metting, Jr. (ed.) *Soil microbiol ecology. Application in agricultural and environmental management*». Marcel Dekker Inc., New York, 1993, 373-379.

419. Bashan. Y, Holguin. G and De-Bashan. L.E, «*Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003) ». Can. J. Microbiol, N°50, 2004, pp. 521-577.
420. Gerhardson, B. and Wright. S, «Bacterial associations with plants: Beneficial, non N-fixing interactions». pp. 79-103. In K. Sivasithamparam. K, Dixon. K.W, and Narrett. R.L (eds.) «Microorganism in Plant Conservation and Biodiversity». Kluwer Academic Press, London, 2002.
421. Abbass. Z and Okon. Y, «Plant growth promotion by *Azotobacter paspali* in the rhizosphere». Soil Biol. Biochem, N° 25, 1993, pp. 1075-1083.
422. Vikram. A, «Efficacy of phosphate solubilizing bacteria isolated from vertisols on growth and yield parameters of sorghum». Res. J. Microbiol, N° 2, 2007, pp. 550-559.
423. Khalid. A, Arshad. M and Zahir. Z.A, «Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat». J. Applied Microbiol, N° 29, 2004, pp. 473-480.
424. Kumar. B. S. D, Berggren. I and Martensson. A. M, «Potential for improving pea production by co-inoculation with fluorescent *Pseudomonas* and *Rhizobium*». Plant Soil, N° 229, 2001, pp. 25-34.
425. De Leij. F.A.A.M, Dixon-Hardy. J. E, Lynch. J. M, «Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing and non-producing strains of *Pseudomonas fluorescens* on root development of pea seedlings in three different soil types and its effect on nodulation by *Rhizobium*» Biol. Fertil. Soils, N° 35, 2002, pp.114-121.
426. Moenne-Loccoz. Y, Tichy. H.V, O'Donnell. A, Simon. R, and O'Gara. F, «Impact of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 on intraspecific diversity of resident culturable fluorescent pseudomonads associated with the roots of field-grown sugar beet seedlings». Appl Environ Microbiol, N° 67, 2001, pp. 3418-3425.
427. Normander. B, Hendriksen. N.B and Nybroe. O, «Green fluorescent protein-marked *Pseudomonas fluorescens*: localization, viability, and activity in the natural barley rhizosphere». Applied and Environmental Microbiology, N° 65, 1999, pp. 4646-4651.
428. Sorensen. J, Jensen. L.E and Nybroe. O, «Soil and rhizosphere as habitats for *Pseudomonas* inoculants: New knowledge on distribution, activity and physiological state derived from micro-scale and single-cell studies». Plant and soil, N° 232, 2001, pp. 97-108.
429. Bahme. J.B, Schroth. M.N, «Spatial Temporal Colonization Patterns of a Rhizobacterium on Underground Organs of Potato». Phytopathology, N° 77, 1987, pp. 1093-1100.
430. Lemanceau. P, Corberand. T, Latour. X, Laguerre. G, Boeufgra. J.M, Alabouvette. C, «Effect of Two Plant Species, Flax and Tomato, on the Diversity of SoilBorn Populations of Fluorescent Pseudomonads». Appl Environ Microbiol, N° 61, 1995, pp. 1004 -1012.

431. Berg. G, Roskot. N, Steidle. A, Eberl. L, Zock. A, Smalla. K, «Plant Dependent Genotypic and Phenotypic Diversity of Antagonistic Rhizobacteria Isolated from Different Verticillium Host Plant». *Appl Environ Microbiol*, N° 68, 2002, pp. 3328 - 3338.
432. [Anderson](#). A.J, Habibzadegah-Tari. P and Tepper. C.S, «Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*». *Appl. Environ. Microbiol*, N° 54, 1988, pp. 375–380
433. [Phillips](#). D.A, Streit. W.R, «Applying plant-microbe signaling concepts to alfalfa: roles for secondary metabolites». In: Mckersie. B.D, Brown. D.C.W. (Eds), «Biotechnology and Improvement of Forage Legumes». CAB International, University Press, Cambridge, 1997, pp. 319–342.
434. [Seong](#). K.Y, Hofte. M, Boelens. J and Verstraete. W, «Growth, survival and root colonization of plant growth beneficial *Pseudomonas fluorescens* ANP15 and *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 at different temperatures». *Soil Biol. Biochem*, N° 23, 1991, pp. 423–428.
435. Shishido. M, Chanway. C.P, «Colonization and growth promotion of outplanted spruce seedlings pre-inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria in the greenhouse». *Canadian journal of forest research*, vol. 30, N° 6, 2000, pp. 845-854.
436. Wu. S. C, Cao. Z. H, Li. Z. G, Cheung. K. C, and Wong. M. H, «Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial». *Geoderma*, N° 125, 2005, pp. 155-166.
437. Zhang. F, Dashti. N, Hynes. R.K and Smith. D.L, «Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Nodulation and Nitrogen Fixation at Suboptimal Root Zone Temperatures». *Annals of Botany*, N°77, 1996, pp. 453-459.
438. Andrade. G, Mihara. K.L, Linderman. R.G, Bethlenfalvay. G.J, «Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere», *Plant and Soil*, N°202, 1998, pp. 89-96.
439. Lucas-Garcia. J.A, Probanza. A, Ramos. B, Colon-Flores. J.J, Gutierrez-Manero. F.J, «Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) on the biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Lupinus albus* l. cv. Multolupa», *Engineering Life Sciences*, N°4, 2004, pp. 71-77.
440. Mrkovacki. N, and Milic. V, «Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application». *Ann. Microbiol*, vol. 51, 2001, pp.145–158.
441. Ahmad. F, Ahmad. I and Khan. M.S, «Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities». *Microbial. Res*, vol. 36, 2006, pp.1-9.
442. Bharathi. R, Vivekananthan. R, Harish. S, Ramanathan. A and Samiyappan. R, «Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies». *Crop Protec*, vol.23, 2004, pp, 835–843.
443. Jeun. V.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. Contorl*, vol.29, 2004, pp. 34–42.

444. Cattelan. A.J, Hartel. P.G and Fuhrmann. J.J, «Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth». *Soil Sci.Soc.Am. J.*, vol.63, 1999, pp.1670–1680.
445. Benhamou. N, and Nicole. M, «Cell biology of plant immunization against microbial infection: The potential of induced resistance in controlling plant diseases». *Plant Physiol. Biochem*, N° 37, 1999, pp. 703-719.
446. Hallman. J, Quadt-Hallman. A, Mahafee. W.F and Kloepper. J.W, «Bacterial endophytes in agricultural crops». *Can. J. Microbiol*, N° 43, 1997, pp. 895–914.
447. Krasilnikov. M, «On the role of soil bacteria in plant nutrition». *J Gen Appl Microbiol*, N° 7, 1961, pp. 128-144.
448. Gaur. A.C and Ostwal. K.P, «Influence of phosphate dissolving Bacilli on yield and phosphate uptake of wheat crop». *Indian J Exp Biol*, N° 10, 1972, pp. 393–394.
449. Subba Rao. N.S, «Advances in agricultural microbiology. In: N.S. Subba Rao Editor, *Studies in the Agricultura and Food Sciences* Butterworth Scientific». London, 1982, pp. 295–303.
450. Chabot. R, Antoun. H, Cescas. M. P, «Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique». *Can. J. Micribiol*. N°39, 1993, pp. 941 - 947.
451. Barea. J.M, Pozo. M.J, Azcon. R and Azcon-Aguilar. C, «Microbial cooperation in the rhizosphere». *Journal of Experimental Botany*, vol. 56, N°417, 2005, pp. 1761-1778.
452. Toro. M, Azcon. R and Barea. J.M, «The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of Rhizobium genotype, mycorrhizal fungi, phosphate-solubizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*», *New Phytologist*, N°138, 1998, pp. 265-273.
453. Arshad. M, and Frankenberger. W.T, «Microbial production of plant growth regulators». Jr., 1993. *In Soil microbial ecology. Applications in agricultural and environmental management*. F.B. Metting, Jr. (edit.), Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 307–343.
454. Nieto. K.F, and Frankenberger. W.T, «Biosynthesis of cytokinins by *Azotobacter chroococcum*». *Soil Biol. Biochem*, N° 21, 1989, pp. 967–972.
455. Okazaki. S, Nukui. N, Sugawara. M and Minamisawa. K, «Rhizobial strategies to enhance symbiotic interactions: Rhizobitoxine and 1- Aminocyclopropane-1- Carboxylate deaminase». *Microbes environ*, Vol.19, N°2, 2004, pp. 99-111.
456. Xie. Z.P, Staehelin. C, Wiemken. A, and Boller. T, «Ethylene responsiveness of soybean cultivars characterized by leaf senescence, chininase induction and nodulation». *J. Plant Physiol*, N°149, 1996, pp. 690-694.
457. Lee. K.H and LaRue. T.A, «Ethylene as a possible mediator of light- and nitrate-induced inhibition of nodulation of *Pisum sativum* L. cv Sparkle». *Plant physiol*, N°100, 1992, pp. 1334-1338.

458. Glick. B.R, Jacobson. C.B and Schwarze. M.M.K, «1- Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root longation». *Can.J.Microbiol*, N°40, 1994, pp. 911-915.
459. Glick. B.R, Karaturovic. D.M and Newell. P.C, «A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*». *Can.J.Microbiol*, N°40, 1995, pp. 533-536.
460. Shah. S, Li. J, Maffatt. B.A and Glick. B.R, «Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth promoting bacteria». *Can.J.Microbiol*, N°44, 1998, pp. 833-843.
461. Weinberg. E. D, «Iron and infection». *Microbiol. Rev*, N° 42, 1978, pp. 45–66.
462. Neilands. J. B, «Microbial iron compounds». *Annu. Rev. Biochem*, N° 50, 1981, pp. 715–731.
463. Neilands. J. B, «Microbial envelope proteins related to iron». *Annu. Rev. Microbiol*, N° 36, 1982, pp. 285–309.
464. Budzikkiewicz. H, «Secondary metabolites from fluorescent *Pseudomonas*». *FEMS Microbiol. Rev*, N°104, 1993, pp. 209-228.
465. Latour. X et Lemanceau. P, «Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive», *Agronomie*, N°17, 1997, pp. 427 – 443.
466. Teintz. M, Hossain. M.B, Barnes. C.L, Leong. J, Van Der Helm. D, «Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas*». *Biochemistry*, N° 20, 1981, pp. 6446-6457.
467. Demage. P, Wendenbarm. S, Bateman. A, Dell. A, Meyer. J.M, Abdallah. M.A, «Bacterial siderophores of pyoverdines and related compounds». *Nato adv. Res. Workshop*, 1986, pp. 131-137.
468. Meyer. J.M, Hall. F, Hohnadel. O, Lemanceau. P, Rekefiarivelo. H, «Siderophores of *Pseudomonas*». *Biological properties*, 1987, pp. 189-205.
469. Lemanceau. P, Bakker. P.A.H.M, de Kogel. W.J, Alabouvette. C, and Schippers. B, «Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47». *Appl. Environ. Microbiol*, N° 58, 1992, pp. 2978–2982.
470. Vansuyt. G, Robin. A, Briat. J.F, Curie. C, Lemanceau. P, «Iron acquisition from Fe-pyoverdine by *Arabidopsis thaliana*». *Mol. Plant-Microbes Interact*, N° 20, 2007, pp. 441-447.
471. Mazurier. S, Lemunier. M, Siblot. S, Mougel. C, Lemanceau. P, «Distribution and diversity of type III secretion system like genes in fluorescent pseudomonads». *FEMS Microbiol. Ecol*, N° 49, 2004, pp. 455-467.
472. Gamalero. E, Lingua. G, Tombolini. R, Avidano. L, Pivato. B, and Berta. G, «Colonization of tomato root seedlings by *Pseudomonas fluorescens* 92rkG5: spatio-temporal dynamics, localization, organization, viability, and culturability». *Microbial Ecology*, N° 50, 2005, pp. 289-297.

473. Rincon. A, Ruiz-Diez. B, Garcia-Fraile. S, Garcia. J, Fernandez-Pascual. M, Pueyo. J, and de Felipe. M, «Colonization of *Pinus halepensis* roots by *Pseudomonas fluorescens* and interaction with ectomycorrhizal fungus *Suillus granulatus*». *FEMS Microbial Ecology*, N° 51, 2005, pp. 303-311.
474. Whipps. J.M, «Carbon economy». *In*: Lynch. J.M (eds.), «*The rhizosphere*». John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 1990, pp. 59-98.
475. Dandurand. L. M, Schotzko. D. J, and Knudsen. G. R, «Spatial patterns of rhizoplane populations of *Pseudomonas fluorescens*». *Applied and Environmental Microbiology*, N° 63, 1997, pp. 3211-3217.
476. Rainey. P.B, «Adaptation of *Pseudomonas fluorescens* to the plant rhizosphere». *Environ. Microbiol*, N° 3, 1999, pp. 243-257.
477. Karlson. U, Dowling. D, O'Gara. F, Rivilla. R, Bittens. M, Francesconi. S, Pritchard. H, and Pedersen. H.C, «Development of self-contained plant/GMM systems for soil bioremediation», 1998, p. 23-31. *In* de Vries. G.H (ed.), Past, present and future risk assessment when using GMOs. Overschild, The Netherlands.