

POTENTIALITÉS PHYTOPROTECTRICES ET PHYTOSTIMULANTES DE DEUX SOUCHES RHIZOBACTERIENNES VIS-À-VIS DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU POIS

YALA Ania^{1*}, CHOUIH Sofiane² et BENCHABANE Messaoud¹

1. Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saad Dahleb de Blida 1, B.P. 270, route de Soumaa, Blida, Algérie.

2. Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, Département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saad Dahleb de Blida 1, B.P. 270, route de Soumaa, Blida, Algérie.

Reçu le 22/05/2020, Révisé le 17/12/2020, Accepté le 31/12/2020

Résumé

Description du sujet : les approches biologiques gagnent de popularité ces dernières années. Des recherches rigoureuses sont en cours dans le monde entier, afin d'explorer un large éventail de rhizobactéries.

Objectifs : Notre travail consiste à montrer les potentialités antagonistes et phytostimulantes de deux souches rhizobactériennes de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de pois.

Méthodes : L'effet antagoniste des rhizobactéries vis-à-vis de l'agent pathogène a été évalué en calculant le taux d'infection et la sévérité de la maladie, alors que l'effet de phytostimulation a été déterminé en comparant la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine en présence et en absence des souches rhizobactériennes.

Résultats : Les essais d'antagonisme ont révélé des effets de biocontrôle importants induisant une régression du taux d'infection avec une diminution importante de la sévérité des symptômes, et un effet de phytostimulation pouvant doubler la biomasse fraîche et sèche des parties aériennes et souterraines.

Conclusion : Les deux souches bactériennes BB10 et F21 ont donné de bons résultats d'antagonisme et de phytostimulation. Il serait intéressant d'engager des études sur la bioformulation pour des usages pratiques.

Mot clés : Rhizobactéries, *Pseudomonas fluorescens*, Fop, phytostimulation, antagonisme.

PHYTOPROTECTIVE AND PHYTOSTIMULANT POTENTIALITIES OF TWO RHIZOBACTERIAL STRAINS AGAINST PEA FUSARIUM WILT

Abstract

Description of the subject: biological approaches have gained popularity in recent years. Rigorous research is underway around the world to explore a wide range of rhizobacteria.

Objectives: Our work consists in showing the antagonistic and phytostimulating potentialities of two rhizobacterial strains of *Pseudomonas fluorescens* against vascular fusarium wilt of peas.

Methods: The antagonistic effect of rhizobacteria on the pathogen was evaluated by calculating the rate of infection and the severity of the disease, while the effect phytostimulation was determined by comparison of the fresh and dry biomass of the aerial and underground parts in the presence and in the absence of rhizobacterial strains.

Results: The antagonism tests revealed significant effects of biocontrol inducing a regression of the infection rate with a significant reduction in the severity of the symptoms, and a phytostimulation effect which can double the fresh and dry biomass of the aerial parts and underground.

Conclusion: The two bacterial strains BB10 and F21 gave good results in antagonism and phytostimulation. It would be interesting to initiate studies on bioformulation for practical uses.

Key words: Rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens*, Fop, phytostimulation, antagonism

* Auteur correspondant : YALA Ania, Email : yala.ania@gmail.com

INTRODUCTION

En Algérie, les légumineuses alimentaires et fourragères sont, avec les céréales, des enjeux majeurs de l'agriculture. Les légumineuses sont intéressantes car elles ont la capacité d'entrer en symbiose fixatrice d'azote avec les rhizobactéries. Elles sont fréquemment cultivées en rotation ou en association avec des céréales afin d'améliorer leur apport en azote, leurs rendements et la fertilité des sols. Le pois protéagineux (*Pisum sativum*) est bien adapté et productif dans tout le nord de l'Algérie et représente un genre commun dans la flore algérienne [1], toutefois il est vulnérable à un certain nombre de maladies dont la fusariose vasculaire est l'une des plus dommageables sur sa culture. Cette trachéomycose se caractérise par divers symptômes, qui peuvent affecter l'ensemble de la plante et à tous les stades de sa croissance. L'agent fongique causal est *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, ubiquiste et bien représenté au sein de la communauté microbienne tellurique, notamment dans la microflore rhizosphérique [2]. La lutte biologique, avec des organismes antagonistes, suscite un intérêt grandissant, même si les exemples de commercialisation demeurent loin par rapport à la lutte chimique conventionnelle [3]. Parmi les agents exploités en lutte biologique vis-à-vis des fusarioses vasculaires, les rhizobactéries PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle et de biostimulation [4]. Les PGPR favorisent la croissance et le développement des plantes, directement ou indirectement, en libérant des régulateurs de la croissance végétale et d'autres substances biologiquement actives, modifiant les niveaux endogènes de phytohormones. Ces rhizobactéries peuvent améliorer la disponibilité et l'absorption de nutriments par leur fixation et leur mobilisation, ou en réduisant les effets néfastes de micro-organismes pathogènes sur les plantes, grâce à de multiples mécanismes d'action et efficaces au niveau des espaces rhizosphériques [5, 6, 7, 8, 9]. Actuellement, les approches biologiques, visant à améliorer la production végétale, trouvent des échos très favorables auprès des agronomes et encouragées par les environnementalistes pour un système intégré de gestion et de conduits des cultures. Dans ce contexte, des recherches rigoureuses sont en cours dans le monde entier, avec une volonté accrue d'explorer un large éventail de rhizobactéries douées de potentialités phytoprotectrices contre les agents

phytopathogènes et les ravageurs [9, 10, 11, 12, 13] et capables de synthétiser des métabolites favorisant la croissance des plantes. Parmi ces métabolites bioactifs, connus chez ce groupe bactérien, les phytohormones [14, 15], les sidérophores [16, 17], 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate, cyanate d'hydrogène (HCN), les nitrogénases [18, 19] et les phosphatases [14]. Diverses rhizobactéries, dont *Pseudomonas fluorescens*, bacilles à Gram négatif [20], caractérisées par des aptitudes biochimiques diversifiées leur permettant de s'adapter facilement aux niches écologiques, sont utilisées comme bioinoculants pour favoriser la croissance et le développement des plantes, notamment en présence de contraintes biotiques et abiotiques [21]. Bien que les mécanismes de protection et de promotion de la croissance des plantes, chez ces rhizobactéries, ne soient pas complètement identifiés, les PGPR sont considérées, grâce aux propriétés susmentionnées, comme des organismes biologiques capables de stimuler et d'accélérer la croissance et le développement de plusieurs espèces végétales, tout en assurant une bioprotection contre de nombreux agents phytopathogènes [22, 23]. La présente étude vise à mettre en évidence les potentialités antagonistes et phytostimulantes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (F21 et BB10) sélectionnées précédemment et connues par leur aptitude de biocontrôle [9, 12] vis-à-vis de deux souches de Fop (*Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) de la race 1 (R1) et de la race 2 (R2F42). Les essais sont réalisés en interaction avec trois génotypes de pois (JI1412, P21 et Kelvedon Wonder Peas), objets d'amélioration et de sélection au niveau de l'Institut de l'Agriculture Durable (IAS-CSIC, Cordoue - Espagne), qui a engagé des expérimentations sur une grande collection de génotypes de diverses origine géographiques. Nos essais s'intéressent aux génotypes de *Pisum sativum* d'origine euro-méditerranéenne, dans le cadre d'un projet de recherche et de coopération entre ce centre et notre laboratoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel biologique

Les expérimentations ont été réalisées *in situ* par l'utilisation des souches bactériennes BB10 et F21 face à deux souches de Fop (R1 et R2F42), en interaction avec les génotypes de pois (G1, G2, G3) sous serre en verre en conditions semi-contrôlées (T=18±5°C, 50>H%>70 (Tableau 1).

Tableau 1 : Matériel biologique

Matériel végétal	• JI1412 • P21 • Kelvedon Wonder Peas (KWP)	IAS-CSIC, Cordoba, Spain ITGC (Algérie)
Souches bactériennes de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	• BB10 • F21	Laboratoire de Protection et de Valorisation des Ressources Agrobiologiques, Algérie
Souches fongiques phytopathogène de Fop	• R1 (Race 1) • R2F42 (Race 2)	Laboratoire de l'amélioration génétique des plantes contre les stress biotiques et abiotiques de l'institut de l'agriculture durable IAS-CSIC, Cordoue, Espagne.

2. Désinfection des semences

Les graines de pois sont désinfectées par trempage (Hypochlorite de sodium à 1%, 30 min), suivi de deux rinçages à l'eau distillée stérile durant 20 min chacun, puis séchées sur papier filtre stérile. Ces graines sont enveloppées dans un papier Whatman humide stérile placé en boîtes Pétri couvertes avec du papier aluminium pour les abriter de la lumière. Les boîtes sont ensuite placées à 4°C (réfrigérateur) pendant 4 jours pour stratifier les graines et synchroniser la germination, avant d'être incubée à 20°C pendant 2 jours. Les graines germées sont transférées dans des pots en plastique (V 100 ml) contenant 20 g de perlite stérile pour bien visualiser le développement de la partie racinaire.

3. Préparation des inoculum

L'inoculum bactérien a été préparé avec la crème bactérienne âgée de 24h, autant pour BB10 que pour F21, cultivées sur milieu B de King (KB) [24]. Les suspensions bactériennes sont réalisées dans une solution d'eau distillée stérile. Dans chaque pot de perlite nous avons mis sur un lit de tourbe 10 ml de cette suspension bactérienne, dont la densité optique a été calculée par spectrophotométrie ($D.O \approx 0,8$), soit l'équivalent de 10^6 CFU/ml. Les suspensions conidiennes ont été obtenues à partir de cultures pures des deux souches de *Fop* (*Fop* R1 et *Fop* R2F42) cultivées sur milieu PDA (Potatos Dextros Agar) [25] pendant sept jours. Ces suspensions conidiennes ont été

préparées à partir de disques mycéliens homogénéisés dans le milieu PD liquide. La concentration de chaque suspension conidienne a été ajustée à 5×10^6 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez.

4. Essais d'antagonisme

La bactérisation des plantes a été pratiquée au stade végétal de deux à trois nœuds avec l'une des deux suspensions bactériennes BB10 ou F21, suivie 24h après par l'inoculation fongique avec l'une des deux suspensions de *Fop*. Les traitements étudiés correspondent aux interactions : (*Fop*R1-BB10, *Fop*R1-F21, *Fop*R2F42-BB10 et *Fop*R2F42-F21). L'inoculation fongique s'est effectuée selon la méthode d'immersion racinaire (trimmed root dipping) [26]. Les témoins sains (T-) sont inoculés uniquement avec de l'eau distillée stérile. Les témoins positifs (T+) sont inoculés avec chacune des suspensions fongiques selon les interactions. Les plantules sont laissées en observation sous serre en verre pendant 31 jours.

L'évaluation des symptômes, caractéristiques de la fusariose vasculaire du pois, s'est effectuée tous les trois jours à partir du septième jour après l'inoculation. Les paramètres mesurés sont le taux d'infection et la sévérité de la maladie. L'expression de la maladie est notée selon une échelle de cinq niveaux symptomatiques typiques de la fusariose (1- sain ; 2- début de jaunissement ; 3- jaunissement total ; 4- début de flétrissement ; 5- flétrissement total) [27] (Fig. 1).



Figure 1 : Echelle de suivi du développement de la maladie [27].

- *Taux d'infection* : $I \% = (\text{nombre de feuilles infectées} / \text{nombre total de feuilles}) \times 100$

- *Sévérité de la maladie* : $S\% = [(1 \times f_1) + (2 \times f_2) + (3 \times f_3) + (4 \times f_4) + (5 \times f_5)] / f$.
Avec S (%) : Taux de sévérité de la maladie, f_i : Nombre de feuille de chaque niveau symptomatique.

5. Essais de phytostimulation

A la fin de l'expérimentation, les poids frais et secs de la racine et de la partie aérienne des plantes ont été mesurés. Le poids frais a été directement mesuré à l'aide d'une balance de précision, alors que pour le poids sec, le matériel végétal est étuvé à 150°C jusqu'à la stabilisation des mesures (48h).

4. Analyses statistiques

Les mensurations observées ont subi des tests d'analyse de la variance (ANOVA) entre les traitements expérimentés. Dans le cas de différences significatives, la comparaison est établie selon le test de Newman-Keuls au seuil du risque d'erreur de 5%, pour déterminer leurs amplitudes significatives [28].

RÉSULTATS

1. Essais d'Antagonisme

1.1. Taux d'infection

D'après nos résultats (Fig. 2 et 3), nous constatons que l'évolution du taux d'infection des trois génotypes du pois, montre une réduction de la maladie chez les traitements bactérisés, avec les deux souches BB10 et F21, par rapport aux témoins positifs (Fop R1, Fop R2F42). À titre d'exemple, chez le génotype P21, le témoin positif FopR1 enregistre un taux de 100% au bout du 25^{ème} jour, alors qu'en interaction avec la souche BB10 l'évolution est plus lente et atteint les 100% qu'au 31^{ème} jour. Avec la souche F21, qui montre une meilleure performance antagoniste par rapport à la souche BB10, nous avons un taux de 84,02% au 31^{ème} jour. Avec le génotype Kelvedon Wonder Peas, le témoin positif FopR1 enregistre un taux d'infection de 70,83%, alors que les taux sont de 58,70% avec la souche BB10 et de 54,22% avec la souche F2. Egalement ; chez le témoin positif FopR2F42 du même génotype le taux est de 64,21% au dernier jour, alors qu'avec les souches bactériennes BB10 et F21 les taux sont de 45,23% et 42,14% respectivement.

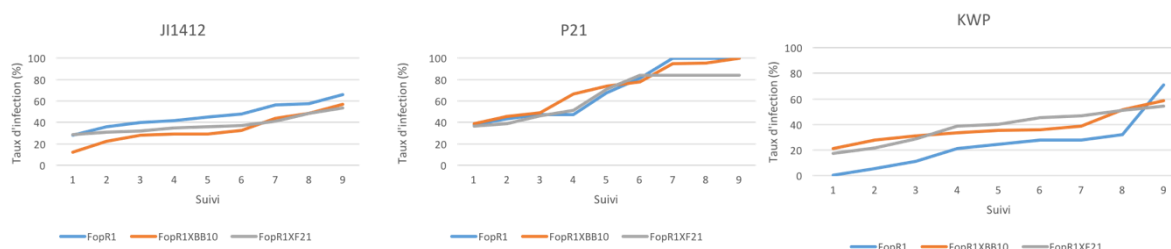


Figure 2 : Taux d'infection (%) de la souche FopR1 des génotypes étudiés chez les traitements bactérisés et non bactérisés.

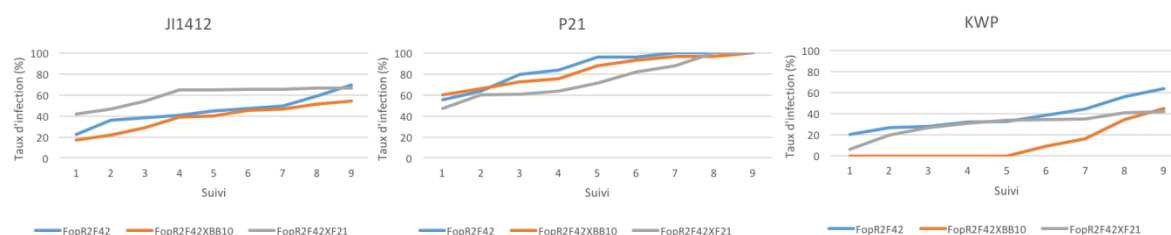


Figure 3 : Taux d'infection (%) de la souche FopR2F42 des génotypes étudiés chez les traitements bactérisés et non bactérisés.

1.2. Sévérité de la maladie

D'après les résultats obtenus (Fig. 4 et 5), nous remarquons qu'il existe une correspondance entre les taux d'infection et les sévérités. Nous constatons que la bactérisation des trois génotypes de pois avec les deux souches bactériennes en interaction avec Fop, a engendré l'inhibition de la sévérité de la fusariose, en comparaison avec les témoins

respectifs (R1 et R2F42). Chez les témoins malades, les niveaux vont de 1 à 2 dès les premières observations, leur évolution est souvent plus dynamique, atteignant des valeurs supérieures à 2 et atteint même le niveau 5 au jour 31 (Fig. 4 et 5). L'application de la bactérisation, à base de la souche BB10 ou F21, nous permettent de constater qu'il y'a des

symptômes préliminaires de niveaux 1 à 2 ne dépassant pas le niveau 3 même au 31^{ème} jour (Fig. 4 et 5).

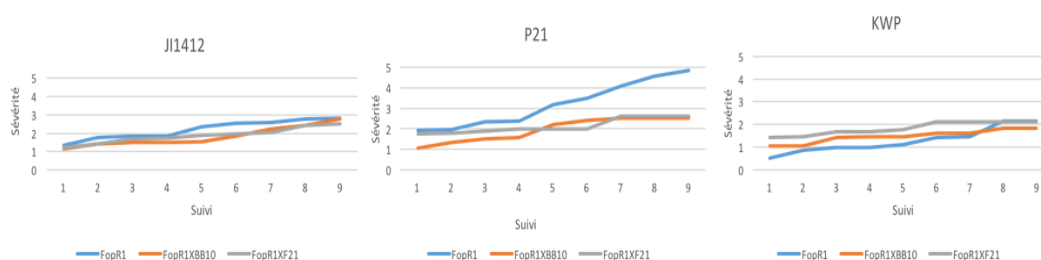


Figure 4 : Sévérité des symptômes des génotypes étudiés avec la souche FopR1

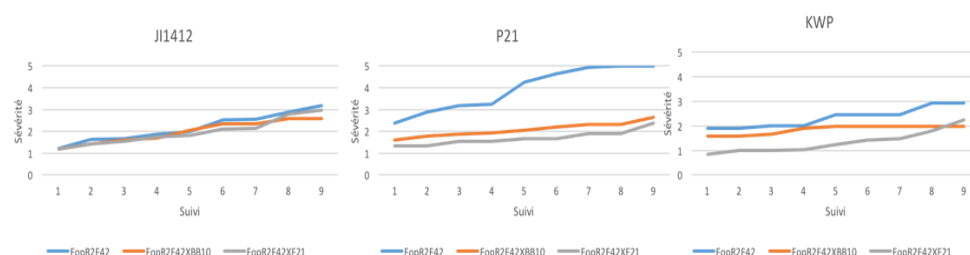


Figure 5 : Sévérité des symptômes des génotypes étudiés avec la souche FopR1

2. Essais de phytostimulation

D'après les résultats obtenus (Tableaux 2, 3 et 4), nous remarquons que la bactérisation des trois génotypes de pois (JI1412, P21 et Kelvedone Wonder Peas) avec les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* BB10 et F21, a considérablement stimulé, chez quelques traitements, les biomasses fraîches et sèches des parties aérienne et souterraine. Nous remarquons généralement des effets de phytostimulation des parties aérienne et souterraine, comparés aux témoins sains (EDS). A titre d'exemple avec la partie aérienne, les

poids frais sont de 0,885g (EDS), 1,592g (F21) et 1,675g (BB10). Avec la partie souterraine les poids frais sont de 0,580g (EDS), 0,660g (F21) et 0,775g (BB10). Nous remarquons aussi certains effets de bioprotection des deux bactéries, comme chez la partie aérienne du génotype P21 qui a enregistré des poids frais de 0,067g (Fop R2F42), 0,133g (Fop R2F42 X BB10), et chez la partie souterraine du génotype Kelvedon Wonder Peas qui a enregistré des poids frais de 0,215g (FopR1), 0,375g (FopR1 X F21).

Tableau 2 : Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine du génotype JI1410

Traitement		JI1412			
		Poids frais (g)		Poids sec (g)	
EDS	Partie aérienne	0,885	± 0,094 ^{abc}	0,276	± 0,040 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,580	± 0,023 ^{bcdefg}	0,131	± 0,007 ^{ab}
R1	Partie aérienne	0,122	± 0,167 ^{abcde}	0,054	± 0,006 ^a
	Partie sous-terrine	0,155	± 0,122 ^{abc}	0,005	± 0,001 ^a
R2F42	Partie aérienne	0,329	± 0,223 ^a	0,110	± 0,017 ^a
	Partie sous-terrine	0,065	± 0,018 ^a	0,023	± 0,006 ^{ab}
F21	Partie aérienne	1,592	± 0,108 ^{cdef}	0,332	± 0,020 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,660	± 0,047 ^{cdefg}	0,102	± 0,008 ^{ab}
R1 X F21	Partie aérienne	0,572	± 0,012 ^{ab}	0,323	± 0,049 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,265	± 0,049 ^{abcd}	0,081	± 0,009 ^{ab}
R2F42*F21	Partie aérienne	1,570	± 0,083 ^{cdef}	0,095	± 0,012 ^a
	Partie sous-terrine	0,297	± 0,058 ^{abcde}	0,035	± 0,002 ^{ab}
BB10	Partie aérienne	1,675	± 0,038 ^{cdef}	0,286	± 0,029 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,775	± 0,092 ^{defgh}	0,153	± 0,017 ^b
R1 X BB10	Partie aérienne	1,902	± 0,315 ^{ef}	0,297	± 0,015 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,705	± 0,099 ^{defgh}	0,070	± 0,007 ^{ab}
R2F42 X BB10	Partie aérienne	1,127	± 0,031 ^{abcde}	0,124	± 0,009 ^a
	Partie sous-terrine	0,117	± 0,059 ^{ab}	0,031	± 0,007 ^{ab}

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque $\alpha \leq 0,05$; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes (a, b, c, d, e, f, g et h)

Tableau 3 : Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine du génotype P21

Traitement		P21					
		Poids frais (g)			Poids sec (g)		
EDS	Partie aérienne	0,562	±	0,176 ^{abcdef}	0,176	±	0,039 ^{abcd}
	Partie sous-terrine	0,812	±	0,134 ^{def}	0,065	±	0,005 ^{cdef}
R1	Partie aérienne	0,070	±	0,123 ^a	0,100	±	0,026 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,280	±	0,098 ^{abcd}	0,065	±	0,008 ^{cdef}
R2F42	Partie aérienne	0,067	±	0,013 ^a	0,055	±	0,014 ^a
	Partie sous-terrine	0,047	±	0,010 ^a	0,006	±	0,001 ^{ab}
F21	Partie aérienne	1,110	±	0,147 ^{ef}	0,233	±	0,037 ^{cde}
	Partie sous-terrine	0,922	±	0,197 ^{ef}	0,099	±	0,012 ^f
R1 X F21	Partie aérienne	0,490	±	0,009 ^{abcd}	0,100	±	0,014 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,190	±	0,090 ^{ab}	0,052	±	0,024 ^{abcdef}
R2F42*F21	Partie aérienne	0,050	±	0,014 ^a	0,042	±	0,004 ^a
	Partie sous-terrine	0,015	±	0,005 ^a	0,005	±	0,001 ^a
BB10	Partie aérienne	1,040	±	0,034 ^{ef}	0,144	±	0,034 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,830	±	0,073 ^{def}	0,075	±	0,008 ^{def}
R1 X BB10	Partie aérienne	0,255	±	0,168 ^{abcd}	0,094	±	0,024 ^{ab}
	Partie sous-terrine	0,280	±	0,183 ^{abcd}	0,016	±	0,001 ^{abc}
R2F42 X BB10	Partie aérienne	0,1333	±	0,083 ^{ab}	0,051	±	0,010 ^a
	Partie sous-terrine	0,230	±	0,190 ^{abc}	0,023	±	0,000 ^{abcd}

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque $\alpha \leq 0,05$; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de six groupes homogènes (a, b, c, d, e et f).

Tableau 4 : Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine du génotype Kelvedon Wonder Peas

Traitement		Kelvedon Wonder Peas					
		Poids frais (g)			Poids sec (g)		
EDS	Partie aérienne	1,635	±	0,335 ^{ef}	0,297	±	0,072 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,215	±	0,005 ^{ab}	0,088	±	0,008 ^{bcdef}
R1	Partie aérienne	1,110	±	0,300 ^{abcde}	0,235	±	0,020 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,215	±	0,085 ^{ab}	0,074	±	0,017 ^{abcde}
R2F42	Partie aérienne	0,095	±	0,199 ^a	0,081	±	0,028 ^a
	Partie sous-terrine	0,193	±	0,031 ^{ab}	0,024	±	0,001 ^a
F21	Partie aérienne	1,380	±	0,150 ^{cdef}	0,349	±	0,183 ^{bc}
	Partie sous-terrine	0,225	±	0,005 ^{ab}	0,097	±	0,010 ^{cdef}
R1 X F21	Partie aérienne	1,500	±	0,152 ^{def}	0,235	±	0,037 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,375	±	0,076 ^{abcd}	0,065	±	0,007 ^{abcd}
R2F42*F21	Partie aérienne	0,282	±	0,060 ^{abc}	0,104	±	0,019 ^{ab}
	Partie sous-terrine	0,195	±	0,015 ^{ab}	0,032	±	0,004 ^a
BB10	Partie aérienne	1,315	±	0,085 ^{bcdef}	0,384	±	0,033 ^c
	Partie sous-terrine	0,255	±	0,015 ^{abc}	0,116	±	0,015 ^{def}
R1 X BB10	Partie aérienne	1,465	±	0,145 ^{def}	0,194	±	0,036 ^{abc}
	Partie sous-terrine	0,236	±	0,021 ^{ab}	0,033	±	0,008 ^a
R2F42 X BB10	Partie aérienne	0,296	±	0,005 ^{abc}	0,079	±	0,010 ^a
	Partie sous-terrine	0,195	±	0,015 ^{ab}	0,024	±	0,001 ^a

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque $\alpha \leq 0,05$; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de six groupes homogènes (a, b, c, d, e et f).

DISCUSSION

Les résultats obtenus dans les essais de biocontrôle, montrent l'effet phytobénéfique des *Pseudomonas* (BB10 et F21) en tant qu'agent de biocontrôle contre les pathogènes telluriques (Fop). Les rhizobactéries ont provoqué une bioprotection significative des plants de pois contre les deux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop). Malgré l'apparition des symptômes de la maladie et leur progression, néanmoins, toutes les plantes bactérisées et inoculées par le pathogène ont montré une réduction significative de la sévérité et des taux d'infection de la fusariose.

La bactérisation avec les souches de *Pseudomonas* a induit des effets bénéfiques considérables sur la promotion de la croissance, par une augmentation importante de la biomasse des plants bactérisés.

Le pouvoir de phytostimulation est dû généralement à la fixation biologique de l'azote [29], la production ou la modification des concentrations de phytohormones telles que les auxines, les cytokinines, les gibbérellines (GA) [30, 31] ou l'éthylène [32], la solubilisation de minéraux tels que le phosphore et le fer [33, 34], la production de sidérophores et d'enzymes et l'induction de la résistance systémique [35]. Le contrôle biologique est principalement dû à la production d'antibiotiques, la chélation des ions du fer dans la rhizosphère, la synthèse d'enzymes extracellulaires pour hydrolyser la paroi cellulaire fongique et la compétition pour des niches dans la rhizosphère [35]. Les souches de PGPR, en particulier *Pseudomonas fluorescens*, sont souvent considérées comme les candidats les plus prometteurs comme en qualité d'agents bioantagonistes [36]. Les PGPR peuvent exhiber plusieurs mécanismes d'action pour améliorer la croissance des plantes et contrôler les agents phytopathogènes. En effet, des preuves expérimentales suggèrent que ces effets bénéfiques sont le résultat de la fusion de divers mécanismes pouvant être activés simultanément [37]. Les résultats obtenus dans nos expérimentations, concordent avec ceux déjà obtenus dans des travaux antérieurs [9, 12, 38, 39]. Ces essais mettent en évidence les effets phytobénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents en tant qu'agent de biocontrôle contre les pathogènes telluriques, dont le pathogène responsable de la fusariose du pois, tout en assurant de plus des effets de phytostimulation [40, 41], avec le préalable de possession de compétences rhizosphériques, garantissant la colonisation de la rhizosphère concernée.

Cette dernière implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption des microorganismes sur les racines et un pouvoir compétitif envers les substrats nutritifs disponibles.

CONCLUSION

L'utilisation des deux souches de *Pseudomonas fluorescens* F21 et BB10 vis à vis de la fusariose vasculaire du pois, a permis de réduire le taux d'infection tout en diminuant considérablement les niveaux de sévérité de la maladie. Nous avons observé également un effet de phytostimulation pouvant doubler les biomasses fraîches et sèches des parties aériennes et souterraines, chez les plants bactérisés. Par ces résultats, nous constatons un rôle protecteur et phytostimulant des deux souches bactériennes envers les plantes de pois. Universellement, le développement des connaissances scientifiques fondamentales sur les interactions *Pseudomonas*/Plantes affectées par les stress biotiques ou abiotiques, permet de mieux comprendre les différents mécanismes d'actions et offre éventuellement de meilleures prévisions quant aux réactions et réponses des plantes. Dans l'ensemble, afin d'obtenir des PGPR plus performantes dans des conditions pratiques de terrain, il est nécessaire de mener d'autres séries d'expériences, à grande échelle et sous différents climats dans des conditions naturelles.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Riah N., Béna G., Djekoun A., Heulin K., De Lajudie P., Laguerre G. Genotypic and symbiotic diversity of Rhizobium populations associated with cultivated lentil and pea in sub-humid and semi-arid regions of Eastern Algeria. *Systematic and Applied Microbiology* 37 (2014) 368–375.
- [2]. Kraft J.M., Larsen R.C., Inglis D.A., (1998). Diseases of pea. In : Allen, D.J., Lenné, J.M. (Eds.), *The Pathology of Food and Pasture Legumes*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 325–370.
- [3]. Benhamou, N., et Picard, K. La résistance induite : une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes, *phytoprotection* 80, (1999), 137–168.
- [4]. Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Gurr opin plant Biol.* 4, (2001), 343–350.
- [5]. Ahemad, M., (2012). Implications of bacterial resistance against heavy metals in bioremediation: a review. *IJOABJ* 3, 39–46.
- [6]. Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I., (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol.* 60:579–598.
- [7]. Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M.N.V., Freitas, H., (2010). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* 28:142–149.

- [8]. Braud, A., Jezequel, K., Bazot, S., Lebeau, T., (2009). Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-, Hg- and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria. *Chemosphere* 74 : 280–286.
- [9]. Benchabane, M., (2005). "Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. Fluorescents", Thèse de Doctorat d'Etat, FSB-UTHB, Alger, 235p.
- [10]. Hynes, R.K., Leung, G.C., Hirkala, D.L., Nelson, L.M., (2008). Isolation, selection, and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil and chickpea grown in Western Canada. *Can. J. Microbiol.* 54, 248–258.
- [11]. Russo, A., Vettori, L., Felici, C., Fiaschi, G., Morini, S., Toffanin, A., (2008). Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr.S 2/5 plants. *J. Biotechnol.* 134, 312–319.
- [12]. Toua D., Benchabane M., Bensaid F., et Bakour R., (2013). Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax, *African Journal Microbiology Research*, 7(48): 5449-5458
- [13]. Murphy, J.F., Zehnder, G.W., Schuster, D.J., Sikora, E.J., Polston, J.E., Kloepper, J.W., (2000). Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against tomato mottle virus. *Plant Dis.* 84:779–784.
- [14]. Ahemad, M., Khan, M.S., (2012). Evaluation of plant growth promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under herbicide-stress. *Ann. Microbiol.* 62, 1531–1540.
- [15]. Tank, N., Saraf, M., 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *J. Plant Interact.* 5: 51–58.
- [16]. Jahanian, A., Chaichi, M.R., Rezaei, K., Rezayazdi, K., Khavazi, K., (2012). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) on germination and primary growth of artichoke (*Cynara scolymus*). *Int. J. Agric. Crop Sci.* 4: 923–929.
- [17]. Tank, N., Saraf, M., (2009). Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR. *J. Basic Microbiol.* 49, 195–204.
- [18]. Glick, B.R., (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.
- [19]. Khan, A.G., (2005). Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18: 355–364.
- [20]. Paulsen, I. T., C. M. Press, J. Ravel, D. Y. Kobayashi, G.S. Myers, D.V. Mavrodi, R.T. Deboy, R. Seshadri, Q. Ren, R. Madupu, R. J. Dodson, A. S. Durkin, L. M. Brinkac, S. C. Daugherty, S. A. Sullivan, J. M. Rosovitz, M. L. Gwinn, L. Zhou, D. J. Schneider, S. W. Cartinhour, W. C. Nelson, J. Weidman, K. Watkins, K. Tran, H. Khouri, E.A. Pierson, L. S. Pierson, L. S. Thomashow and J. E. Loper, (2005). Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Nat. Biotechnol.* 23, 873-885
- [21]. Munees A. and Mulugeta K., (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. In *Journal of King Saud University – Science* (2014) 26, 1-20.
- [22]. Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., (2009). Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7: 1–19.
- [23]. Zaidi, A., Khan, M.S., Ahemad, M., Oves, M., (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 56 : 263–284.
- [24]. King, E.O., Ward, M.K., et Raney, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresce, in: *J. Lab. Clin. Med.* 44, (1954), 301p.
- [25]. Johnston, A., Booth, C. "Plant Pathologist's Pocketbook", 2nd Ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, (1983), 439 p.
- [26]. Haglund, W.A. (1989). A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, *Plant Disease*, 73 (6):457 – 458.
- [27]. Bani M., Rubiales D. and Rispail N. (2012). "A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection", *Plant Pathology*, 61:532 - 542.
- [28]. Dagnelie, P. (1975). "Principes d'expérimentation : planification des expériences et analyse de leurs résultats". Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 413 p.
- [29]. Zahran, H. H. (2001). Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 91 : 143e153.
- [30]. Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.-L., Touraine, B., Moëne-Loccoz, Y., Muller, D., et al. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers of Plant Science*, 4, 356.
- [31]. Tien, T. M., Gaskins, M. H., & Hubbell, D. H. (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 1016e1024.
- [32]. Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 109e117.
- [33]. Delvasto, P., Valverde, A., Ballester, A., Igual, J. M., & Munoz, J. A. (2006). Characterization of brushite as a re-crystallization product formed during bacterial solubilization of hydroxyapatite in batch cultures. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 2645e2654.
- [34]. Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287, 15e21.
- [35]. Van Loon L. C., (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol*, 119:243–254
- [36]. Damayanti, T. A., Pardede, H., & Mubarik, N. R. (2007). Utilization of root colonizing bacteria to protect hot-pepper against Tobacco Mosaic Tobamovirus. *Hayati Journal of Bioscience*, 14(3), 105e109.
- [37]. Martinez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10, 293e319.
- [38]. Yala, A., (2016). « Essai de biocontrol de la fusariose vasculaire du petit pois ». Mémoire magister. U. Blida 1, 122p.

- [39]. Ouserir, S., (2009). "Etude des effets de la co-inoculation des rhizobactéries *Pseudomonas* spp. fluorescents et *rhizobium* spp. Sur la phytostimulation et la nodulation chez la fève ", Thèse de magister, 138p.
- [40]. Lemanceau, P. (1992). Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemples des *Pseudomonas fluorescens*, *Agronomie* 12 : 413-437.
- [41]. Becker J.O., Cook R.J. (1988). Role of siderophores in suppression of *Pithium* species and production of increased-growth response of wheat by *Pseudomonas* spp. fluorescent". *Phytopathology* 78:82-77