

ETUDE DE LA MICROFLORE DE LA RHIZOSPHERE DE LA POMME DE TERRE PLANTÉE DANS DIFFÉRENTS SUBSTRATS

E. ACHBANI*, B. JOUAN**, M. LENORMAN***

INTRODUCTION

Au sein de la rhizosphère, des phénomènes de synergie, on dit aussi de satellisme et d'antagonisme, sont particulièrement intenses et peuvent jouer un rôle accru en matière de lutte biologique.

Ainsi, les investigations qui, depuis longtemps s'intéressaient aux relations rhizosphère-infections pathogènes, ont pris une ampleur très évasée ces dernières décennies. Les différents travaux cherchent, jusqu'alors, à défricher l'habitat de la rizosphère de différentes espèces végétales en étudiant les modalités d'affrontement entre les antagonistes et les agents pathogènes. La détermination de leur activité fongistatique ou bactériostatique, ainsi que les effets des facteurs physicochimiques. L'objectif de ces études est, en effet, de chercher des agents qui pourraient être exploités en matière de lutte biologique.

* Laboratoire de bactériologie, I.N.R.A. de Meknès, MAROC.

** Station de pathologie végétale, I.N.R.A. le Rheu, Rennes, France.

*** Laboratoire de pathologie végétale, E.N.S.A. rennes, France.

Des réalisations prometteuses en matière de lutte biologique ont vu le jour, surtout après le succès obtenu avec certains agents telluriques antagonistes notamment les *Pseudomonas* fluorescents contre certains agents pathogènes dont *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* (E.c.a.); agent responsable de la pourriture molle, et de la jambe noire de la pomme de terre.

Au cours de cette phase importante et délicate, on peut envisager d'associer à la "semence" (boutures ou vitrotubercules) ou au substrat de culture, des partenaires naturels efficaces lui permettant une reprise rapide, une croissance vigoureuse et surtout une meilleure "résistance" aux attaques parasitaires dont les attaques de E.c.a.. Ceci peut être envisagé par une "bactérisation" qui implique au préalable la recherche de microorganismes aptes à jouer ce rôle. Ce qui nous a conduit à fixer comme objectif de ce présent travail : l'étude, dans une première approche de la microflore rhizosphérique de la pomme de terre cultivée dans différents substrats, puis collecter un certain nombre d'isolats sur lesquels le pouvoir antagoniste vis à vis de l'E.c.a. sera étudié et fera l'objet d'une prochaine publication.

MATERIEL ET METHODES

A. Substrats utilisés

Il s'agit de substrats utilisés ou susceptibles de l'être dans les 2 stations professionnelles qui, en France, produisent les semences de base de la pomme de terre, auxquels on ajoute les 2 mélanges couramment utilisés dans la station de pathologie végétale de Le Rheu.

N°	Origine
1, 2, 3, 4, 5.	Fédération des syndicats de Bretons de Hanvec (F.S.B.)
6, 7.	Station de pathologie végétale Le Rheu.
8, 9, 10.	Fédération Nationale des producteurs des plants de pomme de terre à Beaurains (F.N.P.P.P.T.).

substrats, nous pouvons, tout de même apporter les remarques suivantes. Une microflore totale (bactéries, actinomycètes et champignons) importante est enregistrée au niveau du substrat 1, celle-ci est de l'ordre de $1,2 \cdot 10^8$ cfu, la plus faible est de $2,4 \cdot 10^7$ cfu/g. de sol sec au niveau substrat 8 (fig. 1).

Globalement, le niveau de la population bactérienne est plus élevé dans 6 des 10 substrats analysés, et c'est seulement dans 3 substrats de FSB (1, 2 et 3) que les actinomycètes et les champignons atteignent des populations supérieures à celles des bactéries. Dans l'ensemble des substrats, on note aussi que la population bactérienne occupe la première position avec $2,5 \cdot 10^8$ cfu./g de sol sec, suivi par les champignons ($2,4 \cdot 10^8$) et les actinomycètes ($1,7 \cdot 10^8$).

Les genres ou espèces fongiques suivants ont été identifiés : les **Mortierella** spp., **Aspergillus** spp., **Scopulariopsis** spp., **Penicillium** spp., **Trichoderma** spp., **Thielavia terris**, **Rhizopus** spp..

Dans l'ensemble des substrats, le genre **Penicillium** est le plus important et constitue, à lui seul, 61% environ de la population fongique totale. En 2ème position, viennent les **Mortierella** avec 12% environ de la population fongique totale.

Les autres genres ou espèces dont certains ont pu être déterminés comme **Thielavia terris**, **Chaetomium** spp., **Gliomastix** spp. et **Botryotrichum**, constituent 22,7% de la population fongique, et plus de 40% de la population fongique des substrats 4, 6 et 10.

Pour les bactéries, on ne peut pas tirer des notes importantes puisque la majorité d'entre elles n'a pas fait objet d'identification. Néanmoins, on peut signaler la présence des **Bacillus** spp. dans tous les substrats ; dont une espèce facilement distinguable sur le milieu d'isolement a pu être comptée : il s'agit de **B. mycoïdes**. Le groupe des **Pseudomonas** spp. et enfin une autre espèce appartenant au groupe ou genre **Enterobacter** a pu être isolée (S7) mais sa quantification nous a été infaisable ; il s'agit d'**Enterobacter agglomerans** 1.

Analyse de la rhizosphère

Les données sont représentées graphiquement en logarithme des effectifs dénombrés dans les figures 3 et 4. Elles englobent les données issues à partir

de deux types de semences ; les vitro tubercules et les tubercules proprement dits pour les 2 variétés de pomme de terre ; Bintje et Ostara.

Avant de commencer ces figures, quatre gloses générales peuvent être inspirées de l'examen du tableau 1 récapitulatif.

Fig. 1 : Importance des populations microbiennes (bactéries, champignons, actinomycètes) dans les 10 substrats analysés par la méthode de suspension-dilution. 1 ml des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} (dilution 0 = 1 g. de sol + 9 ml d'eau distillée stérile) est incorporé dans 100 ml du milieu de culture (gélose de numération, glycérol-asparagine, malt-acid) avant d'être coulé dans des boîtes de Petri. L'incubation se fait à 25° C.

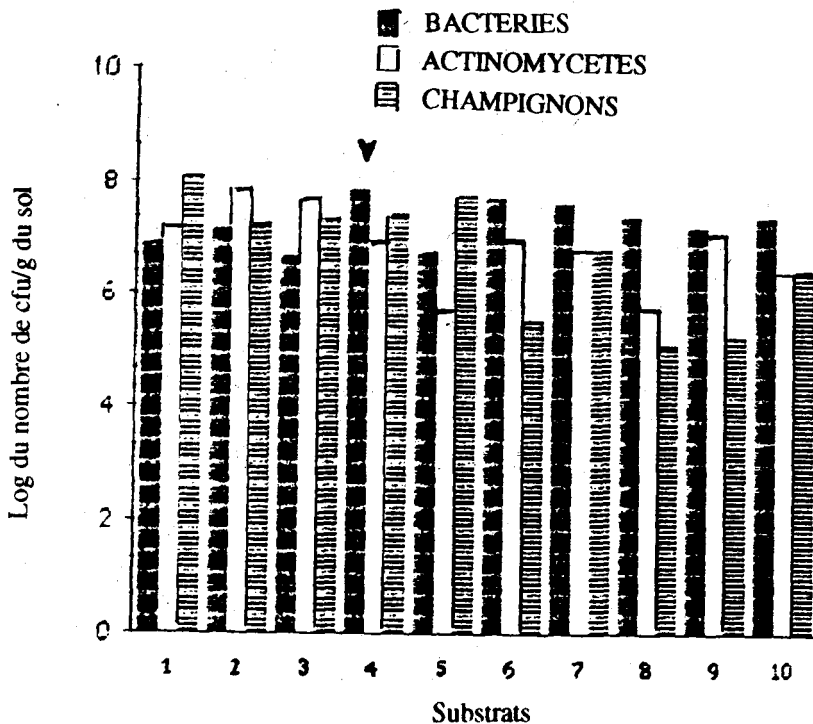
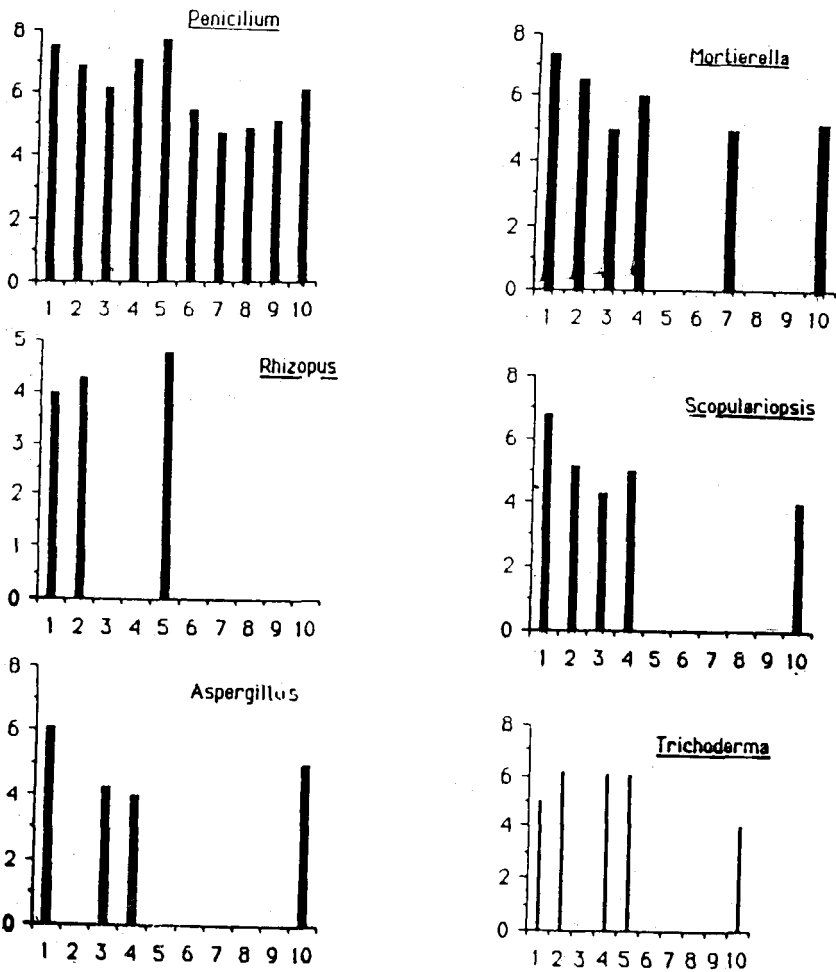


Tableau n° 1 : Importance des populations microbiennes (Bactéries, pseudomonas fluorescents et Champignons) dans la rhizosphère de 2 variétés (Bintje et Ostara) en fonction de l'organe semencier planté. Résultats exprimés en nombre (Nbre) de c.f.u. 10^6 /g de racines (* Le 2ème pourcentage concernant les P. fluorescents est calculé par rapport à la flore bactérienne.

Organe semencier	Vitrotubercules						Tubercules	
Variété			Ostara		Bintje+Ostara		Bintje	
Germe	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
Bactéries	71,98	95,61	276,81	97,46	224,4	96,74	269,12	98,30
P.fluorescents	6,86	3,81	6,31	2,22	6,59	2,84	3,8	1,39
		3,99		2,28		2,94		1,41
Champignons	1,04	0,58	0,9	0,32	0,97	0,42	0,86	0,31
Total	199,88	100	284,02	100	231,96	100	273,75	100

Fig. 2 : Importance des populations de principaux genres fongiques dans les différents substrats analysés par la méthode de suspension-dilution.
 En abscisse, les numéros des substrats ; en ordonnée, Log. de nombre de c.f.u./g de racines).



Rg : Les autres genres, d'importance faible, ne sont pas figurés ci dessus.

B. Matériel végétal

Des vitro tubercules de 4 à 6 mm de diamètre (F.N.P.P.T.) - Beaurains) et des tubercules (Le Rheu) de 2 variétés sont utilisés. Il s'agit de Bintje et d'Ostara.

C. Protocole expérimental

Chaque substrat est placé dans 6 pots de 14 cm à raison de 3 pots par variété. Les 2 premiers pots sont plantés avec 3 à 5 vitro tubercules prégermés de chacune des 2 variétés et la 3ème avec les tubercules des mêmes variétés. L'essai est mené en serre avec une température moyenne de 18° C et une humidité relative de 85%. L'arrosage s'effectue tous les 2 jours.

D. Analyse de la microflore du sol et de la rhizosphère-rhizoplan

Analyse des substrats

Les densités de population de la microflore des différents substrats et de la rhizosphère-rhizoplan sont évaluées par la méthode des suspensions-dilutions.

A partir d'un échantillon de chaque sol séché à 30° C, broyé et tamisé (200 u), on prélève un gramme pour réaliser une suspension dans 9 ml. d'eau distillée stérile (dillution 0) puis une série de dilution jusqu'à 10^{-5} .

Pour chaque dilution (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), 1 ml. de suspension est prélevé et incorporé dans 100 ml. de 3 milieux, en surfusion utilisés : Milieu gélosé à base de malt (pH 5,4) ; Milieu "gélrose de numération" (GN) pour les germes totaux ; Milieu gélosé "Glycérol-asparagine" pour les actinomycètes.

Par la suite, ces milieux ensemencés sont coulés dans des boîtes de Petri à raison de 20 ml. par boîte. Une fois refroidies, les boîtes sont mises en incubation à 25° C pendant 3 à 6 jours après quoi, elles sont laissées à la température du laboratoire et à la lumière du jour pour certaines (milieu Malt) de façon à favoriser la coloration et la sporulation des espèces fongiques.

A partir de 4 jours, on procède au comptage de l'ensemble des colonies des différentes espèces fongiques, bactériennes et actinomycétales sur toutes les boîtes.

Des colonies représentatives des différents groupes de microorganismes sont repiquées, purifiées et conservées.

Rhizosphère-rhizoplan

Après 40 jours de plantations, 1 g. de chaque système racinaire (6 par substrat) est prélevé délicatement, lavé puis mis en suspension aseptiquement dans 20 ml. d'eau distillée et stérile. Chaque système racinaire est broyé pendant 15 à 20 secondes à l'aide d'un broyeur électrique (Ultra Tarrax, Type 18/10 170w 20.000 tours/mn). Après 30 mn. de macération, on procède à une série de suspension-dilution jusqu'à 10^{-5} 0,1 ml. de chacune des dilutions (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) est ensuite bien étalé sur chacun des mêmes milieux utilisés dans l'analyse du sol sauf le milieu "glycérol-asparagine" qui est remplacé ici par le milieu "B" de KING.

Après 48 H d'incubation (25° C), le nombre de germes totaux et de *Pseudomonas* fluorescents est compté sur chacune des boîtesensemencées sur respectivement le milieu GN et le "B" de KING. Le comptage des champignons s'effectue à partir du 6ème jour.

E. Identification de certains isolats fongiques et bactériens

La détermination de certains germes fongiques est faite en s'aidant des ouvrages de BARRON (1968), DOMSCH et GAMS (1970), BARNEY et HUNTER (1972).

Pour l'identification de certaines souches bactériennes, nous avons utilisé des galeries API d'identification commercialisées par la société API SYSTEM (API 20E, API 20NE, API 50CH).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Analyse de la microflore du sol

Les résultats des numérations sont représentés graphiquement en logarithme des effectifs dénombrés dans la figure 1. Bien que l'interprétation statistique ne révèle aucune différence significative entre les différents

Fig. 3 : Répartition des différents microorganismes (bactéries, P. fluorescents, champignons) issus de 2 variétés (Bintje et Ostara) de pomme de terre et les 10 substrats utilisés.

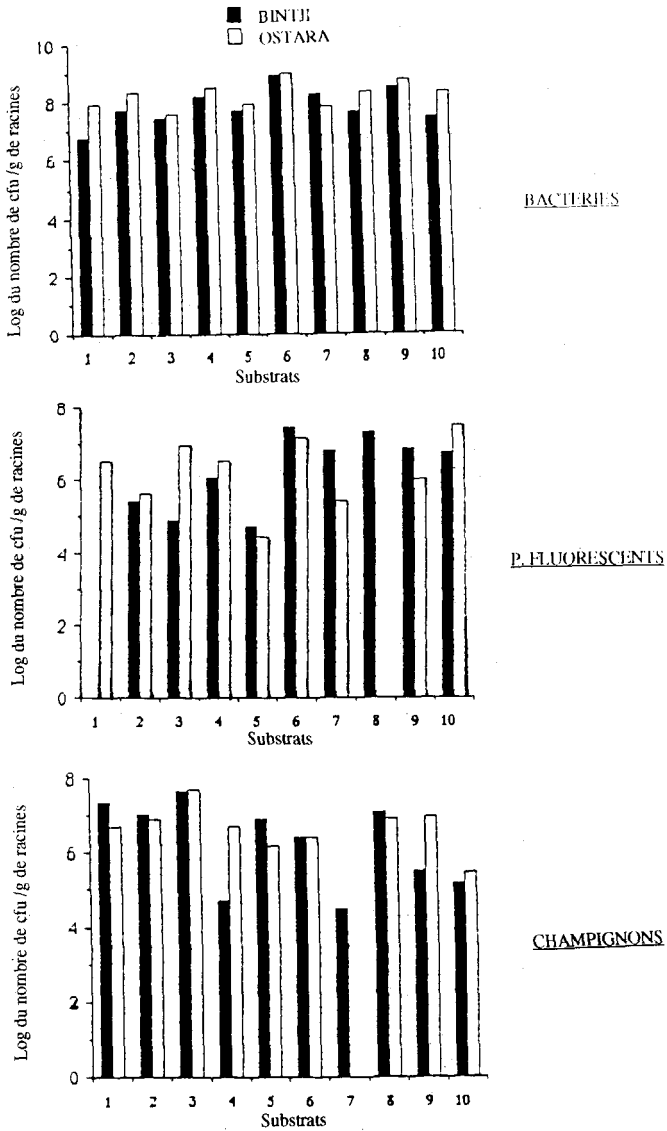
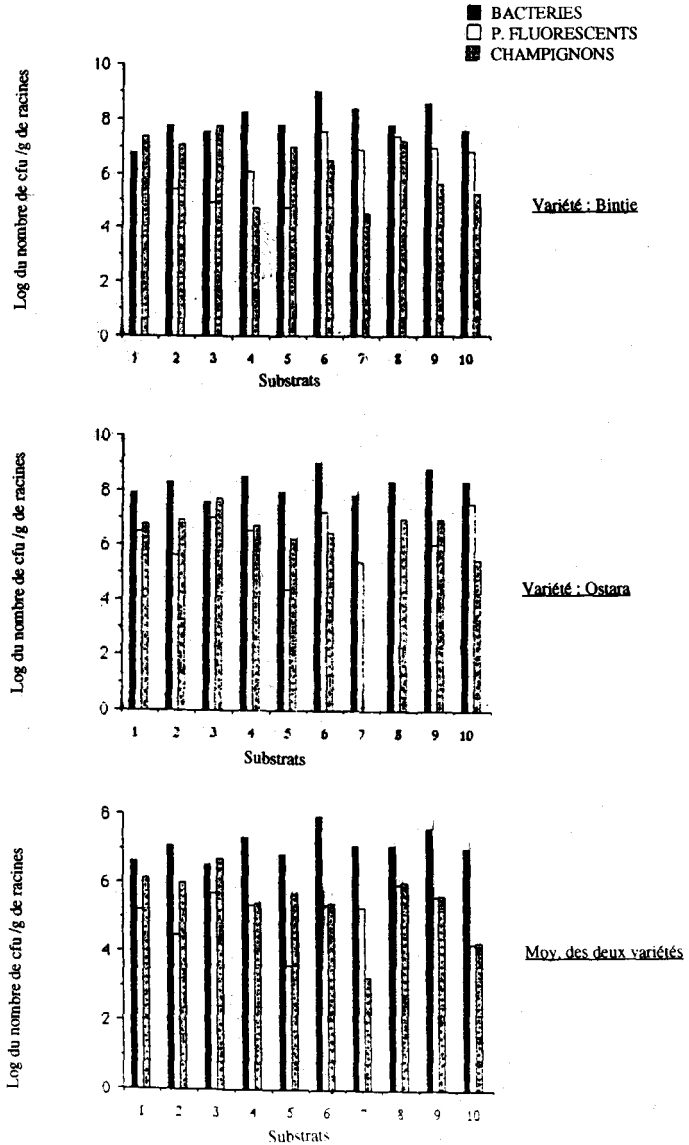


Fig. 4 : Répartition des microorganismes (bactéries, P. fluorescents, champignons) pour les 2 variétés utilisées (Bintje et Ostará)



1 - La variété Ostara présente une microflore microbienne importante avec $2,84 \cdot 10^8$ cfu/g. de racine contre $1,8 \cdot 10^8$ cfu pour la Bintje.

2 - La microflore du système racinaire issue de tubercules est plus luxuriante que celle issue de vitro tubercules. La variété Ostara n'a pas été prise en considération en raison des données manquantes.

3 - Dans l'ensemble des 2 variétés, les bactéries viennent en tête avec 96,7% de la population rhizosphérique totale étudiée, les *Pseudomonas* seuls en présentent 2,6% et à peine 0,5% pour les champignons.

4 - Les *P.* fluorescents constituent environ les 3 % de la population bactérienne totale dans l'ensemble des 2 variétés, la Bintje en héberge 4 % contre un peu plus de 2 % chez Ostara.

La population bactérienne

Les niveaux maximums enregistrés sont de l'ordre de $8,4 \cdot 10^8$ cfu pour la variété Bintje et d'environ 10^9 cfu/g. de racines chez Ostara, toutes plantées dans le substrat 6. Cependant, les racines issues de tubercules hébergent des populations élevées, celles-ci atteignent respectivement $1,4 \cdot 10^9$ et $1,81 \cdot 10^9$ cfu/g. chez Bintje et Ostara (fig. 3 et 4).

Les populations faibles sont enregistrées au niveau des S1 et S3 et sont de $6 \cdot 10^6$ cfu/g. de racines pour le premier chez Bintje et de $4 \cdot 10^7$ cfu/g. de racines pour le second substrats chez Ostara. Cependant, ces niveaux là sont très peu différents dans le cas du système racinaire issu de tubercules et oscillent dans les environs de 10^7 cfu/g. de racines (S3-Bintje, S4-Ostara) (fig 3 et 4).

Sans tenir compte du type variétal (tableau 7), c'est au niveau des S3 et 6 où l'on note respectivement des populations bactériennes minimales et maximales. En effet, les populations mini et maxi sont de l'ordre de $3,7 \cdot 10^7$ et de $9,2 \cdot 10^8$ cfu/g. de racines (S6) contre $2,3 \cdot 10^7$ (S3) et $1,2 \cdot 10^9$ cfu/g. de racines issues de tubercules.

Les systèmes d'API 20E et 20 NE nous ont permis d'identifier une collection de 72 souches de certains phénotypes rencontrés dans l'ensemble des rhizosphères. Le système API 50CH vient confirmer l'identité d'une souche de chacun des groupes les plus importants.

L'analyse morphologique et biochimique de ces 72 souches permet de les classer en 3 principaux groupes ou genres bactériens ; les *Pseudomonas* surtout fluorescents, les *Enterobacter* spp. et les *Bacillus* spp. (tableau 2).

Le classement taxonomique des *P. fluorescents* révèle la présence de 3 espèces différentes ; *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. marginalis* (tableau 3). Ce classement est basé essentiellement sur la mise en évidence de 5 aptitudes métaboliques : la dégradation de la pectine, la protéolyse de la gélatine, la formation de levane, l'utilisation du trehalose et l'hydrolyse de l'esculine.

Les *P. fluorescens* différencient des *P. putida* par la protéolyse de la gélatine, la formation du polyssaccharide levane et l'utilisation du trehalose. Ces trois aptitudes métaboliques, ainsi que l'hydrolyse de l'esculine sont absentes chez *P. putida*.

Le test principal qui sépare l'espèce des *P. marginalis* des deux précédentes est son aptitude à dégrader la pectine (pectinolyse). L'hydrolyse de l'arginine et la présence d'une cytochrome oxydase chez l'espèce de *P. viridiflava* qui, elle aussi, a la propriété de dégrader la pectine.

Au niveau des souches qualifiées de *P. fluorescens*, on note une souche qui fermente le glucose, caractère qui se présente rarement chez l'espèce *P. putida* (1%) et jamais, à notre connaissance, chez les *P. fluorescens*.

Concernant l'importance de ces *P. fluorescents*, il apparaît que l'espèce des *P. fluorescens* est celle représentée le taxon essentiel dans l'ensemble ; sur 65 souches analysées (tableau 3), on trouve 45 souches ayant les caractères de l'espèce *P. fluorescens* (soit environ 69% de l'effectif total) contre 14 souches de *P. putida* (22%) et seulement 5 souches de *P. marginalis* (9%). Aucune remarque ne peut être faite à propos de la distribution de chacune de ces espèces dans les rhizosphères étudiées, puisque la distinction entre elles est difficile au moment du comptage. Cette remarque est valable aussi pour les bactéries non fluorescentes (sur "B" de KING).

D'après les résultats d'analyses biochimiques effectuées sur les bactéries non fluorescentes (tableau 2), six groupes de bactéries peuvent en découler ; les *Enterobacter cloacae* dont toutes les souches réagissent positivement au 73% des tests d'API 20E excepté la souche AR-113 qui ne possède pas d'urease, les *Enterobacter agglomerans*, les *Pseudomonas* spp. et un groupe

Tableau 2 : Caractères biochimiques des souches bactériennes en API20E. Lecture est faite 48 H. après incubation à 25°C. Pour les signes précédés d'une parenthèse la réaction est positive à 72 H. et ceux entre parenthèse (), la réaction positive est douteuse.

Souches	ONPG	ADH	LDC	ODC	CT	HSE	UPA	TDA	IND	VP	GEL	GW	MAN	INU	SOR	REA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	Espèces identifiées
AR6-12	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	Enterobacter cloacae
AR6-63	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
AR6-125	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
AR11-146	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
AR1-17	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
AR1-113	+	+	+	+						+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	Indeterminés
AS3-2										+							(+)	(+)				(-)	
AR10-8	(+)									+												(+)	
AR2-102										+												(+)	
AS4-10	+			+						+												(+)	
ES14	+									+													E. agglomerans I E. agglomerans E. agglomerans I Akkalkota sp. Pseudomonas sp.
AR11-148	+	(+)								+													
AR10-11	+									+													
AS1-23	+									+													
AR10-91	+									+													
AS7-41	+									+													Bacillus implexus:
AR11-150	+									+													
AR2-105	+									+													
AR10-92	+									+													
AR3-118	+									+													
AR6-131	+									+													Bacillus (sp.)
AS1-60	+									+													
AS6-13	+									+													
AS5-137	+									+													
AR10-1	+									+													
AS1-25	+	+								+													Indeterminés
										+													

dont les caractères les rattachent au genres *Acinetobacter* d'après le tableau d'identification d'API-SYSTEM. Pour les bactéries à Gram-positif, 2 groupes de *Bacillus* spp.. Parmi ces derniers, certaines souches présentent des caractères concordants - avec très peu d'exception - avec ceux de *B. circulans* (AR2-105), de *B. pasteurii* (AR10-92) et de *B. brevis* (AR3-118).

La répartition estimée des différents groupes au sein des 10 substrats montre que les *Bacillus* spp. figurent au niveau de toutes les rhizosphères, les autres groupes sont présents seulement dans certaines d'entre elles ; les *Enterobacter cloacae*, sont rencontrés au niveau des rhizosphères issues des S1, S8 et S10 avec un effectif un peu plus importants dans les deux derniers ; **L'*Enterobacter agglomerans* et *acinetobacter*** ont été isolés uniquement dans la rhizosphère provenant du S10. Les ***Pseudomonas* spp.** et les ***B. mycoïdes*** ont été isolés respectivement sur les rhizosphères issues des S3, S9 et S3, S8, S10.

Le milieu gélose de numération a aussi permis de révéler la présence des actinomycètes dans certaines rhizosphères issues des S, S3, S4, S5, S9 et S10. Leur nombre peut se situer entre 2.5 (S9) et 50.10^4 cfu/g de racines (S4). Certains actinomycètes, par leur pigmentation noire, essentiellement à base de mélanine, peuvent être classés dans le genre des ***Streptomyces***.

La population fongique

La première remarque à faire est l'absence de microflore fongique dans le système racinaire issu des tubercules de Bintje et de ceux d'Ostara dans 5 substrats. Alors que cette absence n'a été rencontrée que dans un seul cas pour le système racinaire provenant des vitrotubercules (S7-Ostara).

D'autre part, la microflore fongique semble plus abondante dans le S3 aussi bien de Bintje que d'Ostara ($4.6-5 \cdot 10^7$ cfu / g. de racines), suivis par celle du S1, S8 et S2.

Les différents groupes fongiques identifiés sont au nombre de 9 (fig. 2) Nous avons observé en quantité non négligeable des *Trichothecium* spp., des *Aspergillus* spp. et des *Trichoderma* spp. Il est également apparu moins fréquemment les *Cephalosporium* spp., les *Epicoccum* spp. Les *Scopulariopsis* spp. et les *Fusarium* spp.

Dans l'ensemble des substrats, le groupe des *Trichothecium* représente 23% de la flore fongique totale, mais il n'est rencontré qu'au niveau de trois substrats : S2, S3 et S8. Par contre, le groupe des *Penicillium* spp. avec un pourcentage (20%) inférieur, est rencontré dans tous les substrats. Les *Aspergillus* et *Trichoderma* spp. présentent respectivement 10% et 8% de la microflore totale.

DISCUSSION

L'existence d'une microflore tellurique, variable suivant les types de sol est un fait évident, mais leur composition exacte ou tout simplement proche du réel, reste imparfaitement connue. Ceci est dû, sans doute, à l'inadaptation des méthodes pratiquées pour ce genre d'étude.

La technique de dilution généralement adoptée pour dénombrer et déterminer la composition de certains types de microorganismes comme les bactéries et les actinomycètes ne convient pas bien dans le cas des organismes pluricellulaires comme les champignons. En effet, dans une suspension du sol, les mycelium délacérés en fragments inégaux, s'altèrent et deviennent non viables. Et c'est seulement les spores ou la population des espèces les plus fécondes au niveau fongique d'une part, et celle des espèces bactériennes réputées pour leur multiplication rapide d'autre part, qui peuvent être révélées sur les milieux de numération, comme de nombreuses Dématiées et Basidiomycètes.

Les *Penicillium* se retrouvent dans tous les substrats analysés, ce qui tient en partie à leur grande capacité de sporulation jointe à l'imperfection de la méthode, ils représentent dans la majorité des substrats 50% de la population fongique (fig.2).

Il paraît aussi clair dans cette analyse que là où les bactéries abondent, la population fongique rétrograde, ce qui va dans le sens d'autres investigations (6): Cette tendance est très nette dans le cas du 1er substrat, et peut être la conséquence d'interactions antagonistes comme la destruction de mycelium par les bactéries lytiques ou tout simplement, en présence de substances fongostatiques. Cependant, contrairement à la règle générale qui parle d'une supériorité en densité bactérienne par rapport à celle fongique ou actinomycétale (6), on trouve dans nos analyses 30 à 40% des cas dont la

densité de ces derniers est plus importante, citons seulement le substrat 1 qui héberge une population fongique 15 fois plus grande que celle des bactéries et dans le substrat 2, de même origine, la densité actinomycétale est de 5 fois plus élevée que celle des bactéries. Et comme pour les champignons, la méthode de numération utilisée a de plus tendance à sous-estimer le nombre de germes bactériens présents comme l'ont suggéré JONES et MOLLISON (1984): un groupe compact de germes ne donne, en effet, qu'une colonie sur le milieu d'isolement.

Quoiqu'on n'ait pas utilisé un milieu détectant facilement la présence des *Pseudomonas* fluorescents, il semble que nos sols en contiennent des niveaux très faibles que notre méthode ne permet pas de déceler; les différentes souches bactériennes isolées à partir des différents substrats ne montrent aucune fluorescence sur milieu "B" de KING. Ce résultat est en accord avec celui rapporté récemment par GOCHNAUER et al., en étudiant la rhizosphère et le rhizoplan du maïs; aucune colonie fluorescente n'a pu être détectée au niveau du sol témoin c'est à dire hors-rhizosphère. Aussi, et dans le même sens, les données de REID et al., signalent des concentrations en sidérophores 10 à 50% plus élevées dans la rhizosphère que dans le sol témoin. De même, il a été rapporté que la compétition pour le fer est plus intense dans la rhizosphère que dans le sol lui même (2, 15).

Le terme "rhizosphère" employé dans ce travail désigne son acception large, à savoir l'ensemble de la rhizosphère (rhizosphère sensu stricto ou rhizosphère proprement dite) et du rhizoplan. Puisque le macérat utilisé dans les analyses est issu du broyage du système racinaire après un lavage léger pour éliminer les particules du sol considérées comme éléments de la rhizosphère éloignée.

Dans l'ensemble des substrats, ce travail vient à l'appui des données généralement admises : les bactéries sont plus stimulées par l'effet rhizosphérique que les champignons et les actinomycètes (8,14). Cet effet rhizosphérique est très net dans le S6, où le taux de colonisation des bactéries dépasse plus au moins largement les estimations de 10^5 et 10^7 cfu / g. de racines avancées par STANIER et al., celle de 10^8 rapporté par ROUAT et KATZNELSON, de 10^9 GOCHNAUER et al. et, est dans notre cas de 10^{10} cfu / g. de racines (Ostara). Cependant, on peut toujours rencontrer des cas qui échappent à la règle générale, où on peut assister à un effet

rhizosphérique stimulé plutôt pour les champignons que pour les bactéries, tel est le cas de la rhizosphère du S3 qui abrite une population fongique 1.5 fois plus grande que celle des bactéries. La raison, probablement, en est que le sol avant la plantation, héberge dès le départ une microflore bactérienne faible par rapport aux autres substrats ($4.5 \cdot 10^6$ cfu /g. de sol) et en même temps renferme une population fongique, surtout actinomycétale importante ($4.8 \cdot 10^7$ cfu / g. de sol). Cette dernière, par ces propriétés antagonistes des bactéries, a joué vraisemblablement un rôle dans cet équilibre inversé comme l'ont déjà suggéré ROUATT et KATZNELSON (1961) et VENKATESAN (1962).

Les intensités de la colonisation de la rhizosphère sont plus accentuées dans les S4, S9 et en particulier au niveau de S6 où on enregistre une intensité de $9 \cdot 10^7$ cfu / g. De racines, ce qui représente 97% de la microflore microbienne totale (champignon, bactéries). Le pH légèrement acide peut expliquer, sans doute, cette abondance. En outre, comme on peut le constater en se référant aux densités bactériennes dans ces mêmes substrats (densités horsrhizosphériques), ces intensités sont en relation étroite avec les densités de départ; c'est à dire le degré d'importance des densités bactériennes est conservé comme il était au départ, au niveau du sol. Par ailleurs, on constate que, du sol à la rhizosphère, une augmentation de la densité bactérienne ascendante dans 5 substrats, mais en réalité, elle peut l'être dans tous les substrats puisque 1 gramme de racines peut abriter seulement une toute petite quantité du sol, ce qui, par conséquent, élève les taux de colonisation exprimés par gramme de racines. En somme, on ne peut pas parler d'une recrudescence de la microflore bactérienne en partant du sol à la rhizosphère, certes, si cela est vrai pour certaines espèces, cela ne l'est pas pour d'autres douées d'une grande fécondité. La rhizosphère, comme l'a déjà avancé CHALVIGNAC, favorise électivement les bactéries à croissance rapide.

Notre étude rapporte la présence des P. fluorescent dans tous les substrats ; leur variation est parfois importante : $4 \cdot 10^3$ cfu / g. de racines contre une densité maximale de $2.2 \cdot 10^6$ (S6). Mais leur proportion par rapport à la microflore totale au sein de chaque substrat peut atteindre environ 14% (S1). pour la plus part des substrats, le pourcentage ne dépasse pas 3% de la population totale. Ces valeurs, cependant, ne nous mènent pas

à évoquer ou non leur prédominance puisque l'importance des autres espèces bactériennes identifiées ou non n'a pas pu être dégagée. Néanmoins, vis à vis de la microflore fongique, le test de NEWMAN et KEULS révèle un seul groupe homogène.

En somme, ces notes dégagées dans ce travail sont difficiles à comparer avec celles d'autres auteurs ne touchant pas à l'ensemble de la population de *P. fluorescens*; c'est en général la dynamique d'une ou deux souches particulières de *P. fluorescens* dans le sol ou dans la rhizosphère qui est traitée. En plus, le mode d'expression des résultats lui-même variable d'un auteur à l'autre chamboule les interprétations.

La prédominance de l'espèce *P. fluorescens* qui représente un taux d'isolement de 69% des *P. fluorescens* est en accord avec les données de VANCURA (1980) sur les grandes cultures, et celles de MAMOUN et OLIVIER (1989) sur des noisetiers truffiers. Au sein de cette espèce de *P. fluorescens*, 67% des souches forment de polysaccharide levane, ce qui permet de parler de l'abondance des biovars III et ou V; les autres biovars ne le forment pas. La richesse en ces biovars, en particulier, le biovar V a été aussi rapporté par LEMANCEAU et al. sur la rhizosphère du lin dans les sols sensibles aux fusarioses.

La présence des *P. marginalis* dans la rhizosphère de la pomme de terre est un élément inquiétant puisque cette espèce est pectinolytique, et peut causer les mêmes dégâts que l'E.c.a.

Les autres genres comme *Bacillus* spp. notamment *B. mycoïdes* et apparemment *B. circulans*, *B. brevis* et *B. pasteurii*, les *Enterobacter cloacae* et agglomérans, l'*Acinetobacter* et les *Pseudomonas* spp. non fluorescents sont présents dans la rhizosphère de la pomme de terre avec des niveaux variables. L'*Enterobacter agglomérans* a été rapporté récemment comme agent qui s'associe aux *P. fluorescens* sur les racines de sainfoin au Canada (9).

Comme il est signalé au début de cette discussion, l'effet rhizosphérique exercé par les champignons est de loin moins spectaculaire que celui manifesté par les bactéries et similaire statistiquement à celui observé chez les *P. fluorescens*; à part dans le substrat 3 où le taux de colonisation des

champignons est légèrement supérieur à celui des bactéries, dans les autres, on note des taux parfois très faibles comme dans le substrat 7 (2.10^3 cfu / g. de racines). Les taux de colonisation des champignons dans les différents substrats étant significatif, le test de NEWMAN et KEULS révèle 2 groupes homogènes séparant ainsi le substrat 3 des autres qui constituent tous un seul groupe homogène.

En plus, des genres déjà discutés dans l'analyse des substrats nus exceptés les *Mortierella* et les *Rhizopus*, on note que 5 autres genres apparaissent : *Trichothecium*, *Cephalosporium*, *Monocillium*, *Fusarium* et l'*Epicoccum*. Ils forment, avec les autres, un groupe homogène. Si on admet la fiabilité de la méthode de "suspensions-dilutions", les *rhizopus* et les *Mortierella* ne sont pas des colonisateurs de la rhizosphère de la pomme de terre, mais cette thèse reste à confirmer vu cette technique (suspensions-dilutions) souvent contestée. Pour les *Penicillium*, ils semblent, compte tenu de leur présence au niveau de tous les substrats sauf le S7, caractéristiques de la rhizosphère de la pomme de terre. En ce qui concerne les autres genres, aucun résultat attrayant ne peut être soulevé. On remarque tout de même la présence de *Trichoderma* et de *Fusarium* dont l'implication parfois active notamment pour le premier dans la résistance des sols aux maladies a été rapporté dans plusieurs publications.

ABSTRACT

The potato rhizosphere were studied on substrates originally obtained from two professional establishments that product in Trance the basis potato seeds (FSB of Hanvec and FNPPPT of Beaurains) and two others substrates used by the Le-Rheu phytopathology Resarch Station.

Bacteria and fungi populations were analysed in quantity (enumeration) and in quality (taxonomic identification).

On the whole of one of substrates, the bacteria population notably in Le-Rheu reseach station and FNPPPT substrates is more stimulated by rhizopheric effect than others. The rate of bacteria colonization may reach 10^{10} cfu/g of roots except in FEB substrate on which the rate of fungi colonization was 1.5 times as big as bacteria population.

The fungi population is mainly represented by the *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. and les *Trichothecium* spp.

Penicillium spp. seem to be more stimulated in the potato rhizosphere than others fungi. Bacteria population is represented by *Bacillus* spp. group essentially by *B. mycoïdes*, *E. cloacae* and agglomerans and *Pseudomonas* group (particulary fluorescent *Pseudomonas*).

The fluorescent *Pseudomonas* are probably the most stimulated microorganisms in potato rhizosphère. Their density may reach $2.2 \cdot 10^6$ cfu / g. of roots and are identified as *P. marginalis* (pectinolytic espece), *P. putida* and *P. fluorescens* that constitue the main part of them.

RESUME

L'étude de la rhizosphère de la pomme de terre est abordée dans des substrats provenant des deux stations professionnelles qui, en France, produisent les semences de base de pomme de terre (FSB de Hanvec et FNPPPT de Beaurains) et les deux mélanges utilisés par la station de pathologie végétale-le Rheu.

Les populations bactériennes et fongiques ont été analysées de façon quantitative (dénombrement) et qualitative (identification taxonomique). Dans l'ensemble des substrats, le spectre bactérien est plus fortement stimulé par l'effet rhizosphérique, notamment au niveau d'un mélange de la station de pathologie végétale et des substrats de la FNPPPT.

Le taux de colonisation des bactéries peut atteindre 10^{10} cfu /g de racines. Une exception pourrait être faite au niveau d'un substrat de la FSB où le taux de colonisation des champignons est de 1,5 fois plus grand que celui des bactéries. En dehors de cette exception, l'effet exercé par les racines sur les champignons est beaucoup moins spectaculaire que celui manifesté par les bactéries.

La population fongique est représentée essentiellement par les *Penicillium* spp. *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. et les *Trichotecium* spp.. Les *Penicilium* spp. semblent les plus stimulés dans le rhizosphère de la pomme de terre.

La population bactérienne est représentée par les groupes de *Bacillus* spp. notamment *B. mycoïdes*, *Enterocacter cloacae* et agglomérans puis enfin les *Pseudomonas* spp. dont le groupe des *P. fluorescents*.

Les *P. fluorescents* sont vraisemblablement les microorganismes les plus stimulés dans la rhizosphère. Leur densité peut atteindre $2,2 \cdot 10^6$ cfu/g de racines. Ils sont classés au sein des espèces marginalis (espèce pectinolytique), *Putida* et *fluorescens* qui constitue le taxon principal.

ملخص

يتناول هذا المقال تحليل جراثيم التربة والمنطقة الجذرية في بعض أنواع التربة المزروعة بالبطاطا. ولقد استعمل لهذا الغرض نوعان من التربة (خليطين) اللذان يستخدمان في تجارب محطة أمراض النباتات بلوغو- رين، والباقي من أصل المؤسستين المهنيتين اللتين تنتجان بذور البطاطس الأساسية بفرنسا (فدرالية نقابي بروتون بهانفيك " فنب" والفدرالية الوطنية لمنتجي بذور البطاطس ببورانس " فوميب").

ولقد تم هذا التحليل الجرثومي (البكتيري) والفطري على أساس كمي (إحصائي) وكيفي (تبيان ماهية الجرثوم أو الفطر). ولقد أبانت هذه الدراسة أن في مجموعة التربة المدروسة نجد أن الطيف البكتيري هو الأكثر انتعاش بسبب تأثير الجذور وخصوصا عندما يتعلق الأمر بإحدى خليطي محطة أمراض النباتات بلوغو وكذا تربة " فوميب".

ويمكن أن تصل نسبة استيطان الجراثيم البكتيرية إلى 10^{10} جرثومة (أو وحدة المستعمرة المكونة) في كل غرام واحد من الجذور باستثناء نوع واحد من تربة " فنب" حيث أن نسبة استيطان الفطر في هذا الأخير يكبر 1.5 مرات نظيره البكتيري. وبغض النظر عن هذا الاستثناء، نجد أن تأثير الجذور على الفطور أقل حدة من تأثيرها على البكتيريا. وتمثل المجموعة الفطرية أساسا على الأنواع التالية: بنسليوم : *penicillium spp*, أسبيرجلوس. *Aspergillus spp* ودرما . *Trichoderma spp* وتريكوتهكوم.. *Trichotecium spp* ويبدو أن نوع بنسليوم هو الأكثر تنشيط في المنطقة الجذرية.

أما المجموعة البكتيرية، فتتكون من الأنواع التالية: باصيلوس. *Bacillus spp* خاصة *Enterobacter cloacae*, *B.mycoides* انتيروباكتيركلواكي وأكلوميغانس *agglomerans* وأخيرا نوع بسود ومناس. *Pseudomonas spp* الذي يضم في مجموعته النوع الفلوري . *P.fluorescens* وعلى ما يبدو فإن هذا الأخير يعد من الجراثيم الأكثر انتعاشا في المنطقة الجذرية للبطاطا، فتعداده يمكن أن يصل $10^6 \times 2.2$ جرثومة (أو وحدة مستعمرة المكونة) في الغرام الواحد من الجذور وتمثل هذه المجموعة الفلورية على الأنواع التالية: بسودو مناس مرجنليس *P.marginalis* (النوع المتفسخ للبكتين) *(espèce pectinolytique)* ويوتيدا *P.putida* وأخيرا نوع بسودو مناس فليورسانس *P.fluorescens* الذي يحتل الصدارة من ناحية العدد.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- ACHBANI E. H., 1989. Relations entre les rhizobactéries et les agents pathogènes. Rapport bibliographiques d.E.A. Université I - E.N.S.A. Rennes, 45 pp.
- 2- BAKER K.F., 1980. Microbiological antagonism. The potential for biological control in contemporary Microbiological Ecology. D. C. ELLWOOD et al., edit. acad. Press, London, 327 pp.
- 3- BARNETT H.L., HUNTER B.B., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi, 241p.. Third edition. Burgess Publishing company. Minnapolis.
- 4- BARRON G.L., 1968. The general of huphomycetes from soil, 364 pp. The williams and willkins compagny. Baltimore.
- 5- BURR T.J., SCHROTH N.M., SUSLOW 1978. Increased potato yields by traitement of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putita*. *Phytopathology* (68), 1377-1383.
- 6- DOMMERGUES Y., MANGENOT F., 1970. Ecologie microbienne du sol. 796 PP. Masson et Cie-Paris.
- 7- DOMSCH K.H., GAMS W., 1970. Pilze aus Agrarböden. Guslaww Fisher Verlap. Sttugart. 222 pp.
- 8- GOCHNAUER M.B., MCCULLY M.E., LABBE H., 1989. Different populations of bacteria associated with sheathed and bare regions of roots of field-grown maize. *Plant and soil*, 114, 107-120.
- 9- HWANG S. F., HOWARD P.J., GOATCHER L, 1989. Bacteria associated with crown root rot of sainfoin in southern Alberta. *Can. Plant Dis. Survey*, 69 (1), 5-8.
- 10- JONES P.C.T., MOLLISON J.E., 1948. A technique for quantitative estimation of soil microorganisms. *J. gen. Microbiol*, 2, 54-69.
- 11- KATZENLSON H., 1985. In, *Ecology of soil-born plant pathogens*. Univ. California Press, 187-209.
BAKER, SYNDER, ed..

- 12- KERR A., 1972. Biological control of crown gall : seed inoculation. *J. Appl. Bacteriol.*, 35, 493-497.
- 13- KING E.O., WARD M.K., RANEY D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorecin. *J. Lab. Clin. Med.*, (44), 301-307.
- 14- MAMOUN M., OLIVIER J.M., 1989. Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. II-Chelation du fer et répartitions taxonomiques chez les *Pseudomonas* fluorescents. *Agronomie*, 9, 345-351.
- 15- OLIVIER J.M., GUILLAUMES, 1983. Propriétés anatagonistes de *Pseudomonas* fluorescents. 24ème colloque SFP. sur les antagonistes microbiens, Bordeaux, 26-28 Mai 1983. Ed. I.N.R.A. Pub., 315-326.
- 16- ROUAT J.W., KATZNELSON H., 1961. *J. Appl. Bact.*, 24, 164-171. (In DOMMERGUES Y., MANGENOT F., (1970)
- 17- STANY R.V., DOUDOROFF M., ADELBERG E.A., 1966. *Microbiologie générale* (traduction en Français). Ed. Masson et Cie, Paris.
- 18- VANCURA N., 1980. Fluorescent *Pseudomonas* in the rhizosphere of plants and their relations to roots exudates. *Folia Micribiol.*, 25, 168-173.
- 19- VENKATESAN R., 1969. Thèse Annamalai Univ., S. India (In *Ecologie microbienne du sol*. Ed. Masson et Cie.