

Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol

Philippe Jacques, Philippe Delfosse, Marc Ongena, Philippe Lepoivre, Pierre Cornélis, Nico Koedam, Louis Neirinckx, Philippe Thonart

Le groupe des *Pseudomonas* fluorescents est composé de bactéries qui, dans des conditions de carence en fer, produisent des pigments jaune-vert fluorescents. Huit espèces différentes appartiennent à ce groupe : *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène de l'homme, *P. syringae*, *P. viridiflava*, et *P. cichorii*, espèces phytopathogènes et enfin *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aureofaciens* et *P. chlororaphis*, qui rassemblent des organismes saprophytes. Au cours de ces dix dernières années, de nombreuses publications ont fait écho à des essais réalisés en serre ou au champ qui montrent l'intérêt potentiel des *Pseudomonas* fluorescents non pathogènes en tant qu'agents de lutte biologique contre les pathogènes responsables de maladies aussi différentes que le piétin échaudage des céréales [1], les fontes de semis du cotonnier [2,3], du concombre [4], du blé

[5,6], du pois chiche [7], du pois et du soja [8], la verticilliose [9], les pourritures des tubercules de pomme de terre [10], des racines du tabac [11], du collet de l'arachide [12], les fusarioses des racines et du collet de la tomate [13] et du haricot [14] ou encore les fusarioses vasculaires chez le

lin, le concombre et le radis [15]. Plus récemment, des auteurs ont proposé l'utilisation de ces *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte contre le piétin échaudage du gazon [16] et contre *Agrobacterium tumefaciens*, responsable des tumeurs du collet chez le pommier [17]. Le tableau 1 reprend les

Tableau 1

Les principales maladies transmises par le sol contre lesquelles l'utilisation de *Pseudomonas* fluorescents a déjà été envisagée

Maladie	Agent phytopathogène	Cultures
Piétin échaudage [1, 16]	<i>Gaeumannomyces graminis</i>	Céréales, gazon
Fonte des semis [2-8]	<i>Pythium ultimum</i> <i>Rhizoctonia solani</i>	Cotonnier, concombre, blé, pois chiche, pois, soja...
Verticilliose [9]	<i>Verticillium dahliae</i>	Pomme de terre
Pourriture des tubercules [10]	<i>Erwinia carotovora</i>	Pomme de terre
Pourriture des racines [11]	<i>Thielaviopsis basicola</i>	Tabac
Pourriture du collet [12]	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Arachides
Fusarioses des racines et du collet [13, 14]	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Radicle lycopersici</i> <i>Fusarium solani</i>	Tomate
Fusarioses vasculaires [15]	<i>Fusarium oxysporum</i> spp.	Haricot
Galle du collet [17]	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Lin, concombre, radis...
		Arbres fruitiers, vigne

Soil borne diseases for which biocontrol with fluorescent *Pseudomonas* has already been considered

P. Jacques, P. Delfosse, M. Ongena, P. Thonart : Centre wallon de biologie industrielle, Université de Liège, Bât. 40, B-4000 Liège, Belgique.

P. Lepoivre : Unité de phytopathologie, Faculté des Sciences agronomiques, B-5030 Gembloux, Belgique.

P. Cornélis : Laboratorium Algemene Biologie, Vrije Universiteit Brussel, B-1640 St Genesius-Rode, Belgique.

N. Koedam, L. Neirinckx : Laboratorium Plantenfysiologie, Vrije Universiteit Brussel, B-1640 St Genesius-Rode, Belgique.

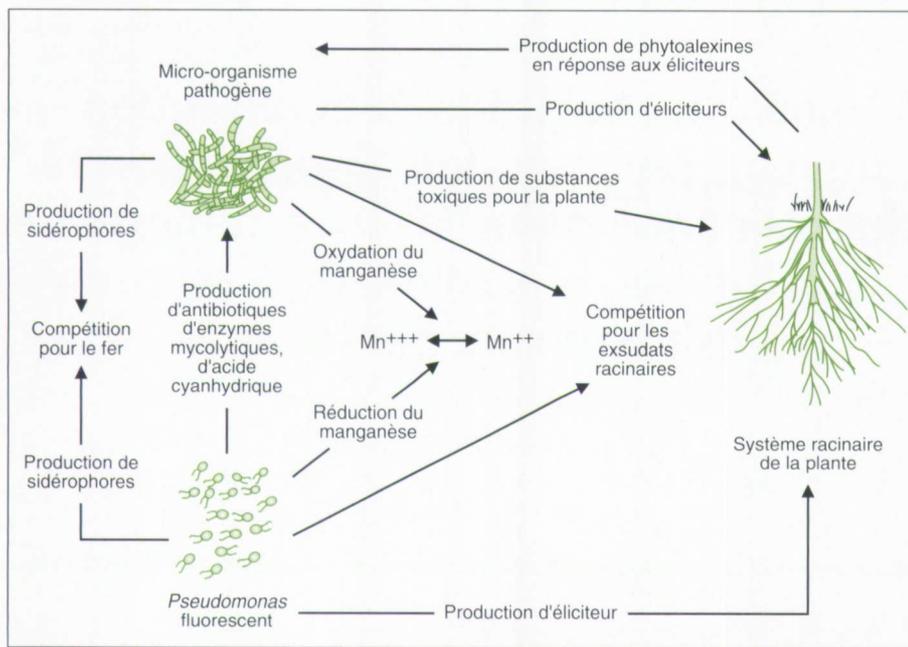


Figure 1. Interactions entre les *Pseudomonas* fluorescents, les micro-organismes phytopathogènes et les cellules racinaires.

Figure 1. Interactions between fluorescent *Pseudomonas*, plant pathogens and root cells.

principaux agents phytopathogènes contre lesquels l'utilisation des *Pseudomonas* fluorescents a été proposée.

Différents mécanismes, agissant seuls ou en combinaison, ont été avancés pour expliquer comment ces *Pseudomonas* fluorescents sont capables de réduire la gravité de ces maladies (figure 1) :

- la simple occupation des sites d'infection potentielle par colonisation de la rhizosphère, empêchant ainsi la croissance des pathogènes ;
- la production de métabolites inhibiteurs de la croissance des pathogènes ;
- la stimulation des mécanismes de résistance de l'hôte vis-à-vis des agents pathogènes.

Colonisation de la rhizosphère

Bien que peu étudiée, la phase de colonisation de la rhizosphère par les micro-organismes susceptibles d'exercer une protection contre les maladies du sol apparaît de plus en plus comme étant liée à un processus d'antagonisme, ou comme un préalable à l'expression de facteurs responsables de

l'antagonisme (antibiose, stimulation de la résistance). Ce phénomène de colonisation peut être décomposé en trois étapes :

- le chimiotactisme, associé aux exsudats racinaires ;
- l'adsorption des micro-organismes sur les racines ;
- la colonisation proprement dite de la rhizosphère, qui implique une consommation des exsudats racinaires.

Différents auteurs ont entrepris des recherches afin de mesurer l'impact de la colonisation de la rhizosphère sur la protection contre les maladies du sol par les *Pseudomonas* fluorescents. Ces études ont également pour objet d'identifier les facteurs limitant une colonisation efficace.

Gamliel et Katan ont présenté récemment une série de résultats à ce propos [18, 19]. Ces auteurs observent que la solarisation des sols a pour effet d'améliorer la croissance de plants de tomates. Les analyses de sols montrent que cette solarisation s'accompagne d'un accroissement de la proportion de *Pseudomonas* fluorescents dans la rhizosphère, à la suite d'une augmentation du chimiotactisme exercé par les exsudats racinaires de graines de tomates vis-à-vis des souches de *P. fluorescens* ou *P. putida*. Ces auteurs mettent

en évidence le rôle des exsudats sur la croissance des souches de *Pseudomonas* fluorescents ainsi que sur celle d'un champignon phytopathogène : *Penicillium pinophilum*. Dans le sol, les exsudats de semences mises à germer dans des sols solarisés stimulent davantage la croissance des *Pseudomonas* que celle du champignon. Une analyse quantitative de la composition de ces exsudats montre une augmentation très nette des composés aminés (y compris les acides aminés) dans les échantillons en provenance de sols solarisés. Cette augmentation serait le facteur responsable de l'influence positive des exsudats sur le développement des *Pseudomonas* fluorescents. Cette influence positive pourrait cependant s'exercer par le biais du mécanisme de compétition pour le fer. Celui-ci repose sur la production de sidérophores, molécules chélatrices du fer, dont la biosynthèse chez les *Pseudomonas* fluorescents est, selon nos travaux, favorisée par une source organique d'azote [20]. Il pourrait en être de même pour la production de certains antibiotiques ou enzymes mycolytiques. Paulitz [8] a étudié la compétition pour les exsudats racinaires entre micro-organismes favorables à la croissance des plantes et phytopathogènes. Il suggère que *P. putida* N1R réduit le développement de la fonte des semis du pois et du soja en consommant les exsudats volatils tels que l'éthanol ou l'acétaldéhyde produits par les semences en germination, les rendant ainsi inaccessibles pour la croissance du pathogène *Pythium ultimum*.

La mobilité

D'autres auteurs ont étudié l'importance de la mobilité des *Pseudomonas* dans le phénomène de chimiotactisme dans la rhizosphère de pomme de terre [21] et de soja [22]. Dans ces expériences, les plantes, dont les racines ont été préalablement trempées dans des suspensions bactériennes, sont cultivées en serre dans des sols naturels non stérilisés. La colonisation de la rhizosphère par *Pseudomonas* est évaluée après 12 jours pour la pomme de terre et 7 jours pour le soja. De Weger *et al.* [21] concluent que la mobilité est nécessaire à la colonisation, en observant que quatre mutants de *P. fluorescens* WCS374 dépourvus de flagel-

les sont devenus incapables de coloniser les racines de pommes de terre. Pour Scher *et al.* [22], au contraire, le chimiotactisme et la mobilité ne constitueraient pas des critères de sélection d'une bactérie performante pour la colonisation des racines de soja. En effet, un mutant non mobile de *P. putida* RW3 colonise les racines avec la même efficacité que la souche sauvage mobile. Ceci met bien en évidence la différence de relations entre différentes souches bactériennes et différentes rhizosphères.

L'adsorption

Les bases moléculaires des mécanismes régissant la colonisation de la rhizosphère par les *Pseudomonas* sont imparfaitement connues. De nombreux résultats montrent le rôle actif des lipopolysaccharides (LPS) bactériens dans différents types d'interactions plantes/bactéries. Les fonctions des LPS concernent notamment l'adsorption des bactéries telles que *Agrobacterium* et *Rhizobium*, ainsi que l'induction des mécanismes de défense de la plante. Des résultats expérimentaux suggèrent que les chaînes polysaccharidiques latérales qui constituent l'antigène 0 des LPS bactériens seraient également impliquées dans la colonisation des rhizosphères par *Pseudomonas* sp., en intervenant dans l'étape de la fixation [23]. Les chaînes polysaccharidiques de l'antigène 0 sont des sites d'une diversité structurelle considérable, qui peuvent interagir avec les lectines de la plante. Ainsi, il a été montré que l'agglutination des souches de *Pseudomonas* par les agglutinines des racines était associée à une meilleure colonisation de la rhizosphère [24].

L'importance des pili dans les phénomènes d'adhérence spécifique des bactéries zoopathogènes sur les cellules de l'épithélium est bien connue. Ces pili seraient également impliqués dans des interactions entre plantes et bactéries au niveau de la rhizosphère. C'est ainsi que les pili de *Klebsiella* spp. (entérobactéries présentes dans la rhizosphère) sont responsables de leur adhésion aux racines [25]. Chez certaines espèces de *Rhizobium*, on a montré le rôle des adhésines Ca⁺⁺-dépendantes des pili dans le phénomène initial d'adhésion [26]. Les pili joueraient un rôle similaire dans la fixation de *P. fluorescens* sur les racines de maïs [27].

Production de substances inhibitrices de la croissance des pathogènes

Les *Pseudomonas* fluorescents produisent un grand nombre de métabolites secondaires [28] qui pourraient jouer un rôle dans l'effet antagoniste de ces micro-organismes dans le sol. Ces agents inhibiteurs peuvent être scindés en quatre groupes : les antibiotiques, les sidérophores, les enzymes et l'acide cyanhydrique (HCN).

A ces métabolites secondaires, il convient d'ajouter une molécule dérivant du métabolisme primaire, l'ammoniac, qui, par l'alcalinisation du milieu qu'il provoque, peut avoir un effet inhibiteur, principalement sur la croissance d'espèces fongiques phytopathogènes.

Les antibiotiques

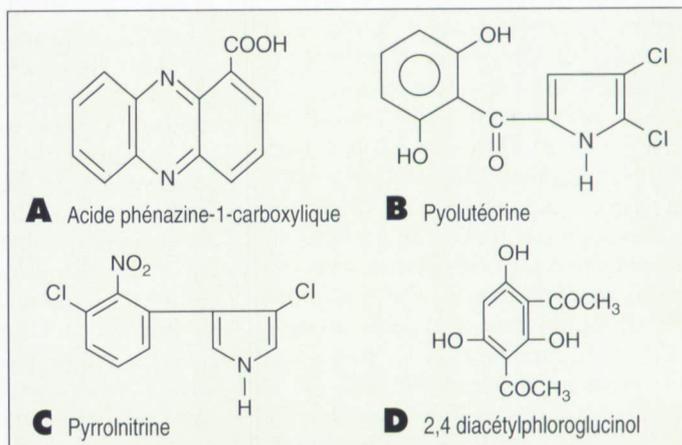
Le rôle joué par les antibiotiques produits par les *Pseudomonas* fluorescents (figure 2) dans l'inhibition d'agents pathogènes a été suspecté, soit en utilisant des mutants non producteurs, soit en mettant la substance inhibitrice en contact avec les racines ou encore directement dans le sol. Dans ce dernier cas, les résultats doivent, cependant, être interprétés avec précaution car, d'une part, certains antibiotiques sont rapidement inactivés dans le sol [3] et, d'autre part, la mise en évidence de la toxicité potentielle d'une molécule vis-à-vis d'un pathogène ne

signifie pas automatiquement que ce composé soit impliqué dans la lutte biologique. Ainsi, Howell *et al.* [2,3] montrent l'efficacité de la pyrrolnitrine comme inhibiteur de la croissance de pathogènes du cotonnier tels *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, *Alternaria* sp., et *Verticillium dahliae* dans des conditions non stériles, ainsi que l'activité inhibitrice de la pyolutéorine vis-à-vis de la croissance de *Pythium ultimum*. Le rôle de ces antibiotiques est cependant mis en doute par Kraus *et al.* [4] dans le cas de la fonte des semis du concombre provoquée par *P. ultimum*. Des mutants obtenus par transposition et incapables de produire ces substances se montrent, en effet, des agents de lutte biologique tout aussi efficaces que la souche sauvage.

Cependant, des antibiotiques peuvent être responsables de l'action antagoniste *in vivo* de *Pseudomonas* fluorescents vis-à-vis des agents phytopathogènes. Ainsi en est-il des dérivés de la phénazine tels que l'acide phénazine-1-carboxylique, actif contre *Gaeumannomyces graminis* (agent du piétin échaudage) [29] ou des dérivés phénoliques tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol, actif également contre *G. graminis* et *Thielaviopsis basicola*, agent de la pourriture noire du tabac [30]. A plus fortes concentrations, ces molécules phénoliques peuvent cependant avoir un effet toxique sur la plante [30]. Enfin, Howie et Suslow [31] ont récemment souligné, en utilisant un mutant non producteur, le rôle qui peut être joué par un nouvel antibiotique, l'oomyne A, dans le contrôle biologique de la fonte des semis du cotonnier.

Figure 2. Métabolites secondaires à activité antifongique produits par les *Pseudomonas* fluorescents.

Figure 2. Secondary metabolites with antifungal activity produced by fluorescent *Pseudomonas*.



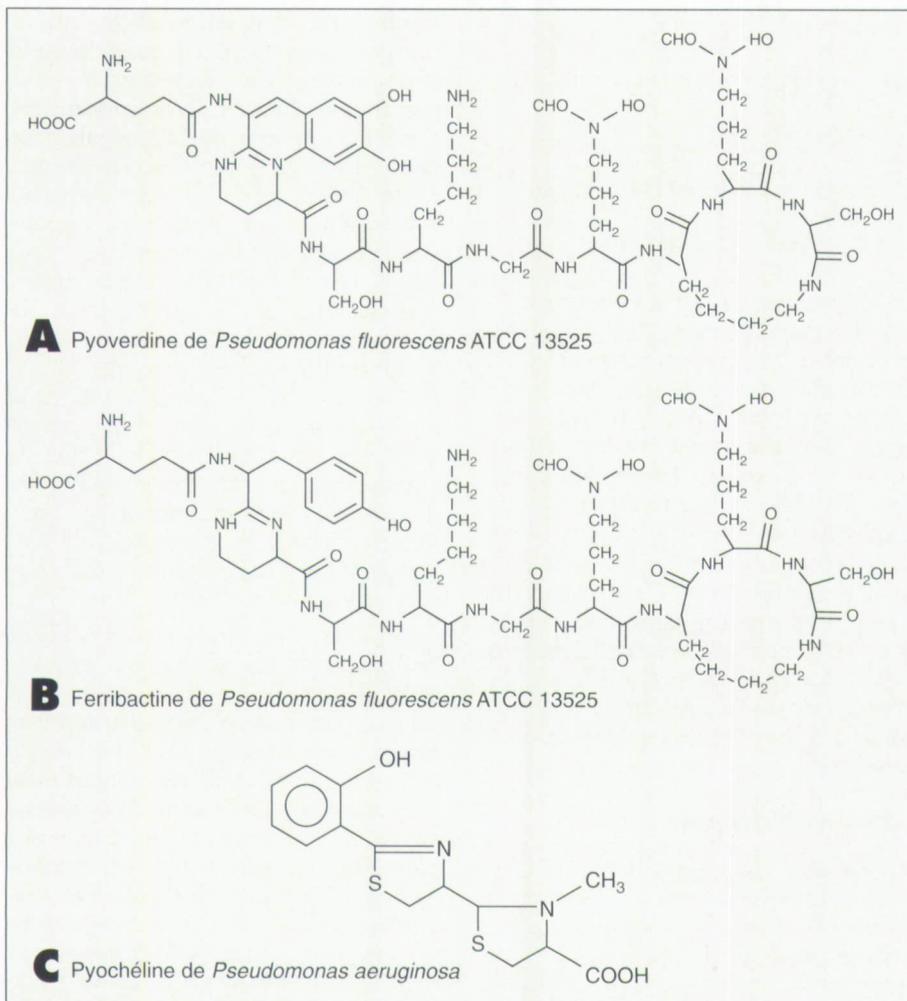


Figure 3. Structure des sidérophores produits par les *Pseudomonas fluorescens*.

Figure 3. Structure of siderophores produced by fluorescent *Pseudomonas*.

Les sidérophores

Quoiqu'un des éléments les plus abondants de la surface terrestre, le fer se trouve le plus souvent dans des conditions de pH proches de la neutralité et dans un environnement aérobie sous la forme de polymères d'hydroxydes ferriques fortement insolubles (à pH 7, la concentration en Fe^{3+} soluble est évaluée à $10^{-17}M$). La plupart des micro-organismes ont donc développé un mécanisme hautement spécifique de captation des ions ferriques basé sur la production de sidérophores dans des conditions de carence en fer. Ce sont des substances de faible poids moléculaire, chélatrices du Fe^{3+} et servant de transporteur de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule microbienne [32]. Les *Pseudomonas fluorescens*

produisent deux types de sidérophores, l'un dit de faible affinité (pyochéline) décelé chez *P. aeruginosa* [33] et l'autre, possédant une affinité élevée (pyoverdine ou pseudobactine) (figure 3). Les pyoverdines sont constituées d'une partie peptidique liée à un chromophore fluorescent et sont responsables de la fluorescence jaune-vert caractéristique de ces souches [34]. Certaines souches produisent, en outre, un composé appelé ferribactine, qui pourrait être un produit de dégradation ou un précurseur de la pyoverdine [35]. La production en quantités importantes de ces molécules chélatrices dans le sol permet aux *Pseudomonas fluorescens* de s'appropriier tout le fer nécessaire à leur croissance et de le rendre inaccessible aux autres micro-organismes ne possédant pas de

système de captation du fer à forte affinité. Certaines souches de *Pseudomonas* apparaissent même capables d'incorporer les sidérophores excrétés par d'autres micro-organismes [36]. Trois approches expérimentales différentes ont permis de mettre en évidence le rôle joué par la lutte biologique pour le fer dans l'action des souches de *Pseudomonas* contre certains agents pathogènes. La première approche consiste à comparer l'effet suppressif des *Pseudomonas fluorescens* en présence ou en absence de fer disponible dans le sol [5]. La deuxième utilise des sidérophores purifiés ou des chélatants synthétiques du fer pour reproduire l'antagonisme observé en présence des *Pseudomonas* [15]. La troisième, enfin, compare l'activité suppressive développée par des mutants incapables de produire la pyoverdine et celle exprimée par les souches sauvages dont ils sont issus [5].

Bien que fréquemment citée comme mécanisme responsable de l'antagonisme, la production de sidérophore n'apparaît pas plus généralisable que les mécanismes précédents ; selon Keel *et al* [11], elle n'est pas impliquée dans l'action des *Pseudomonas fluorescens* contre la pourriture noire du tabac. De même, les études que nous avons réalisées sur six souches des *Pseudomonas fluorescens* isolées de différentes rhizosphères n'ont pas montré de corrélation entre la production de sidérophores et l'antagonisme développé *in vitro* vis-à-vis de deux agents de la fonte des semis (*Pythium* et *Rhizoctonia*) [37]. Le fait que la protection conférée par l'agent de lutte biologique soit liée à la concentration en fer dans le sol n'est pas une preuve en soi du rôle joué par les sidérophores dans cet antagonisme. Nos travaux récents sur *P. fluorescens* ATCC 17400 montrent, en effet, que cette souche, qui présente un antagonisme réprimé par le fer, produit, outre sa pyoverdine, un deuxième sidérophore autre que la pyochéline et une substance à activité antifongique dont la production est également réprimée par le fer [38]. Un résultat comparable a été obtenu par Ownley *et al.* [39] avec la souche *P. fluorescens* 2-79. Ce micro-organisme excrète, outre son sidérophore et l'acide phénazine-1-carboxylique, une substance inhibitrice *in vitro* de la croissance de *G. graminis*, dont

Summary

Biochemical mechanisms involved in the biological control of soilborne plant diseases by fluorescent *Pseudomonas*

P. Jacques, P. Delfosse, M. Ongena, *et al.*

Fluorescent Pseudomonas appear as potential biocontrol agents of take-all in wheat, damping-off in cotton, cucumber, wheat, chickpea, pea and soybean, Verticillium wilt and root rot of potato, black root rot of tobacco, root rot of peanut, Fusarium crown and root rot of tomato and bean, and vascular wilt of flax, cucumber and radish. Many different mechanisms have been put forward to explain this biocontrol effect.

First of all, Pseudomonas should be able to colonize the rhizosphere according to three different mechanisms. The microorganisms should show chemotaxis towards root exudates, attach to the root surface and, finally, multiply in the rhizosphere. Various authors have linked these processes to the suppressive properties of Pseudomonas. Fluorescent Pseudomonas are also well-known for their ability to produce many different antibiotics. Among them, pyrrolnitrin, pyoluteorin, phenazin-1-carboxylic acid, 2,4-diacetylphloroglucinol and oomycin A, appear to be involved in the antagonism developed by Pseudomonas against different phytopathogens. The most studied mechanism is the competition for iron by siderophores, substances chelating ferric ions with a high affinity. These molecules are produced under conditions of iron deficiency thus supplying the microbial cells with iron. The production of siderophores by fluorescent Pseudomonas in the soil makes iron less available for the growth of pathogens. For most authors, this mechanism can explain the prevalence of Pseudomonas in the rhizosphere. Nevertheless, the fact that antagonism is linked to the concentration of iron in the soil does not prove the role of siderophores in this antagonism. In some cases, the production of antibiotics also appears to be iron-dependent. Other compounds, like enzymes (chitinase or laminarase), cyanhydric acid or ammoniac may also play a role in biocontrol by fluorescent Pseudomonas.

Finally, some authors have shown that fluorescent Pseudomonas can interact with plant cells by stimulating their resistance to pathogens. This could be achieved by enhancing the availability of certain ions, like manganese, or by stimulating the production of phytoalexins active against pathogens.

The study of fluorescent pseudomonads as biocontrol agents is a good example of the complexity of the interactions between harmful and beneficial microorganisms, plant cells and the abiotic environment within the rhizosphere. The mechanisms involved in the suppressive activity of fluorescent Pseudomonas appear to be very variable, according to the plant, the pathogen or the environment being considered. In order to understand these interactions better, it is necessary to study all the mechanisms involved in a given environment, and also to compare their effects in different rhizospheres. Global approaches should integrate such mechanisms, in order to select Pseudomonas with an improved efficiency as biological control agents.

Cahiers Agricultures 1993 ; 2 : 301-7.

la production est liée à des conditions de stress en fer. Il s'agirait de l'acide anthranilique, qui ne serait toutefois pas responsable de l'antagonisme *in vivo*. Gill *et al.* [40] ont également démontré la présence, dans les surnageants de culture de *Pseudomonas* sp., d'un agent fongistatique produit dans des conditions de carence en fer.

Les enzymes

La production d'enzymes mycolytiques est également évoquée pour expliquer l'action antagoniste des *Pseudomonas* fluorescents [41]. Pour une souche de *Pseudomonas stutzeri* (*Pseudomonas* non fluorescent), Lim *et al.* [42] ont montré que la chitinase et la laminarinase produites par cette souche sont responsables de l'antagonisme *in vitro* observé vis-à-vis de *Fusarium solani*.

L'acide cyanhydrique

Selon Voisard *et al.* [43], la production d'acide cyanhydrique (HCN) par la souche de *P. fluorescens* CHA5 est nécessaire à la protection de la plante vis-à-vis de l'agent de la pourriture noire du tabac, puisqu'un mutant HCN négatif a partiellement perdu ses propriétés protectrices de la maladie. Ce mécanisme est de moindre importance avec la souche CHA77 [30]. L'HCN produit dans la rhizosphère activerait des réactions de défense de la plante, ce qui correspond à un mécanisme indirect de protection.

Mécanismes indirects

Différents travaux font écho d'interactions entre les *Pseudomonas* et les cellules racinaires, qui permettent d'augmenter la résistance de celles-ci à l'infection par des micro-organismes. La réduction du manganèse par les *Pseudomonas* fluorescents pourrait jouer un rôle [44]. Cette réduction augmenterait la quantité de manganèse disponible pour la plante et, par ce biais, conduirait à une meilleure tolérance de cette dernière au parasite. Van Peer *et al.* [45] ont récemment démontré que la présence d'une souche de *Pseudomonas* sp. WCS 417r dans la rhizosphère d'œillet, induit l'accumulation par les cellules de la

plante de phytoalexines présentant une toxicité vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*. Enfin, la production par les *Pseudomonas* fluorescents de composés promoteurs de la croissance des plantes tels que l'acide indole-3-acétique, a également été évoquée à plusieurs reprises, bien que leur rôle dans la protection contre les agents phytopathogènes n'ait jamais été clairement démontré [30].

Conclusion

Les *Pseudomonas* fluorescents constituent l'un des groupes les plus étudiés dans le cadre de la lutte biologique. Ces micro-organismes n'ont cependant pas encore leur place sur le marché des biopesticides. La diversité et la complexité des mécanismes évoqués ici n'y sont pas étrangères. Au cours de ces vingt dernières années, de nombreux auteurs se sont efforcés de détailler chacune des propriétés susceptibles d'expliquer la prédominance des *Pseudomonas* fluorescents dans le sol et plus particulièrement au niveau de la rhizosphère. Cette approche analytique a le mérite de nous avoir fait découvrir des mécanismes biochimiques passionnants tels que la compétition pour le fer par le biais des sidérophores. Elle a conduit à l'application de critères relativement simplistes pour la sélection de biopesticides (antagonisme *in vitro*, production de sidérophores...). Ces critères ne peuvent, cependant, rendre compte à eux seuls du comportement global des micro-organismes dans la rhizosphère. D'autres éléments interviennent tels que le contenu des exsudats racinaires, la réaction de la plante au phytopathogène, la flore saprophyte au rôle souvent (à tort ?) minimisé, l'environnement abiotique dont les propriétés physico-chimiques peuvent être essentielles...

Ce constat ne nie pas les potentialités d'utilisation des souches microbiennes en tant que biopesticides ; il constitue un des éléments explicatifs de l'absence de ce type de bactéries sur le marché des pesticides biologiques. Il rend compte en outre de la complexité de la phase de sélection de l'agent de lutte biologique.

Trois approches s'attachent à lever cette pierre d'achoppement. La première [46] suggère la co-inoculation de micro-

organismes aux propriétés complémentaires. Elle nécessite cependant une forte réduction des coûts de production de ces bactéries, considérées aujourd'hui encore comme peu rentables. La deuxième propose la mise au point par génie génétique d'un micro-organisme performant. De longue haleine, cette méthode présuppose que les micro-organismes manipulés génétiquement soient agréés. Enfin, la troisième envisage la mise au point de techniques de sélection reflétant au mieux la réalité *in vivo* et ce, afin de révéler, au sein d'une population naturelle, le meilleur agent de lutte biologique.

Résumé

Les *Pseudomonas* fluorescents ont été étudiés comme agents potentiels de lutte biologique contre des maladies diverses que le piétin échaudage, les fontes de semis, les pourritures de racines et les fusarioses. Cet article propose une synthèse sur les différents mécanismes évoqués pour rendre compte des propriétés antagonistes de ces *Pseudomonas* dans le sol.

Ces bactéries doivent avant tout coloniser la rhizosphère concernée. Cette colonisation implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption des micro-organismes sur les racines, et enfin une compétition pour les substrats nutritifs présents. Cette seule colonisation peut entraîner une occupation de sites suffisante pour empêcher la croissance d'autres micro-organismes, dont les pathogènes. Les *Pseudomonas* sont également en mesure d'excréter des molécules qui inhibent la croissance des phytopathogènes. Les substances les plus étudiées sont, d'une part, les antibiotiques tels que la pyrrolnitrine, la pyolutéorine, les dérivés de la phénazine, le diacétylphloroglucinol ou l'oomycine A et, d'autre part, les sidérophores, molécules chélatrices du fer servant de transporteurs de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule microbienne. La production de ces sidérophores dans des conditions de carence en fer pourrait rendre l'ion ferrique inaccessible aux autres micro-organismes. D'autres métabolites produits par les *Pseudomonas* fluorescents peuvent également interférer avec la croissance des phytopathogènes ; il s'agit d'enzymes mycolytiques, de l'acide cyanhydrique ou de l'ammoniaque. Enfin, les *Pseudomonas* fluorescents peuvent augmenter la résistance des cellules de la plante aux attaques des micro-organismes, soit en augmentant la disponibilité de certains ions, tel le manganèse, soit encore en stimulant la production par la plante de phytoalexines toxiques vis-à-vis du pathogène.

Cependant, aucun des mécanismes évoqués ne rend compte à lui seul de la protection exercée par les *Pseudomonas* fluorescents dans le sol. Ce constat ne nie pas les potentialités d'utilisation de ces souches en tant que biopesticides, mais rend très complexe la phase de sélection de l'agent de lutte biologique par la seule mise en œuvre, par exemple, de tests d'antibiose *in vitro*.

Afin de mieux maîtriser la complexité de ces interactions, il faut développer des études permettant, d'une part, de mesurer, dans un même système plante/micro-organisme, l'importance de chacun de ces mécanismes et, d'autre part, d'analyser le comportement d'une souche donnée dans différentes rhizosphères. Ces travaux permettront de relier des ensembles de mécanismes (colonisation, antibiose, sidérophore) dont l'intégration pourrait améliorer l'efficacité des agents de lutte biologique : c'est là le pari d'une approche plus synthétique du problème de la lutte biologique à l'aide de *Pseudomonas*.

Références

1. Weller DM, Cook RJ. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 1983 ; 73 : 463-9.
2. Howell CR, Stipanovic RD. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology* 1979 ; 69 : 480-2.
3. Howell CR, Stipanovic RD. Suppression of *Pythium ultimum* — induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 1980 ; 70 : 712-5.
4. Kraus J, Loper JE. Lack of evidence for a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in biological control of *Pythium* damping-off of cucumber. *Phytopathology* 1992 ; 82 : 264-71.
5. Becker JO, Cook RJ. Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 1988 ; 78 : 778-82.
6. De Freitas JR, Germida JJ. *Pseudomonas cepacia* and *Pseudomonas putida* as winter wheat inoculants for biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Can J Microbiol* 1991 ; 37 : 780-4.
7. Kaiser WJ, Hannan RM, Weller DM. Biological control of seed rot and preemergence damping-off of chickpea with fluorescent pseudomonads. *Soil Biol Biochem* 1989 ; 21 : 269-73.
8. Paulitz TC. Effect of *Pseudomonas putida* on the stimulation of *Pythium ultimum* by seed volatiles of pea and soybean. *Phytopathology* 1991 ; 81 : 1282-7.
9. Leben SD, Wadi JA, Easton GD. Effects of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 1987 ; 77 : 1592-5.
10. Xu GW, Gross DC. Selection of fluorescent pseudomonads antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. *Phytopathology* 1986 ; 76 : 414-22.
11. Keel C, Voisard C, Berling CH, Kahr G, Défago G. Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 1989 ; 79 : 584-9.
12. Ganesan P, Gnanamanickam JJ. Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol Biochem* 1987 ; 19 : 35-8.
13. Lemanceau P, Alabouvette C. Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protec* 1991 ; 10 : 279-86.
14. Anderson AJ, Guerra D. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponic system. *Phytopathology* 1985 ; 75 : 992-5.
15. Scher FM, Baker R. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology* 1982 ; 72 : 1567-73.
16. Sarniguet A, Lucas P. Les greens de golf, modèle d'étude en phytopathologie. *Biofutur* 1991 ; 99 : 54-6.
17. Canfield ML, Woore LW. Isolation and characterization of opine-utilizing strains of *Agrobacterium tumefaciens* and fluorescent strains of *Pseudomonas* spp. from rootstocks of *Malus*. *Phytopathology* 1991 ; 81 : 440-3.
18. Gamliel A, Katan J. Chemotaxis of fluorescent pseudomonads towards seed exudates and germinating seeds in solarized soil. *Phytopathology* 1992 ; 82 : 328-32.
19. Gamliel A, Katan J. Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonads and fungi in solarized soil. *Phytopathology* 1992 ; 82 : 320-7.
20. Delfosse P, Jacques P, Moussaïf M, Ongena M, Thonart P. Siderophore production enhancement by optimization of culture conditions and transposon-mutagenesis of a fluorescent *Pseudomonas*. *Arch Int Physiol Bioch Biophys* 1991 ; 99 : B55.
21. De Weger LA, Van der Vlugt CIM, Wijffes AHM, Bakker PAHM, Schippers B, Lugtenberg B. Flagella of a plant-growth-stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots. *J Bacteriol* 1987 ; 169 : 2769-73.
22. Scher FM, Kloepper JW, Singleton C, Zaleska I, Laliberte M. Colonization of soybean roots by *Pseudomonas* and *Serratia* species : relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time. *Phytopathology* 1988 ; 78 : 1055-9.
23. De Weger LA, Jann B, Jann K, Lugtenberg B. Lipopolysaccharides of *Pseudomonas* spp. that stimulate plant growth : composition and use for strain identification. *J Bacteriol* 1987 ; 169 : 1441-6.
24. Van Peer R, Punte WLM, Schippers B. Colonization of the endorhizosphere by strains of *Pseudomonas* spp. In : Beemster ABR, Bollen GJ, Gerlagh M, Ruissen MA, Schippers B, Tempel A, eds. *Biotic interactions and soil-borne diseases*. Amsterdam : Elsevier, 1991 : 398.
25. Haahtela K, Tarkka E, Korkonen TK. Type 1 fimbria-mediated adhesion of enteric bacteria to grass roots. *Appl Environ Microbiol* 1985 ; 49 : 1182-5.
26. Smit G, Kijne JK, Lugtenberg BJJ. Involvement of both cellulose fibrils and a Ca²⁺ dependant adhesion in the attachment of *Rhizobium leguminosarum* to pea root hair tips. *J Bacteriol* 1987 ; 169 : 4294-301.
27. Vesper SJ. Production of pili (fimbriae) by *Pseudomonas fluorescens* and correlation with attachment to corn roots. *Appl Environ Microbiol* 1987 ; 53 : 1397-403.
28. Leisinger T, Margraff R. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiol Rev* 1979 ; 43 : 422-42.
29. Thomashow LS, Weller DM, Bonsall RF, Pierson LS. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Appl Environ Microbiol* 1990 ; 56 : 908-12.
30. Haas D, Keel C, Laville J, et al. Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in the suppression of root diseases. In : Hennecke H, Verma DPS, eds. *Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions*. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 1991 : 450-6.
31. Howie WJ, Suslow TV. Role of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol Plant-Microbe Inter* 1991 ; 4 : 393-9.
32. Neilands JB, Leong SA. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann Rev Plant Physiol* 1986 ; 37 : 187-208.
33. Cox CD, Rinehart KL, Moore ML, Cook JC. Pyochelin : novel structure of an iron-chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 4256-60.
34. Demange P, Wendenbaum S, Bateman A, Dell A, Abdallah MA. Bacterial siderophores : structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds. In : Winkelman G, Van der Helm D, Neilands JB, eds. *Iron transport in microbes, plants and animals*. Weinheim : VCH, 1987 : 167-87.
35. Taraz K, Tappe R, Schröder H, et al. Ferribactins — the biogenetic precursors of pyoverdins. *Z Naturforsch* 1991 ; 46c : 527-33.
36. Koster M, Van de Vossenberg J, Van Klompenburg W, Leong J, Weisbeek P. Characterization and regulation of a second high-affinity iron transport system (PupB) in *Pseudomonas putida* WCS358. In : Galli E, ed. *Book of abstracts of the third international symposium on Pseudomonas biology and biotechnology*. Rome : Giuliana Boera, 1991 : 107.
37. Jacques P, Ongena M, Delfosse P, Klinkenberg H, Lepoivre P, Thonart P. Production of siderophores in antagonistic and non-antagonistic strains of *Pseudomonas*. In : Christiansen C, Munck L, Villadsen J, eds. *Proceedings of the 5th European congress on biotechnology*. Copenhagen : Munksgaard International Publisher, 1990 : 150-2.
38. Jacques P, Mistry C, Ongena M, et al. Molecular analysis of interactions between fluorescent pseudomonads and *Pythium* spp. In : Nester E, Comai L, Gordon M, Leigh J, eds. *Book of abstracts of the sixth international symposium on molecular plant-microbe interactions*. Seattle : University of Washington, 1992 : 406.
39. Ownley BH, Weller DM, Thomashow LS. Influence of *in situ* and *in vitro* pH on suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Phytopathology* 1992 ; 82 : 178-84.
40. Gill PR, Warren JR, Warren GJ. An iron-antagonized fungistatic agent that is not required for iron assimilation from a fluorescent rhizosphere pseudomonad. *J Bacteriol* 1988 ; 170 : 163-70.
41. Lam ST, Gaffney TD, Ligon J, et al. Mutants of a *Pseudomonas fluorescens* biological control strain with altered production of anti-fungal activities. In : Nester E, Comai L, Gordon M, Leigh J, eds. *Book of abstracts of the sixth international symposium on molecular plant-microbe interactions*. Seattle : University of Washington, 1992 : 231.
42. Lim HS, Kim YS, Kim SD. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and antifungal mechanism against *Fusarium solani*, an agent of plant root rot. *Appl Environ Microbiol* 1991 ; 57 : 510-6.
43. Voisard C, Keel C, Haas D, Défago G. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J* 1989 ; 8 : 351-8.
44. Sarniguet A. Réceptivité des sols au piétin-échaudage du blé : Influence des rotations et de la fertilisation azotée en relation avec certains facteurs physicochimiques et les peuplements de *Pseudomonas* fluorescents. Thèse de l'Université de Paris-Sud Orsay, 1990 ; 98 p.
45. Van Peer R, Niemann GJ, Schippers B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 1991 ; 81 : 728-34.
46. Lemanceau P. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. *Agronomie* 1992 ; 12 : 413-37.

Remerciements

Philippe Delfosse et Marc Ongena bénéficient respectivement d'une subvention du Fonds national de la recherche scientifique de Belgique (FNRS) et d'une bourse de l'Institut pour l'encouragement de la recherche scientifique dans l'industrie et l'agriculture de Belgique (IRSIA). Ces travaux ont par ailleurs reçu un soutien financier du FNRS (FRFC n° 2.9008.91). Les auteurs remercient le professeur Budzikiewicz et ses collaborateurs pour les figures des différents sidérophores.