

Annexe N° 2

Résultats statistique :

- Résultats de taux de germination de cèdre de Chrèa :

Test de Kruskal-Wallis :

K (Valeur observée)	7,551
K (Valeur critique)	7,815
DDL	3
p-value (bilatérale)	0,056
alpha	0,05

Comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn / Test bilatéral :

Echantillon	Effectif	Somme des rangs	Moyenne des rangs	Groupes
CB2	10	157,000	15,700	A
CS141	10	183,500	18,350	A
CB1	10	190,500	19,050	A
CT	10	289,000	28,900	A

- Résultats de taux de germination de cèdre de Tikjda :

Test de Kruskal-Wallis :

K (Valeur observée)	2,690
K (Valeur critique)	7,815
DDL	3
p-value (bilatérale)	0,442
alpha	0,05

- Vitesse de germination de grains de cèdre de Chrèa :

Test de Kruskal-Wallis :

K (Valeur observée)	1,062
K (Valeur critique)	7,815
DDL	3
p-value (bilatérale)	0,786
alpha	0,05

- Vitesse de germination de grains de cèdre de Tikjda:

K (Valeur observée)	2,068
K (Valeur critique)	7,815
DDL	3
p-value (bilatérale)	0,558
alpha	0,05

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques



Mémoire

En vue d'obtention du diplôme de Master.

Filière : Sciences agronomiques.

Spécialité : Production Végétale et Agriculture Durable

Thème

**Mise en évidence de l'effet des *Pseudomonas* spp.
Fluorescents sur l'amélioration de la germination des
graines du cèdre (*Cedrus atlantica*) de la station Tikjda et
Chrèa et le Biocontrôle *vis-à-vis* de *Fusarium oxysporum*.**

Présenté par :

M^{elle} BENTALEB Ghania

Soutenu le : 18 octobre 2017

Devant le jury :

Présidente: M^r AIT SAID S.

MCA

Promotrice : M^{me} DAHOUMANE-LARBAOUI A.

MCB

Examinatrice : M^{lle} BOUTABTOUB W.

MCB

Examinatrice : M^{me} TAIBI- HADJ YUCEF H.

MAA

Promotion : 2016/2017

REMERCIEMENTS

Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le créateur du tout, pour me donner la vie, le bénévolé et la force pour accomplir ce travail.

Je suis en effet reconnaissant à ma promotrice Mme DAHOUMENE A. pour ses immenses contributions, critiques constructives, patience, compréhension, conseils, et appui au cours de réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Mr AIT SAID S. MCA de l'UMMTO qui me fait l'honneur d'être le président de jury de mon mémoire.

Je suis également très honorée de la présence, dans ce jury de Mme TAIBI-HADJ YUCEF H. MAA à l'UMMTO. et de M^{elle} BOUTEBTOUB W. MCB à l'UMMTO toutes fois que je les ai approché, et aussi pour avoir accepté d'être membres de jury.

Mes remerciements spécifiques et reconnaissances particuliers vont à M^{elle} ABDELLAOUI K, A pour son aide, ses orientations, sa disponibilité et ses conseils.

BENTALEB Ghamia

Dédicaces

A mes chers parents de témoignage de mon affection

A mes frères Mouloud, Madjid et Salim

A mes très chères cousines Lyna, Lyfia et Dalia

A ma promotrice

A FEDDAG Roza

A tous mes enseignants qui m'ont donné leur savoir

A toute ma famille

A mes amis Djazia, Djouher, Chahrazed et Lyes

Ghania

AIA : Acide indole acétique

AMY: Amygdaline

ARA: Arabinose

C° : Degré Celsius

DAPG : 2,4-diacetylphloroglucinol

FOA : *Fusarium oxysporum albedinid*

FOL: *Fusarium oxysporum lycopersici*

GLU : Glucose

HCN : Acide cyanhydrique

INO: Inositol

ISR : Résistance systémique induite

KB : King B

MAN : Manitol

MEL: Melibiose

PDA : Potato-Dextrose Agare

PGPR : Planth Growth Promoting Rhizobacteria

RHA: Rhamnose

RM : Rouge de mythyle

SAC: Saccharose

SAR: Résistance systémique acquise

SOR: Sorbitol

TDA : Tryptophane désamination

TMG: Taux moyen de la germination

VP : Voges Proskauer

- **Figure 01** : Schéma simplifié représente les effets directs et indirectes rhizobactéries exemple illustré des *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Hol *et al.*, 2013) 06
- **Figure 02** : Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries. Les trois étapes principales sont : (A) : L'élicitation ; (B) : La transmission du signal. (C) : L'expression du ou des mécanisme (s) de défense (Ongena & Thonart., 2006) 09
- **Figure 03** : Représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère 11
- **Figure 04** : Représente Les déficients parties du cèdre de l'Atlas. a: l'arbre complète ; b : cône ; c : chaton ; d : la graine 16
- **Figure 05** : Cycle de reproduction du cèdre de l'Atlas selon (Derridj, 1990) 17
- **Figure 06** : Aire de répartition de genre cèdre dans le monde selon (Derridj, 1990) 18
- **Figure 07** : Aire naturelle du cèdre de l'Atlas (en noir) sur fond altimétrique (Courbet *et al.* 2012) (les Monts du Hodna regroupent les sites 10, 11 et 12, les monts du Belezma ceux du 13 et 14, les sites 15 à 19 sont ceux du massif de l'Aurès 19
- **Figure 08** : Nid de *Thaumetopoea pityocampa*. (photos C.Pallard) à gauche et La tordeuse des bourgeons de l'épinette à droite 20
- **Figure 09** : Cèdres isolément dépéris à Tikjda (Djurdjura) (Deridj., 2011) 21
- **Figure 10** : Parc national de Djurdjura malgré son statut d'aire protégée reçoit une décharge 21
- **Figure 11** : Premiers symptômes du bayoud représente le palmier dattier infecté par le bayoud 23
- **Figure 12** : Stade final du bayoud 23
- **Figure 13** : Flétrissement et Jaunissement des feuilles 24
- **Figure 14** : Brunissement longitudinal de la tige 24
- **Figure 15** : Inoculation de la plaque api 20 E 28
- **Figure 16** : Plaque API 20 E avant l'inoculation 28
- **Figure 17** : Levée de dormance par trempage les graines dans l'eau oxygénée à 30% 34
- **Figure 18** : Méthode des spots 36
- **Figure 19** : Méthodes des stries 37
- **Figure 20** : Souches bactériennes isolées de la rhizosphère de cèdre 38
- **Figure 21** : Souches bactériennes *pseudomonas fluorescens* 38

• Figure 22 : Production de pigment fluorescent par la souche S142 sur le milieu King B	39
• Figure 23 : Production de pigment fluorescent par la souche S ₁₄₁	39
• Figure 24 : Observation sous les rayons (UV) de la pigmentation fluorescens de la souche S ₁₄₁	39
• Figure 25 : Observation des souches S11, S12, S13, S141, S142 et S143 sous le microscope optique au G: 10x100.....	40
• Figure 26 : Représentent les résultats de l'effet de la température à 4°C sur les souches bactériennes	41
• Figure 27 : Représentent les résultats de l'effet de la température à 42°C sur les souches bactériennes4	2
• Figure 28 : Galerie biochimique classique.....	44
• Figure 29 : Teste oxydase.....	44
• Figure 30 : Teste catalase	44
• Figure 31 : Test ADH-Arginine	44
• Figure 32 : Assimilation des sucres par les souches S ₁₄₁ , S ₁₄₂ et S ₁₄₃	46
• Figure 33 : Clé dichotomique.....	47
• Figure 34 : Représentation des résultats du test de la résistance des souches bactériennes vis-à-vis de trois antibiotiques Kanamycine, Ampicilline, Imipenème ...	48
• Figure 35 : Résultats de test antibiogramme sur les souches bactériennes S ₁₂ , S ₁₃ , S ₁₄₁ , S ₁₄₂ et S ₁₄₃ <i>vis-à-vis</i> de trois antibiotiques Kanamycine, Ampicilline, Imipenème	49
• Figure 36 : L'indice de solubilisation de phosphore sur milieu solide (PVK) par mode spot des souches purifiées	50
• Figure 37 : Solubilisation de phosphore sur le milieu (PVK), en méthodes pots	51
• Figure 38 : Solubilisation de phosphore sur le milieu (PVK), en méthode puits.....	51
• Figure 39 : Germination des graines de cèdre dans une boîte de pétri.....	52
• Figure 40 : Effet de la bactérisation sur le taux de germination de grains de cèdre Tikjda.....	53
• Figure 41 : Effet de la bactérisation sur le taux de germination de grains de Chrèa...	53
• Figure 42 : Cinétique de germination des grains de cèdre de Tikjda cultivé pendant 30 jours	54

- **Figure 43** : Cinétique de germination des grains de cèdre de Chrèa cultivé pendant 30 jours 54
- **Figure 44**: Taux d'inhibition (%) des souches bactériennes contre la souche fongique FOA et FOL sur milieu KB 57
- **Figure 45** : Taux d'inhibition (%) des souches bactériennes contre la souche fongique FOA et FOL sur milieu PDA..... 57

- **Tableau 01** : Termes adoptés pour classer les mécanismes par lesquels les PGPR stimulent la croissance des plantes (Martinez-Viveros *et al.*, 2010)..... 04
- **Tableau 02** : Stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après inoculation de souches de *Pseudomonas* ssp. Fluorescents (Mattar , 1993)..... 08
- **Tableau 03** : Exemples de microorganismes inscrits en tant que biopesticides à l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (Fravel, 2005)..... 12
- **Tableau 04** : Résumé des données botanique de l'espèce *Cedrus atlantica* Mantti 15
- **Tableau 05** : Lecture de la plaque API 20 E 31
- **Tableau 06** : Origines des isolats fongiques utilisés dans le test d'antagonisme 36
- **Tableau 07** : Caractéristiques morphologiques des souches bactériennes isolées de la rhizosphère de cèdre 38
- **Tableau 08**: Production de pigment fluorescens sur milieu King A 39
- **Tableau 09** : Effets de la température sur la croissance bactérienne..... 41
- **Tableau 10** : Caractères biochimiques de six souches bactériennes 43
- **Tableau 11** : Assimilation des sucres par les isolats bactériens sur plaque API 20 E... 45
- **Tableau 12**: Résultats de l'antibiogramme testés vis-à-vis de Kanamycine, ampicilline et Imipenème comme antibiotiques..... 48
- **Tableau 13**: solubilisation du phosphore par les six souches S₁₁, S₁₂, S₁₃, S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ sur le milieu PVK solide 50
- **Tableau 14** : Production d'HCN par les souches bactériennes 51
- **Tableau 15** : Taux d'inhibition(%) des souches bactériennes vis-à-vis de F.O.L et F.O.L..... 56
- **Tableau 16** : Activité antagoniste des souches sur le milieu King B *vis-à-vis* de FOL et FOA 58
- **Tableau 17** : Activité antagoniste des souches sur le milieu PDA *vis-à-vis* de FOL et FOA 59

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction générale 01

Partie 1: Etude bibliographique.

Chapitre I: Importance des Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

1. Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents.....	05
1.1. Caractéristiques des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	05
1.2. Effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	06
1.2.1. Stimulation de la croissance des végétaux	07
1.2.2. Induction de la résistance chez les plants	09
1.2.3. Compétition	10
1.2.4. Antibiose.....	10
1.3. Mécanismes d'actions	10
1.3.1. Production des sidérophores.....	12
1.3.2. Production d'antibiotiques.....	13
1.3.3. Production de Cyanure d'hydrogène (HCN).....	13
1.3.4. Solubilisation du phosphore	14

Chapitre II : Généralités sur le cèdre

1. Taxonomie.....	15
2. Caractéristiques botanique de cèdre	15
3. Aire de répartition naturelle du genre <i>Cédrus</i>	18
3.1. Répartition dans le monde	18
3.2. Répartition géographique du cèdre de l'Atlas en Algérie	19
4. Ennemis du cèdre de l'Atlas.....	20
5. Intérêts du cèdre	22

Chapitre III : Généralités sur le fusariose vasculaire

1. Fusariose vasculaire de palmier dattier	23
2. Fusariose vasculaire sur la tomate.....	24

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Isolement et identification des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	26
1.1. Prélèvement d'échantillons	26
1.2. Isolement et purification	26
2. Identification phénotypique des isolats bactériens	26
2.1. Caractères culturels	26
2.1.1. Coloration de Gram	27
2.1.2. Caractérisation physiologique	27
2.1.2.1. Effets de la température	27
2.2. Caractérisation biochimique	27
2.2.1. Galerie biochimique classique	27
2.2.1.1. Étude des dérivés de l'acide pyruvique	27
2.2.1.2. Test mobilité	28
2.2.1.3. Utilisation de l'ion citrique	28
2.2.1.4. Hydrolyse de la gélatine	28
2.2.1.5. Utilisation des glucides	28
2.2.1.6. Nitrates réductases	29
2.2.1.7. Catalase	29
2.2.1.7. Test oxydase	29
2.2.1.8. Test arginine	29
2.2.2. Caractérisation par la plaque API 20E	30
2.3. Résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »	32
2.4. Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes	32
2.5. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	33
3. Essai de la stimulation de la germination du cèdre d'Atlas " <i>in-vitro</i> "	33
3.1. Matériels biologique	33
3.1.1. Matériels végétales	33
3.1.2. Isolats bactériens	33
3.2. Préparation des graines	33
3.2.1. Désinfections superficielles des semences	33
3.2.2. Levée de la dormance	34
3.3. Bactérisation des graines	34
3.4. Mise en germination	34

3.5. Paramètres étudiés	34
3.5.1. Taux de germination.....	35
3.5.2. Vitesse de germination	35
3.6. Diapositif expérimental	35
3.7. Analyse statistiques	35
4. Activité antifongique	36
4.1.1. Souches bactériennes.....	36
4.1.2. Isolats fongiques.....	36
4.2. Essai d'activité antagoniste " <i>in- vitro</i> "	36

Partie 3 : Résultats discussion

1. Caractérisation des bactéries	38
1.1. Caractères cultureux des souches	38
1.2. Caractérisation microscopiques.....	40
1.3. Caractérisation physiologique	40
1.3.1. Effet de la température	40
1.4. Caractérisation biochimique.....	42
1.4.1. Galerie biochimique classique.....	42
1.4.2 Assimilation des sucres	45
1.5. Résistance aux antibiotiques « antibiogramme »	47
2. Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes	49
3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN).....	51
4. Stimulation de la germination du cèdre d'Atlas " <i>in-vitro</i> "	52
4.1. Taux de germination.....	52
4.2. Vitesse de germination	54
5. Activité antifongique	55
Conclusion	61

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Les forêts méditerranéennes possèdent une valeur patrimoniale très élevée. Elles constituent des réserves importantes de diversité génétique, spécifique et fonctionnelle, qu'il convient de conserver au mieux dans l'optique d'une gestion durable de ce patrimoine biologique et ces ressources potentielles (Quézel et Médail, 2003).

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une essence qui a toujours suscité un intérêt important en raison de ses nombreuses qualités forestières, telles que sa capacité au maintien de l'équilibre biologique, sa faible inflammabilité, sa production de bois de qualité, et un port remarquable et esthétique (Toth, 1978).

D'après (Derridj, 1990), les cédraies algériennes ont énormément régressé suite à leurs exploitations incontrôlées pendant plusieurs millénaires. L'équilibre de la forêt devient extrêmement fragile, et il est même rompu dans certaines localités (Ezzahiri *et al.*, 1994). Le même auteur ajoute que ce phénomène a entraîné la perturbation de plusieurs mécanismes d'ordre physiologique et biologique et plus particulièrement celui de la régénération naturelle.

Des plantations effectuées avec succès dans l'Atlas tellien et l'Aurès témoignent de l'aptitude de cette espèce à coloniser des espaces vides, grâce à la puissance de sa régénération naturelle, et le cèdre se présente comme une essence de reboisement majeure dans l'étage montagnard (Harfouche et Nadjahi, 2003).

L'agriculture mondiale est aujourd'hui frappée par un courant qui favorise des pratiques plus durables et plus respectueuses de l'environnement. Pour répondre à ces nouvelles exigences, les agriculteurs doivent se tourner vers l'exploitation et la rentabilisation des ressources naturelles par le biais de pratiques agricoles combinant la performance et la protection des cultures à un moindre coût écologique (Benhamou, 2012).

L'amélioration de la culture des plantes est un domaine en continuelle évolution dont l'objectif principal est de nourrir la planète (Berge, 2011). L'intérêt actuel de l'association plante/micro-organismes bénéfiques n'est pas seulement motivé par le désir d'augmenter la productivité agricole mais aussi par la prise de conscience générale sur l'urgence de la protection de notre environnement (Gouzou, 1992).

Cependant, les travaux menés sur les bactéries stimulant la croissance des semis d'arbres sont quasi absentes. A notre connaissance, aucune étude n'a été effectuée sur l'amélioration de la croissance des semis de cèdre en Algérie. En plus, il s'est avéré que l'utilisation des souches bactériennes promotrices de la croissance des semis d'arbres en pépinière forestière est très intéressante et ceci est dû d'une part aux résultats positifs obtenus en agriculture et en horticulture et d'autre part, au faible coût et à la facilité d'application des opérations d'inoculations bactériennes en pépinière (Chanway, 1997 ; Vonderwell *et al.*, 2000).

Parmi les bactéries d'intérêt agricole (PGPR) les *Pseudomonas* spp. Fluorescents font l'objet d'une attention particulière. Leur utilisation dans l'agriculture en tant que biofertilisants offre un bon rendement même dans des conditions sévères (Ali *et al.*, 2009 ; Bano et Fatima, 2009).

Pseudomonas spp Fluorescents et *P putida* sont présentes à une densité élevée dans des environnements variés (Holloway, 1992 ; Schroth et al, 1992). Ces espèces font l'objet de nombreuses études compte tenu de leur intérêt potentiel en agriculture et pour l'environnement. Ainsi, certaines souches ont l'aptitude de stimuler la croissance et/ou d'améliorer l'état sanitaire des plantes (Lemanceau, 1992).

L'objectif de notre travail est d'effectuer des isolements et identification de quelques souches appartenant au groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents à partir de sols forestiers de la rhizosphère du cèdre de région TIKJDA. Egalement, la mise en évidence de la capacité de solubilisation du phosphore et de production d'HCN par les souches bactériennes isolés. Ainsi, l'étude de leurs activités antagonistes *vis-à-vis* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Le dernier essai de notre étude, consiste à l'étude de l'effet de biostimulation de la germination des grains de cèdre de région de TIKJDA et de région CHREA par trois souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents.

Partie 1

Etude bibliographique

Chapitre I

Importance des PGPR

I. Importance des Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR):

Les rhizobactéries stimulatrice de la croissance végétale ou en anglais Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) sont des rhizobactéries bénéfiques pour les plantes (Kloepper *et al.*, 1989). Elles doivent être compétitives aux autres communautés microbiennes rhizosphériques (Antoun et Prévost, 2005). Ce sont des rhizobactéries libres dans la rhizosphère dotées de potentialités bénéfiques très importantes pour l'agriculture (Babalola, 2010 b).

Les PGPR sont caractérisés par une capacité d'adaptation physiologique et métabolique polyvalente (Sturz et Christie, 2003), formant un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques de la rhizosphère (Soltani, 2010).

Ces rhizobactéries varient selon leur degré de proximité à la racine. En général, elles peuvent être séparées en PGPR extracellulaires, existant dans la rhizosphère ou dans l'espace intercellulaire de cortex racinaire (bactéries non symbiotique) et des PGPR intracellulaires, qui pénètrent dans les cellules racinaires, généralement sont spécialisés dans la nodulation (bactéries symbiotique) (Gray et Smith, 2004).

Les genres connus comme PGPR sont *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* (Fernando *et al.*, 2005), *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Coballero-Mellado *et al.*, 2004), *Serratia* (Liu *et al.*, 1995).

Les PGPR offrent des applications intéressantes en agriculture comme la biofertilisation et la lutte biologique par les biopesticides ainsi que des applications en phytoremédiation (tableau 1) et d'autres application environnementales telles que l'amélioration du reboisement des sols stériles ou chimiquement pollué (Bashan et Holguin, 2002 ; Lugtenberg et kamilova, 2009 ; Weyens *et al.*, 2009) (Tableau 01).

Les PGPR ont été soumis à de nombreuses enquêtes axées sur la biotechnologie appliquée en agriculture, horticulture, foresterie, et protection de l'environnement (Zahir *et al.*, 2004) , ainsi développer des inoculant du sol qui peuvent contribuer pour une agriculture durable et diminuer le besoin d'utilisation de produits chimique, les engrais et les pesticides.

Tableau 01 : Termes adoptés pour classer les mécanismes par lesquels les PGPR stimulent la croissance des plantes (Martinez-Viveros *et al.*, 2010).

Termes	Définition	Mécanismes	Références
Biofertilisants	Une substance contenant des micro-organismes, quand elle est appliquée à la semence, la surface de la plante ou au sol, elle colonise la rhizosphère et stimule la croissance végétale par l'amélioration de la nutrition ou la disponibilité des nutriments essentiels à la plante.	-Fixation biologique de l'azote. -Solubilisation du phosphore insoluble.	-Vessey (2003). -Somers <i>et al.</i> , (2004). -Fuertes-Ramírez et Gaballero-Mellado (2006).
Phytostimulateurs	Micro-organisme ayant la faculté de produire ou changer la concentration de régulateurs de croissance tels que l'acide indole acétique AIA, l'acide gibbérelliques, les cytokinines, et l'éthylène.	-Production des phytohormones (auxines, cytokinines, gibbérellines) -Réduction de la concentration d'éthylène (à l'intérieur de la plante)	-Laugtenberg <i>et al.</i> , (2002) -Somers <i>et al.</i> , (2004)
Biopesticides	Micro-organisme améliorant la croissance des plantes par le contrôle des agents phytopathogènes, principalement par la production des antibiotiques et des métabolites antifongiques	-Production des antibiotiques (sidérophores, HCN, métabolites antifongiques) -production des enzymes qui dégradent les parois cellulaires des champignons. -Compétitivité à l'encontre des agents pathogènes. Résistance systémique acquise et induite.	-Vessey (2003). -Somers <i>et al.</i> , (2004). -Chandler <i>et al.</i> , (2008).

1. Généralités sur les *Pseudomonas* spp. Fluorescents :

L'action des bactéries du genre *Pseudomonas* varie selon les espèces et l'hôte. Certaines espèces sont pathogènes pour l'homme, les animaux (Nishimori *et al.*, 2000) et les plantes (Akkermans *et al.*, 1996 ; Munsch *et al.*, 2002) alors que d'autres sont en revanche utiles. Parmi les espèces utiles, certaines exercent des effets stimulants pour la croissance des plantes. D'autres pourraient être utilisées comme fertilisants des sols puisqu'elles décomposent la matière organique (Nielsen *et al.*, 1998).

1.1. Caractéristiques des *Pseudomonas* spp. Fluorescents :

Les *Pseudomonas* sont parmi les bactéries les plus importantes dans la rhizosphère (Misko et Germida, 2002). Le genre *Pseudomonas* est découvert en (1894) par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, ordre des Pseudomonales, famille Pseudomonadaceae (Palleroni, 1986 ; Moore *et al.*, 2006).

Au sein de ce groupe, les espèces saprophytes à cytochrome oxydase positive telles que *P.chlororaphis*, *P.fluorescens* et *P.putida* se rencontrent à une densité élevée dans des biotopes assez viables (Schroth *et al.*, 1992). Les espèces *P.fluorescens* *P.putida* sont prédominantes et peuvent constituer plus de 60% la microflore bactérienne.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents se caractérisent par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores appelés Pyoverdines (Meyer et Abdallah, 1978), présentant un groupe chromophore jaune-vert fluorescents sous rayonnement ultra-violet (Palleroni, 1984. 1992).

Les *Pseudomonas fluorescens* sont des bacilles Gram négatifs typiques à de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long, chimio-hétérotrophes mobiles avec un flagelle polaire et sont regroupés au sein d'un même groupe d'homologie asporulées (Bell Perkins et Lynch, 2002) et elles apparaissent dans la plupart du temps isolés ou diplobacille (Bossis *et al.*, 2000).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents saprophytes possèdent tous une cytochrome oxydase c ayant un maximum d'absorption caractéristique à 552/554 nm, qui peut être mise en évidence par l'oxalate de N, N-diméthyl-paraphénylène-diainine (Lelliot *et al.*, 1966). Elles sont aussi catalase positive, mésophile chimio-organotrophe puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone.

Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, la cellulose (Palleroni, 1984).

De nombreux isolats de *P.fluorescens* et *P.putida* ont été cités en exemple comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes (Campbell *et al.*, 1995 ; Latour *et al.*, 1996).

En raison de leur capacité de dégrader des composés xénobiotiques comme les hydrocarbures aromatiques et leurs dérivés (Bouchez *et al.*, 1995 ; Johnsen *et al.*, 1996 ; Andersen *et al.*, 2000) ou les chlorates (Wolterink *et al.*, 2002) ainsi que les nitrates (Campbell *et al.*, 1995), elles pourraient intervenir dans les processus de décontamination des sols et de biodépollution des milieux aquatiques.

1.2. Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. Fluorescents :

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol racine. En effet, le rhizoplant et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant (Curl, 1982).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents ce sont d'excellents compétiteurs *vis-à-vis* de la microflore fongique et bactérienne du sol par leur temps de génération *in situ* relativement court (Garbaye, 1994), leur capacité à utiliser les exsudats de plantes comme nutriments (Lugtenberg *et al.*, 2002) et à chélater les ions ferriques (Garbaye, 1994).

La finalité de la bactériation est d'augmenter le rendement des cultures. Seules certaines souches semblent présenter cette capacité (Weller, 1988) (Figure 01).

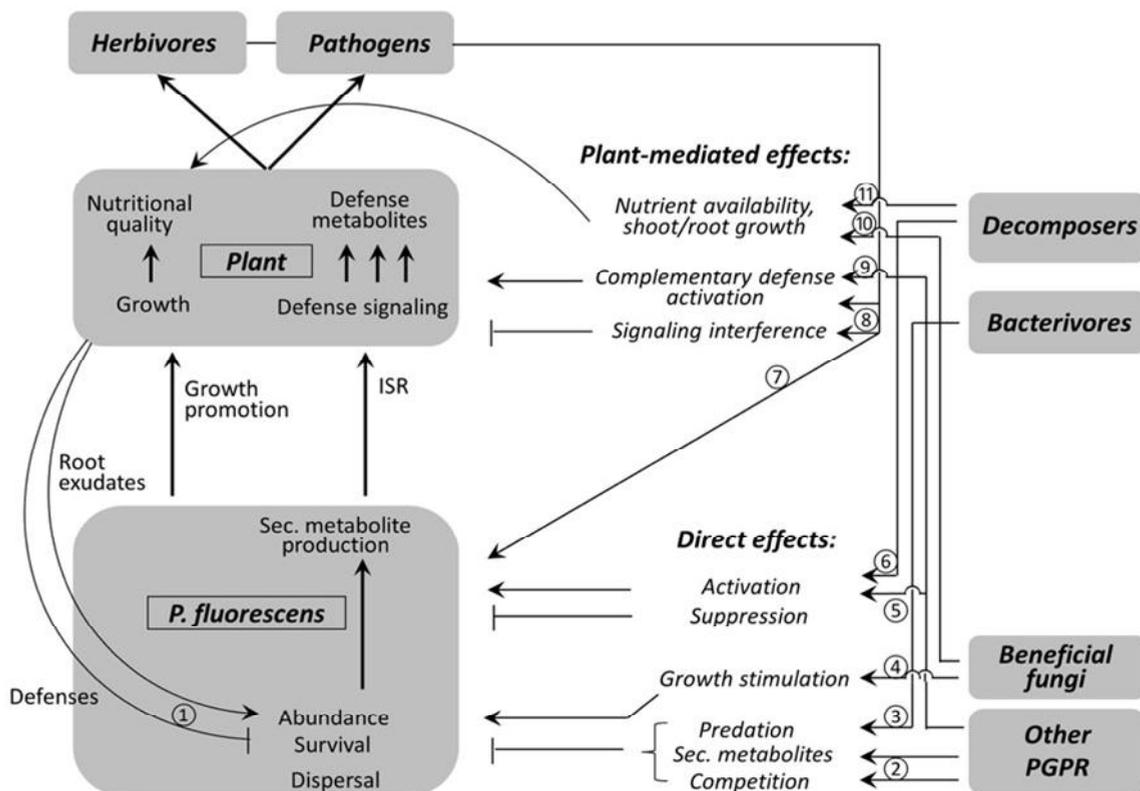


Figure 01 : Schéma simplifié représente les effets directs et indirecte rhizobactéries exemple illustré des *Pseudomonas* spp. Fuorescents (Hol *et al.*, 2013).

1.2.1. Stimulation de la croissance des végétaux :

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents saprophyte sont les habitants type des sols argileux et la rhizosphère des plantes et sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth *et al.*, 1992) (Tableau 02).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents colonisent efficacement la spermosphère et peuvent assurer une bioprotection des semence avant et pendant leur germination (Digat, 1992 ; Kloepper *et al.*, 1986).

Il existe cinq catégories des régulateurs de la croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir *et al.*, 2004). L'acide indole-3-acétique est la phytohormone la plus répandue, il joue un rôle très important dans l'élongation des racines est dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen *et al.*, 2007).

Pour les cytokines et les gibbérellines sont impliquées dans la modification de la morphologie des plants et dans la stimulation de développement de la partie aérienne (Van Loon, 2007). Ces régulateurs élicitent les réactions de défenses des espèces végétales, de par leur forte affinité pour le fer, elles limitent la croissance saprophyte de certains microorganismes phytopathogènes (Lemanceau *et al.*, 2009).

L'acide indole acétique (AIA) est le groupe le plus important de l'auxine, il affecte à la fois la promotion de la croissance de la plante et la nodulation des racines (Taghavi *et al.*, 2009). Il est produit par un grand nombre de bactéries tels *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter cloacae* (Karnwal, 2009). Impliqué dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges et de nombreuse processus mettant en jeu la division et différenciation cellulaire (O'Gara *et al.*, 2008).

Une meilleure croissance végétale a été obtenue chez les plantes inoculées avec des *Pseudomonas* spp. grâce à la capacité d'augmenter la concentration en phosphore soluble. Ces souches solubilisent les sels de phosphates (Phosphate de calcium, d'alumine,...etc) par excrétion de phosphatases (Krasilnkoy, 1961; Berthelin *et al.*, 1991 ; Glick, 1995).

Certaines souches bactériennes, appartenant en particulier au groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents, semblent améliorer la germination des graines lorsque les conditions d'environnement sont défavorables, Kloepper *et al* (1986) ont montré que le taux de germination de graines de colza, semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation par certaines souches bactériennes.

De même Höfte *et al* (1991), ont enregistré une augmentation significative du taux de germination de semence de maïs soumises au froid après inoculation de deux souches de *Pseudomonas fluorescens*. L'une d'entre elle a de plus permis de maintenir le pourcentage de germination d'un lot de semences âgé de deux ans au même niveau que celui uniquement âgé d'un an. Ces souches sont appelé «Emergence Promoting Rhizobacteria », (Kloepper *et al.*, 1986) (Tableau 02).

Tableau 02 : Stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après inoculation de souches de *Pseudomonas* ssp. Fluorescents (Mattar, 1993).

Plante hôte	Condition Expérimentales		Augmentation (% du témoin)		Références
	Contrôlées	production	Croissance	rendement	
<i>Betva vulgaris</i>	X	X	22 à 69	21 à 77	Suslow et Schroth (1982 b)
<i>Brassica Campestris</i>	X	X	22 à 65	7 à 19	Lifshithitz <i>et al.</i> , (1987) Kloepper <i>et al.</i> , (1988)
<i>Citrus</i> sp.	X		→16		Gardner <i>et al.</i> , (1984)
<i>Cucumis sativus</i>	X		36 à 58		Van Peer et Schippers (1989)
Espèces florales	X		18 à 41		Yeun et Schorth (1986)
<i>Lactuca sativa</i>	X X		38 à 86 20 à 37		Van Peer et Schippers (1989) Digat <i>et al.</i> , (1990)
<i>Lycopersicon esculentum</i>	X X		25 à 93 26 à 30		Van Peer et Schippers (1989) Digat <i>et al.</i> , (1988)
<i>Malus</i> sp. Plantules Porte –greffe Fruits	X X	X X	23 à 40 2 à 121	10	Caesar et Burr (1987) Digat <i>et al.</i> , (1988)
<i>Oryza sativa</i>		X		3 à 160	Saktivel et Gnanamanikam(1987)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	X		4 à 28		Lemanceau ey Samson (1983)
<i>Raphanus sativus</i>	X X X	X X X	83 à 320 7 à 367	→ 567 → 200 10 à 11 2 à 24	Klopper et Schroth (1978) Bakker <i>et al.</i> , (1987) Bakker <i>et al.</i> , (1986) Burr <i>et al.</i> , (1978)
<i>Solanum tuberosum</i>	X X	X X X	→ 550 47 à 500	10 à 15 1 à 17 17 à 37	Geels et Schippers (1983) Geels <i>et al.</i> , (1986) Kloepper <i>et al.</i> , (1980c) Xu et Gross (1986b)
<i>Triticum</i> sp.		X		2 à 26	Weller et Cook (1986)

1.2.2. Induction de la résistance chez les plantes :

Les PGPR sont capables de réduire une maladie à travers la stimulation de mécanismes de défense inductibles chez la plante (Van Loon *et al.*, 1998). Ce phénomène appelé « résistance systémique induite » (ISR) a été mis en évidence chez plusieurs plantes pour lutter contre une gamme relativement large de pathogènes fongiques, bactériens ou viraux (Latour, 2002).

L'ISR diminue significativement l'impacte de maladie causées par des champignons racinaire (*Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermatum*) ou aériens (*Botrytis cinerea*, *Alternaria brassicicola*) par des bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris*) des virus (*Tobacco mosaic virus*, *tomato mottle virus*) et par certains nématodes (Ongena *et al.*, 2006).

L'application combinée d'une souche particulière de *Pseudomonas* sur les graines, les racines, le sol et sur les feuilles a augmenté la durabilité de l'ISR chez le riz contre la maladie causée par *Rhizoctonia solani* (Nandakumaret *et al.* 2001).

L'ISR peut être divisée en trois étapes principales qui sont la perception par la plante des molécules bactériennes responsables de l'élicitation de l'ISR (Figure 02) ; la transmission du signal nécessaire à la systémisation du phénomène chez la plante ; la mise en alerte (priming) de la plante au niveau systémique, qui dans la plupart des cas n'est pas accompagnée de grandes modifications de l'activité transcriptionnelle avant l'attaque du pathogène. L'expression du ou des mécanisme (s) de défense *sensu stricto* induits, permettant de limiter voire d'inhiber la pénétration du pathogène dans les tissus de l'hôte végétal (Ongena & Thonart, 2006 ; Jourdan *et al.*, 2008).

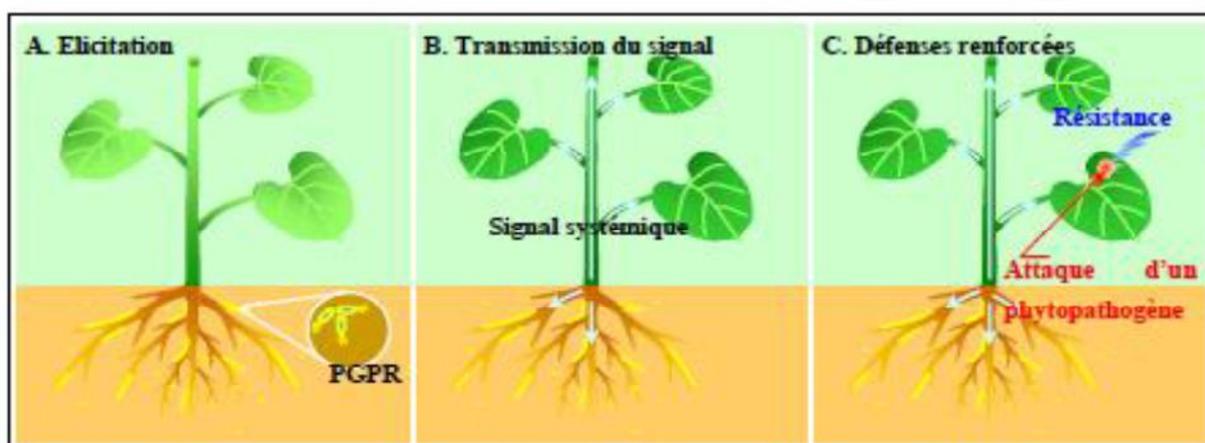


Figure 02 : Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries. Les trois étapes principales sont : (A) : L'élicitation ; (B) : La transmission du signal ; (C) : L'expression du ou des mécanisme (s) de défense (Ongena & Thonart., 2006).

1.2.3. Compétition :

La colonisation des systèmes racinaire par les *Pseudomonas* spp. Fluorescents implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption sur les racines et enfin une compétition pour les substances nutritifs (Jacques *et al.*, 1993).

Les *Pseudomonas* se caractérisent par une capacité élevée à extraire le fer du sol pour leurs besoins nutritionnels (Latour *et al.*, 1990, Whipps, 2001). Dans des conditions de carence en fer, ces bactéries synthétisent les sidérophores (Pyoverdine et pyochiline), qui chélatent le fer ; ces molécules sont aussi nécessaires à la croissance. Cette chélation réduit la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieux *et al.*, 2003).

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997; Reyes *et al.*, 2004).

1.2.4. Antibiose :

L'antibiose par définition est l'inhibition de l'agent phytopathogène par la production des métabolites secondaires par un autre micro-organisme. Ces métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne, la physiologie cellulaire et/ou la sporulation des agents phytopathogènes (Cook *et al.*, 1995 ; Lepoivre, 2003).

Une gamme très large d'antibiotique produit par les PGPR a été découverte entre autres celle produites par le genre *Pseudomonas* telle que l'amphisine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), le cyanure d'hydrogène(HCN), l'oomycine A, le phénazine, le pyoluteorine, le pyrrolinitrine, la tensine, tropolone, et les lipopepticides cycliques (Chin-A-Woeng *et al.*, 2003) (Tableau 02).

Certaines souches de PGPR ont la capacité de dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels β -1,3-glucanase, exo- et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001).

1.3. Mécanismes d'actions :

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents associés aux plantes incluent des souches pathogènes et des souches bénéfiques. Les souches influençant avantageusement l'hôte végétal sont désignées sous le terme «Plant-probiotic fluorescent *Pseudomonas* spp.» (Höfte et Altier, 2010) (Tableau 03).

Différents mécanismes ont été avancés pour expliquer les effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Ces bactéries s'attachent d'abord à la racine et sont donc distribuées de façon passive. Puis elles se multiplient et colonisent de façon active la rhizosphère (Lemanceau, 1992, Brimecombe *et al.*, 2007) (Figure 03).

Les exsudats racinaires, et en particulier les sucres et les acides aminés, attirent les bactéries par chimiotactisme à la surface des racines. Ils stimulent notamment la mobilité flagellée des bactéries, ce qui permet à ces dernières de coloniser la rhizosphère (de Weert *et al.*, 2002).

L'adsorption des bactéries à la racine résulte d'interactions physico-chimiques et biologiques entre les bactéries et la racine (Lemanceau, 1992). Cette seule colonisation peut entraîner une occupation de sites suffisantes pour empêcher la croissance des pathogènes (Kamilova *et al.*, 2005).

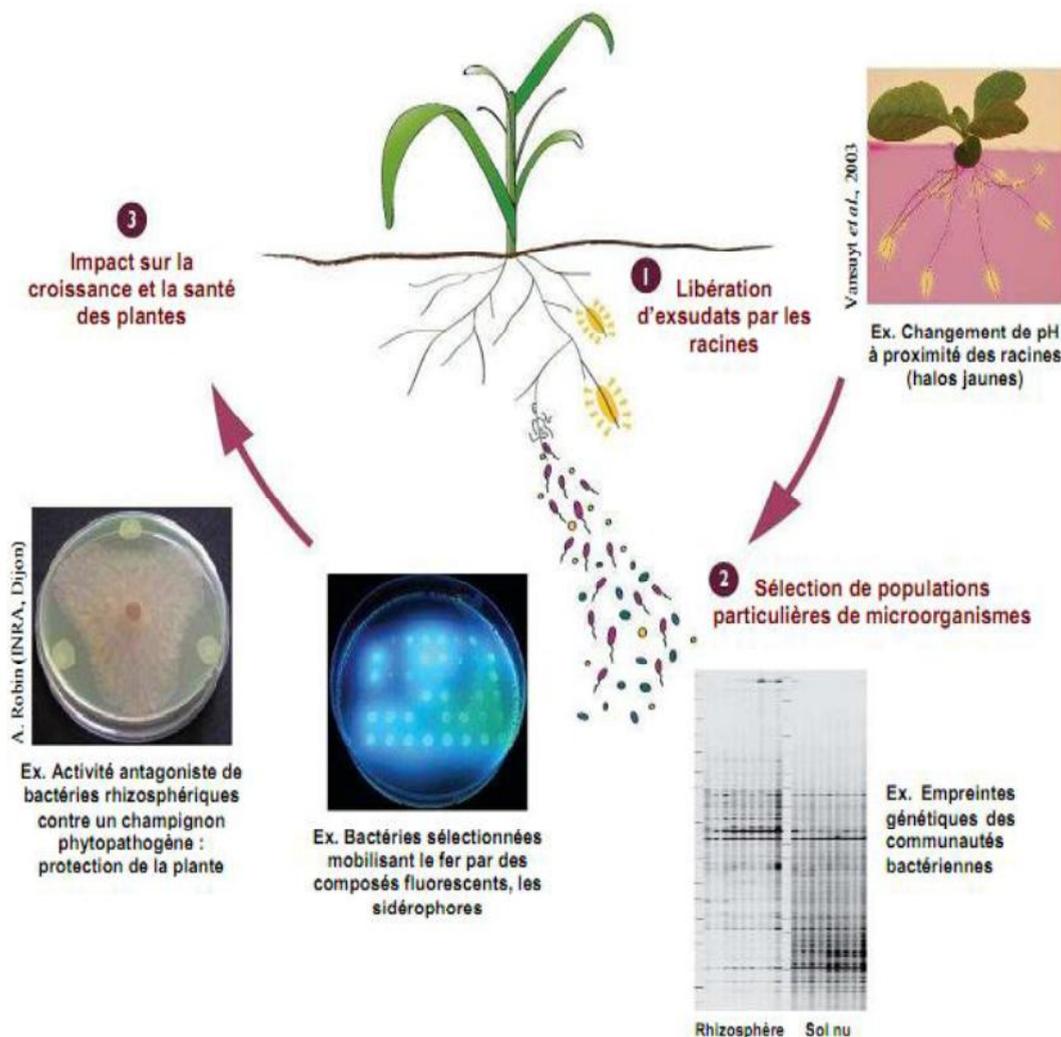


Figure 03 : Représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère (Lemanceau *et al.*, 2006).

Tableau 03 : Exemples de microorganismes inscrits en tant que biopesticides à l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (Fravel, 2005).

Agent de biocontrôle	Année D'enregistrement	Organisation ou Maladie ciblée	Cultures concernées
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 21 ,882	2004	<i>Aspergillus flavus</i>	Arachide
<i>Bacillus pumilus</i> Strain GB 34	2002	<i>Rhizocotonia, fusarium</i>	Soja
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A506	1992	Forst domge , fire blight , bunch rot	Fruits, amande, pomme de terre et tomate
<i>Pseudomonas syringae</i> Souche ESC-10	1995	Maladies après la récolte	Pomme, poire, citron, l'orange ou pamplemousse
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> Souche 63-28	2001	<i>Pythium, Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum</i>	Légumes et plantes ornementales en serre
<i>Bacillus subtilis</i> GBO3	1992	<i>Rhizocotonia fusarium Aspergillus</i> et d'autres	Coton , arachides, Soja, blé, Orge, Pois et haricots

1.3.1. Production des sidérophores :

Les sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle est de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes (Neilands, 1995).

Les sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation d'ions ferriques par des microorganismes aérobies, tels que les bactéries, certains champignons mais aussi organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) en réponse à des conditions de carence en fer (Ratledge et Dover, 2000).

Après sécrétion par la bactérie, les sidérophores chélatent avec une haute affinité le fer dans l'environnement extracellulaire, et le transportent via des voies d'assimilation spécifiques (Krewulak et Vogel, 2008).

Les pyoverdines sont des sidérophores complexes, produites par les *Pseudomonas fluorescens* (Ravel & Cornelis, 2003 ; Cornelis *et al.*, 2008). Elles sont composées par un chromophore dihydroxyquinoline fluorescent associé à un peptide de longueur et de composition variable (Ravel et Cornelis, 2003).

Les pyoverdines des *Pseudomonas fluorescens* ont une forte affinité pour le Fe^{3+} elles chélatent et transportant ces ions ferriques à travers la membrane bactérienne externe via un transporteur (Meyer J.M. and Abdallah, 1978). Par la suite, le Fe^{3+} est réduit en Fe^{2+} dans le cytoplasme (Simeoni *et al.*, 1987).

Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux (Guerinot, 1994). Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires. L'importance des sidérophores est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crosa et Walsh, 2010).

1.3.2. Production d'antibiotiques :

C'est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par PGPR pour limiter l'invasion de pathogène dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène *via* la production de métabolites aux propriétés antifongique et/ou antibiotique (Thomashow *et al.*, 1997).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variées d'antibiotiques avec un large spectre d'action, sur des agents fongique telluriques. Parmi ces antibiotiques les pyolutéorine (PLT), les phenazines (pcA), les pyrrolinitrines (Prn), le 2,4-diacétyl-phloroglucinol (DAPG), les tropolones et l'oomycine (Keel *et al.*, 1991

Le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) produit par *P. fluorescens* CHAO et Q2-87 est essentiel pour induire des réactions de défense chez *Arabidopsis* et chez la tomate (Weller *et al.* 2004).

La production des antibiotiques est un critère très important de compétitivité des microorganismes aux autres populations microbiennes (Compant *et al.*, 2005). C'est un critère de performance pour la promotion indirecte de la croissance végétale. Il consiste à contrecarrer les agents phytopathogènes d'origine tellurique (Maurhofer *et al.*, 1992).

Les incohérences dans la production des antibiotiques sont attribuées à la participation des facteurs biotiques et abiotiques. Ces facteurs comprennent : les facteurs physiques (pH, la température et l'humidité du sol, éléments nutritifs), l'acétylation, la variation de la sensibilité, la concentration cellulaire et la phase de croissance (Fernando *et al.*, 2005a).

1.3.3. Production de Cyanure d'hydrogène (HCN) :

La production de HCN par les *Pseudomonas* est impliquée dans la suppression d'agents pathogènes comme *Thielaviopsis basicola*, *Septoria tritici* et *Puccinia recondita* (Ramette *et al.*, 2003).

La HCN synthase est une flavoprotéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de CO₂ à partir de la glycine (Ramette *et al.* 2003).

Une fonction écologique de la synthèse de cyanure d'hydrogène a été mise en évidence chez la souche CHAO. Chez cette dernière, la production de HCN compte pour une grande partie du pouvoir inhibiteur envers *Thiethylalopsis basicola* (Laville *et al.*, 1998). Au niveau de l'adaptation à la rhizosphère, la production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments. Par exemple, le HCN cause une augmentation de l'exudation de nutriments par les tissus de la plante (Ellis *et al.*, 2000). De plus, en culture *in vitro*, la production d'HCN peut même inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes *via* la phase gazeuse (Blummer *et al.*, 2000).

1.3.4. Solubilisation du phosphore :

Le phosphore est considéré comme élément minéral essentiel à la nutrition des plantes, il se trouve avec de faibles niveaux sous une forme disponible dans différents sols agricoles (Martínez-Viveros *et al.*, 2010).

La capacité de quelques micro-organismes à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important pour les PGPR. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent biofertilisant dans l'agriculture (Sharma *et al.*, 2007).

Diverses bactéries ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase, ou le phosphore inorganique par la libération d'acides organiques, dont les plus puissants appartiennent aux genres *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia* et *Pseudomonas* (Lugtenberg *et al.*, 2013).

Le principal mécanisme de solubilisation des phosphates est la production d'acides organiques. Les acides gluconiques et 2-cétogluconique sont les plus fréquemment rencontrés. Les acides glycolique, oxalique, malonique et succinique, ont également été identifiés. Certaines souches sont capables de produire en plus des mélanges d'acides lactiques, isovalérique, isobutyrique et acétique. La libération de ces acides mobilisant le phosphore par l'intermédiaire d'interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate conduisent à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement et par conséquent la libération du phosphate sous forme ionique. La libération des groupements phosphates liés à la matière organique est assurée par l'action des phosphatases (Kumar et Narula, 1999; Gyaneshwar *et al.*, 2002).

Microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (mono et dibasiques) (Mackey and Paytan, 2009).

Chapitre II

Généralités sur le cèdre

II. Généralité sur le cèdre :

Le cèdre de l'Atlas a pour noms berbères Inguel ou Avaoual et pour noms arabes, Elarz ou Elmedad. Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une essence des montagnes d'Afrique du Nord (Algérie et Maroc) qui suscite un intérêt grandissant pour ses nombreuses qualités forestières et ornementale : faible inflammabilité, rusticité, richesse écologique, bois de qualité supérieure à celle des pins méditerranéens, port remarquable et esthétique, attrait touristique en forêt de plaisance, etc (Toth, 1980 ; Barriteau et Ferrandes, 1990).

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une espèce endémique de l'Afrique du Nord. C'est une essence qui a toujours suscité un intérêt important en raison de ses nombreuses qualités forestières comme le maintien d'un équilibre biologique, sa faible inflammabilité, sa production de bois de qualité, un port remarquable et esthétique... (Lanier, 1976 ; Toth, 1978 ; M'hirit, 1982 ; Ferrandes, 1986), une croissance juvénile pouvant être rapide et une tolérance face aux stress climatiques (Boudy, 1950).

1. Taxonomie :

Du point de vue taxonomique, botaniques et dendrologiques, plusieurs auteurs ont décrit le cèdre (Maire, 1952 ; Quezel et Santa, 1962 ; Derridj, 1990) comme suivants :

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Gymnospermes.

Classe : Vectrices.

Ordre : Coniférales.

Famille : Pinacées.

Sous-famille : Abiétées.

Tribu : Laricées.

Genre : *Cedrus*.

Espèce : *Cedrus atlantica* Manetti.

C'est l'une des quatre espèces du genre *Cedrus*. Les autres espèces sont: *C. libani* (cèdre du Liban); *C. brevifolia* (cèdre de Chypre) espèces de région méditerranéenne et *C.deodara* espèce himalayenne.

2. Caractéristiques botanique de cèdre :

Le résumé des données botanique de l'espèce *Cedrus atlantica* Mantti est représenté dans le Tableau 04.

	<i>Cedrus atlantica</i> Mantti
L'arbre	<ul style="list-style-type: none"> -le cèdre de l'atlas est un arbre de haute taille, dépassent souvent 50m et ayant en moyenne 40m dans les peuplements soit anciens en sol profond (Figure 04, a). -le diamètre du tronc prend considérables peuvent atteindre 1m (Maire, 1952). -Le port est droit et pyramidale, il prend une forme tubulaire en vieillissant. -le tronc est monopodial, orthrope, à croissance rythmique (Barthelemy <i>et al.</i>, 1989). -le système racinaire est développé, mais rarement pivotant et la stabilité de l'arbre est assurée (Boudy, 1952, <i>in</i> krouchi, 2010).
L'écorce	Le tronc recouvre d'une écorce lisse de couleur grise bientôt remplacé par un rhytidome brun-noir épais, fissuré et écailleux (Maire, 1952).
Feuille	Formes raides et fines, peu aiguës et de couleur verte ou glauque. Généralement sont arquées et groupées en rosettes denses de 30 à 40 aiguilles sur des rameaux courts (M'hirt, 2006).
Les organes reproducteurs	<ul style="list-style-type: none"> -le cèdre une espèce monoïque. -organes femelles : ce sont des inflorescences qui se développent progressivement en cannettes puis en cônes (Figure 04, b). Organes mâles ce sont des chatons de forme cylindro-conique (Figure 04, c) -le grain de pollen en vue de profil, a un corps long de 57-24µm et large de 47µm, (Derridj, 1990) (Figure 05).
Longévité	elle dépasse certainement 600 à 700 ans, on lui attribue 1000ans et plus. Il peut donner des graines fertiles jusqu'à un âge avancé (Boudy, 1952 <i>in</i> Chbouki, 1994).



Figure 04 : Représente les différentes parties du cèdre de l'Atlas. a: l'arbre complète (Original., 2017) ; b: cône (wikipedia, 2017) ; c : chaton (Futura-Sciences.net) ; d : la graine (Artgraine.net).

3. Aire de répartition naturelle du genre *Cedrus* :

3.1. Répartition dans le monde :

Il y a quatre espèces qui forment trois blocs géographiquement différents dans les régions suivantes : Afrique du nord, Asie mineure, Himalaya (Boudy, 1952 ; M'hirt, 1982 ; Toth, 1982-1984) (Figure 06).

Le premier bloc représenté par le *Cedrus atlantica* Mantti : il concerne l'Atlas marocain avec 130.000ha sur deux zones d'altitude différente de 1300 à 2400 m et l'Atlas algérien avec 25.000ha avec des altitudes comprises entre 1200 à 2100m.

Le deuxième bloc se divise en deux parties occupées respectivement par :

- Le *Cedrus libanais*: il est au Liban à 1800 m où il occupe de petites zones et en Turquie où son aire est très vaste entre 1500 et 2000 m d'altitude.
- Le *Cedrus brevifolia*: dans l'île de Chypre sur une surface restreinte.

Le troisième bloc avec le *Cedrus deodora* représente les grands massifs de l'Inde et de l'Afghanistan avec vastes étendues sur le nord –Ouest de l'Himalaya entre 1350 et 3500 m d'altitude.

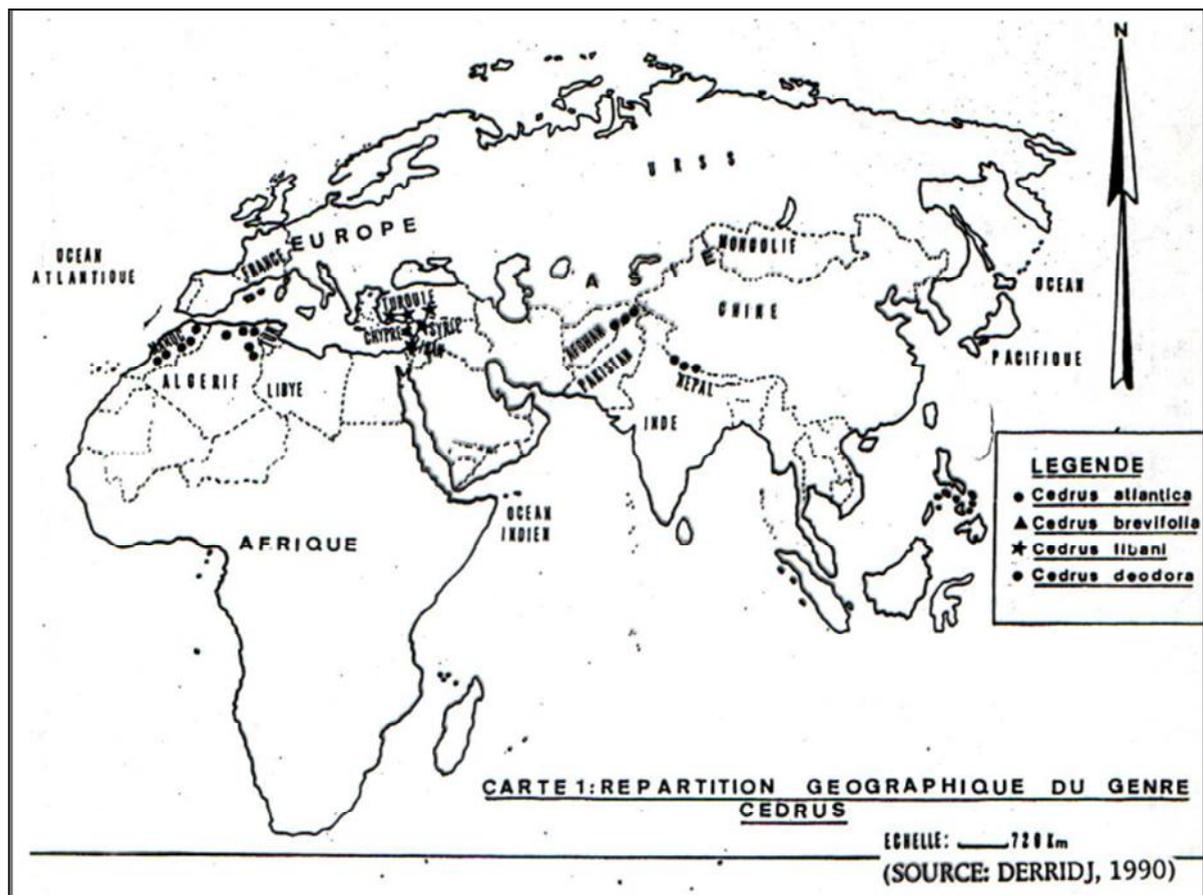


Figure 06 : Aire de répartition de genre cèdre dans le monde selon (Derridj, 1990).

3.2. Répartition géographique du cèdre de l'Atlas en Algérie :

Elles sont morcelées en plusieurs îlots plus ou moins importants, qui couvrent une superficie globale d'environ 30 000 ha (Boudy, 1955) ou 27 000 ha (Benabid, 1994). Ces *cédraies* sont réparties dans des îlots plus ou moins importants observés d'Ouest en Est (Boudy, 1950 ; Emberger, 1952): Ouarsenis (100ha), Theniet el Had (1000ha), Atlas de Blida (ou Mitidjien) (1000 ha), Djurdjura (2000 ha), Babors (800 ha), Monts du Hodna (8000 ha), Belezma (8100 ha) et Aurès (6000 ha). Les surfaces avancées par Abdessamed (1981) pour certaines cédraies de l'Atlas tellien sont contradictoires (Ouarsenis et Théniet El Had, 2000 ha, Babor et Tababor 1300 ha) (Figure 07).

Derridj, (1990) a adapté la division biogéographique de (Gaussen) 1967 qui distingue deux ensembles : un ensemble septentrional représenté par les cédraies de l'atlas tellien (cédraies humide) et un ensemble méridional représenté par les cédraies de l'atlas saharien (cédraies sèche).

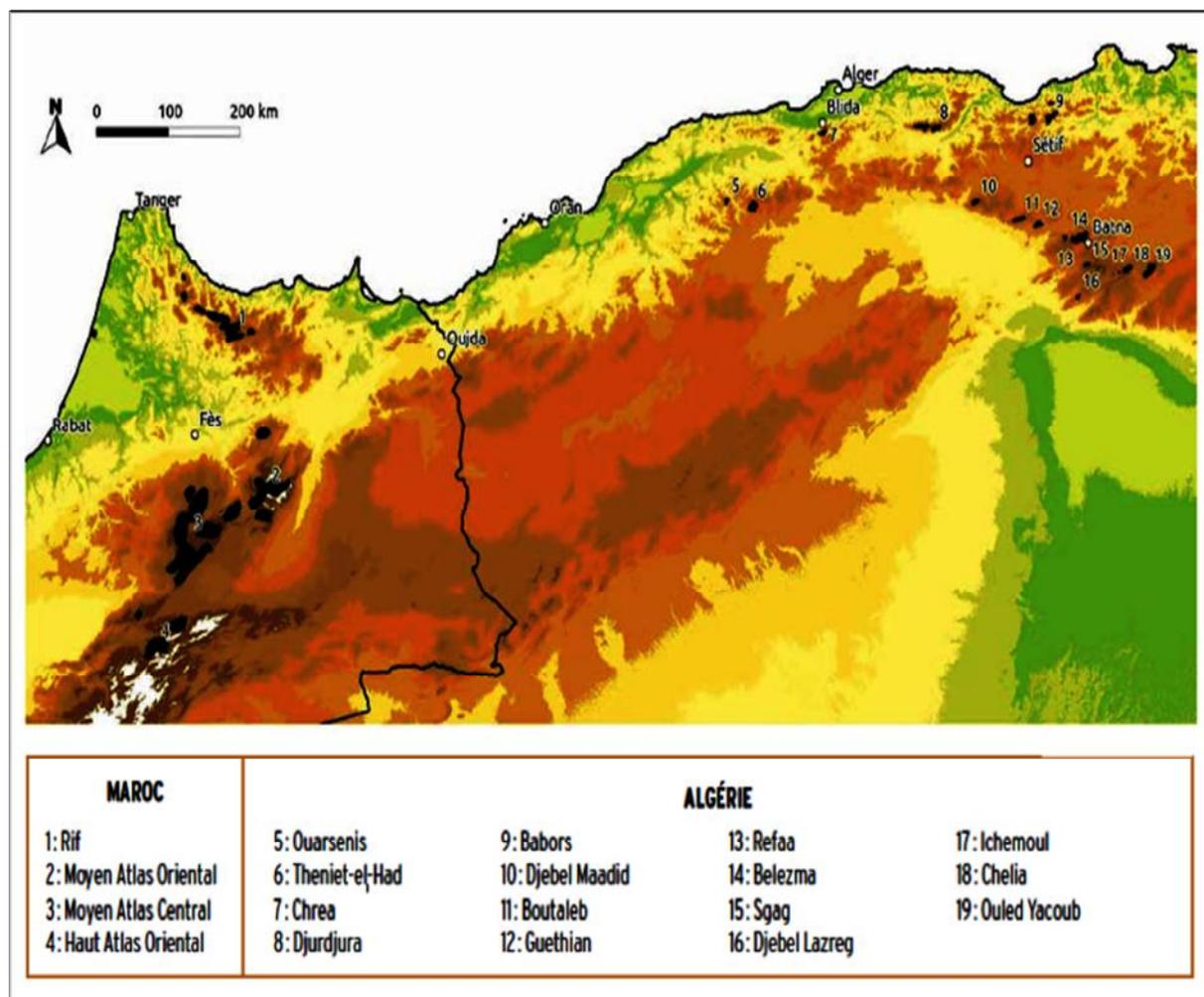


Figure 07 : Aire naturelle du cèdre de l'Atlas (en noir) sur fond altimétrique (Courbet et al. 2012) (les Monts du Hodna regroupent les sites 10, 11 et 12, les monts du Belezma ceux du 13 et 14, les sites 15 à 19 sont ceux du massif de l'Aurès).

4. Ennemis du cèdre de l'Atlas

• Les insectes

Le cèdre de l'Atlas est sujet aux attaques d'insectes ravageurs, dont un bon nombre est capable de coloniser plusieurs hôtes (Fabre *et al.*, 1999). On peut les classer en trois catégories: les insectes phyllophages, les insectes xylophages et les insectes des fleurs et des graines (Mouna, 1994) :

Les insectes phyllophages s'attaquent aux aiguilles du cèdre de l'Atlas provoquant de fortes défoliations (El Yousfi, 1994 ; Gachi, 1994 ; Fabre *et al.*, 1999). Nous citons selon (El Yousfi, 1989 ; Fabre *et al.*, 1999) :

La processionnaire du cèdre (*Thaumetopoea bonjeani*).

La processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa*) (Figure 08).

Le puceron du cèdre (*Cedrobium laportei*).

La tordeuse du cèdre du Liban (*Acleris undulana*) et les tordeuses d'Algérie *Epinotia algeriensis* et *Dichelia numidicola*.



Figure 08 : Nid de *Thaumetopoea pityocampa*, C.Pallard à gauche et la tordeuse des bourgeons de l'épinette à droite.

Les insectes xylophages :

Ce sont des ravageurs redoutables capables de creuser des galeries impressionnantes dans les parties du bois plus ou moins tendre, causant d'importants dégâts qui peuvent entraîner des déséquilibres irréversibles se traduisant par la mort des arbres (Fabre, 1976).

Des Scolytidae, *Cryphalus piceae* est l'une des espèces les plus caractéristiques, les plus abondantes et les plus nuisibles dans toutes les cédraies de l'Atlas (Benhalima, 2006).

Des Cerambycidae, *Callidium cedri* et *Semanotus russica algerica*, attaquent le cèdre en cours de dépérissement (Fabre *et al.*, 1999 ; Benhalima, 2006) (Figure 09).



Figure 09 : Cèdres isolément dépéris à Tikjda (Djurdjura) (Deridj, 2011).

Insectes des fleurs et des graines :

Selon Mouna (1994), les insectes des fleurs et des grains sont classés sur trois : Lépidoptères, *Dioryctria peyerimhoffi* et *D. peltier*, ensuite le deuxième les Diptère *Chlorophidae*, *Hapleginella laevifrons*, sur les cônes et les Hyménoptères des cônes, en Algérie à Chréa dans l'Atlas blidéen et dans le massif de l'Aurès.

• Les champignons :

Parmi les champignons qui causent des dégâts redoutables au cèdre, on cite :

- *Polyporis officinalis*: Cause des altérations très graves au bois.
- *Armillaria mellea*: Champignon qui attaque surtout les racines et le tronc (Boudy, 1952).

• Le bétail :

Surtout les bovins et les caprins lâchés en liberté dans la forêt causent, de terribles dégâts en piétinant et compactant le sol et en broutant les parties terminales des jeunes pousses (Belkhiri, 1993).

• Action anthropique :

Par son intervention directe où indirecte sur la forêt, peut agir négativement et causer des dégâts néfastes; Abdessamade (1981), indique que le facteur homme reste, sans conteste, l'élément déterminant de la régression du tapis végétal dans les Aurès (Figure 10).



Figure 10 : Parc national de Djurdjura malgré son statut d'aire protégée reçoit une décharge (Derridj, 2011).

- **Les incendies**

Sont infiniment moins fréquents et moins graves que dans les Yvelines et n'entraînent jamais la destruction complète des peuplements (Boudy, 1950 ; Toth, 1970).

5. Intérêts du cèdre :

Le cèdre, plus particulièrement *Cedrus atlantica* Manetti, a été utilisé depuis longtemps dans quelques pays *circum-méditerranéens*, d'abord comme espèce ornementale. Ensuite comme espèce de reboisement notamment que le cèdre est une essence capable de remplir plusieurs rôles à la fois, et ceci malgré les conditions écologiques souvent difficiles et la surface restreinte qu'il occupe (Toth, 1980).

L'importance du cèdre découle de l'intérêt écologique et socioéconomique de l'espèce elle-même et de ses qualités qui lui permettent d'occuper de plus en plus une place primordiale dans la forêt méditerranéenne. En effet, la faculté d'adaptation du cèdre dans des conditions difficiles, résistance aux incendies, la qualité de son bois, la valeur esthétique de ses peuplements, en font l'élément de base pour la reconstitution et la valorisation des forêts improductives ou dégradées dans la région méditerranéenne (M'hirt, 1994).

Le cèdre est inflammable, il est donc sujet à la propagation des incendies. A l'état étudié, par son système racinaire étendue et ramifiés ainsi par son large houppier, il réduit l'impact des violentes précipitations, il assure une protection efficace contre l'érosion (M'hirt, 1994).

Du point de vue économique, le cèdre de l'Atlas est la seule essence forestière de bois d'œuvre, de menuiserie et d'ébénisterie de luxe. M'hirt (1994) note aussi, que le cèdre fournissent des produits très utiles tels que, le bois, le goudron, la résine et le tannin. Il abrite aussi un pâturage important et constitue un apport en unités fourragères pendant les périodes difficiles.

L'intérêt accordé au cèdre au niveau international en raison de ses qualités et son rôle socio-écologique et économique conduit à la mise en place d'un réseau international de recherche sur le cèdre depuis 1987. Le programme de ce réseau est orienté selon quatre axes : amélioration, génétique, sylviculture et production, écophysiologie, protection du cèdre (M'hirt, 1994).

Chapitre III

Généralités sur Le fusariose vasculaire

III. Généralités sur Le fusariose vasculaire :

Genre *Fusarium*, l'espèce *Fusarium oxysporum* est la plus répandue dans le monde, elle peut être retrouvée dans la plupart des sols: arctiques (Kommedahl, *et al.*, 1988), tropicales, désertiques (Mandeel *et al.*, 1995), cultivés ou non. Elle peut également être dispersée par les insectes (Gillespie et Menzies, 1993) et récupérée à partir d'algues marines (Granchinho *et al.*, 2002).

F.oxysporum est également l'une des espèces les plus importantes du point de vue économique compte tenu de ses nombreux hôtes et du niveau des dégâts qu'elle peut entraîner. En effet, les formes spéciales de *F.oxysporum* sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures racinaires (Nelson *et al.*, 1983).

1. Fusariose vasculaire de palmier dattier :

La fusariose vasculaire du palmier dattier appelée communément le bayoud, causée par *F.oxysporum f. sp. albedinis* et une tracheomycose qui continue à sévir dans les palmerais algérienne provoquant la disparition de milliers de palmiers chaque année (Figure 11-12).

Les variétés du Palmier Dattier résistantes à cette maladie sont très rares. [Parmi les 223 variétés recensées au Maroc, seules six sont résistantes au Bayoud, dont il semble qu'il n'y ait pas de relations obligatoires entre le caractère résistance et la qualité des dattes (Saaïdi, 1979).

En Algérie, une seule variété a été reconnue résistante, la *Takerboucht*.



Figure 11 : Premiers symptômes du bayoud.



Figure 12 : stade final du bayoud.

Le palmier peut mourir 6 mois à 2 ans après l'apparition des premiers symptômes, en fonction du cultivar et des conditions de plantation (Bulit *et al.*, 1967; Louvet *et al.*, 1970; Djerbi, 1982).

La désinfection du sol est très coûteuse et difficile. La lutte chimique n'est envisageable que si on découvre précocement le point de départ d'une nouvelle infection dans une région saine. Dans ce cas, on peut traiter le sol avec du bromure de méthyle (Frederix & Den Brader, 1989). Des sols résistants au bayoud ont été identifiés au Maroc et en Algérie ; les mécanismes de la résistance de ces sols peuvent être de type biotique ou abiotique.

2. Fusariose vasculaire sur la tomate :

La tomate (*Lycopersicon esculentum*) est sujette à deux maladies fusariennes :

-La flétrissure fusarienne classique (*Fusarium wilt*) causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder et Hansen.

-La pourriture des racines et du collet (*Fusarium crown and root rot*) causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis et Shoemaker (Katan *et al.*, 1997).

Ces derniers sont des champignons telluriques dotés d'une spécificité stricte d'hôtes. Ils sont capables d'envahir l'ensemble du système vasculaire de la plante provoquant ainsi son obstruction et par la suite l'affaiblissement de la plante qui finit par mourir (Snissi *et al.*, 2006).

La flétrissure fusarienne est une maladie dévastatrice pour les cultures de tomate partout dans le monde, elle est causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Walker, 1971). Ce champignon terricole qui pénètre dans la plante par les racines envahit les tissus ligneux et provoque le jaunissement, la flétrissure puis la mort de la plante (Blancard, 1997) (Figure 13-14).



Figure 13 : Flétrissement et Jaunissement des feuilles



Figure 14 : Brunissement longitudinal de la tige

La plante atteinte développe une série de barrières mécaniques et biochimiques pour lutter contre le parasite (Beckman, 1988). Les symptômes externes de la maladie reflètent le degré de l'invasion des vaisseaux vasculaires par les filaments mycéliens (El Mahjoub, 1984). Deux substances biochimiques sont élaborées par la plante dès l'attaque du parasite, le polyphénol oxydase et Le phytoalexine (Henni, 1998).

Il n'existe actuellement aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies, les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif (Rouxel *et al.*, 1979). La méthode de prévention la plus courante est le chaulage afin de maintenir le pH entre 6,4 et 7 (Scott, 1923).

Il reste dans la lutte chimique que les fongicides les plus utilisées reste le triazole et ces dérivés qui sont des composés très actifs grâce à leur noyau qui possède une activité pharmacologique, antibactérienne et antifongique (Hamoir *et al.*, 2001).

Partie 2

Matériel et méthodes

1. Isolement et identification des *Pseudomonas* spp. Fluorescents :

1.1. Prélèvement d'échantillons :

Les prélèvements ont été effectués au mois de mars de l'année 2017 à partir de la rhizosphère du cèdre au niveau de la région de Tikjda (Bouira), les prélèvements des échantillons de sol ont été réalisés à une profondeur de 20 à 30 cm.

1.2. Isolement et purification :

L'isolement des bactéries appartenant au *Pseudomonas* du sol rhizosphériques a été effectué par la méthode de suspensions-dilutions avec trois répétitions.

La méthode consiste à récupérer 1g de sol qui sera mélangés à 100ml d'eau distillée stérile. La suspension est bien agitée ; c'est la dilution 10^{-1} . Une série de dilution est réalisée à partir de cette dernière jusqu'à avoir la dilution 10^{-6} . Ensuite, les dilutions 10^{-3} , 10^{-5} et 10^{-6} sont ensemencées sur le milieu King B (KB) (King *et al.*, 1954) (annexe N°1) coulé sur des boîtes de pétri avec deux répétitions pour chaque dilution. Les boîtes sont incubées à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 24 à 48 heures.

La purification des souches bactériennes s'effectue par un repiquage successif des isolats sur milieux King B et l'incubation se fait à une température $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Les cultures pures de souches sont conservées à 4°C .

2. Identification phénotypique des isolats bactériens :

L'identification préliminaire des espèces de *Pseudomonas* produisant le pigment fluorescents est essentiellement basée sur les caractéristiques morphologiques (caractères cultureux), la coloration de Gram (caractéristiques microscopique), ainsi que l'étude des caractéristiques physiologiques et biochimiques décrite par Holt *et al.*, (1994) et Bossis *et al.*, (2000).

2.1. Caractères cultureux :

La caractérisation morphologique des souches bactérienne a été effectuée sur milieu B de King après incubation à 28°C pendant 24 h. Elle consiste à une observation à l'œil nu des caractères cultureux tels que la forme, la couleur, l'aspect ainsi que l'élévation et les dimensions des colonies.

Également la recherche d'une diffusion d'un pigment jaune vert fluorescent dans le milieu à été effectuée après 24h à 96 h d'incubation à 25°C , ainsi que l'ensemencement de la crème bactérienne âgée de 24 h sur le milieu A de King (King *et al.*, 1954) (annexe N°1) dans les

mêmes conditions. La réponse positive se traduit par diffusion du pigment bleuâtre fluorescent dans le milieu gélosé.

2.1.1. Coloration de Gram :

La coloration de Gram, est réalisée par selon la technique classique (Hildebrand *et al*, 1988), qui consiste :

Préparation du frottis par prélèvement d'une colonie de bactérie âgé de 24 heures, puis l'étaler à l'aide d'une anse à ensemence sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique suivi par la fixation du frottis qui a été réalisé par maintenance de la lame dans un air chaud de la flamme de bec Bunsen.

On procède à la coloration par la fixation avec du violet de Gentiane, pendant une minute on effectue ensuite un lavage à l'eau courante suivi par un autre colorant Lugol pendant une minute pour la fixation. Décoloré à l'alcool pendant (30 secondes), rincer à l'eau puis recolorer le frottis avec la fuchsine pendant une minute et laisser sécher .

L'observation se fait au microscope optique avec grossissement G : 40 x100.

2.1.2. Caractérisation physiologique :

2.1.2.1. Effets de la température :

Les souches bactériennes de 24 heures ensemencées sur le milieu B de King solide en boîte de pétrie sont incubées aux températures : 4°C et 42°C pendant 24 h à 96 h.

La lecture des résultats porte sur la croissance bactérienne.

2.2. Caractérisation biochimique :

2.2.1. Galerie biochimique classique:

L'activité biochimique des bactéries fait intervenir un grand nombre de systèmes enzymatiques, synthèse ou l'absence de ces derniers étant directement dépendant du génome, il est intéressant de les considérer comme un critère d'identification et de la classification des bactéries.

2.2.1.1. Étude des dérivés de l'acide pyruvique :

Le milieu Clark et Lubs (Marchal et Bourdon, 1982) (annexe N°1), est ensemencé avec une culture bactérienne âgé de 24 h et incubée à 25°C pendant 24 h.

Ce milieu permet de mettre en évidence deux voies de dégradation :

Réaction Rouge de méthyle (RM) : c'est une réaction qui permet de mettre en évidence la transformation de l'acide pyruvique en acide formique et acide acétique. On ajoute 2 à 3

gouttes du réactif rouge de méthyle (RM), l'apparition d'un anneau rouge à la surface signifie que la réaction est positive.

Réaction Voges Proskauer (VP) : pour la recherche de l'acétoïne en ajoute pour le milieu ensemencé et incubé 0,5 ml de la solution VPI (naphtol) et 0,5 ml de la solution VP II (4N).

Si une coloration rouge violacée apparaît en surface, la bactérie transforme l'acide pyruvique en acétoïne, la réaction VP est positive (VP+).

2.2.1.2. Test mobilité :

Les souches bactériennes de 24 h sont ensemencées par piqûre centrale dans le milieu mannitol- mobilité (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1). Ce milieu est semi solide permettant de mettre en évidence la mobilité et la dégradation de Mannitol.

Après 1 à 2 jours d'incubation la transformation de la couleur au jaune signifie que la bactérie utilise le Mannitol. Les souches mobiles se disperseront à partir de la piqûre d'ensemencement créant un trouble dans le milieu.

2.2.1.3. Utilisation de l'ion citrique :

L'utilisation de citrate par les bactéries comme seule source de carbone et d'énergie est mise en évidence sur le milieu gélosé de Simmons (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1). L'ensemencement des souches est effectué sur la pente du milieu de culture. Après 2 à 3 jours d'incubation à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, l'utilisation des citrates est marquée par le virage de la couleur du milieu vers le bleu.

2.2.1.4. Hydrolyse de la gélatine :

Le tube contenant le milieu gélatine (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1), a été ensemencé avec la crème bactériennes de 24 h par une piqure au centre du culot.

Après 2 à 3 jours d'incubation à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, nous déposons les tubes 10 minutes à 6°C pour favoriser la prise de gel, si le milieu de culture est liquide, la bactérie hydrolyse la gélatine donc elle synthétise la gélatinase.

2.2.1.5. Utilisation des glucides :

Le milieu triple sugar iron (TSI) (Gardan et Luisitti., 1981) (annexe N°1) : est un milieu utilisé pour voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate, et dégradation du sucre est accompagnée d'une production d'acide.

Le milieu de départ s'il vire au rouge pas de fermentation, la bactérie est aérobie, s'il vire au jaune une fermentation s'est produite ; de l'acide a été produit, la bactérie est anaérobie facultative. Gaz formé : dû à une fermentation. Couleur noire : sulfure d'hydrogène (H_2S) a été produit.

2.2.1.6. Nitrates réductases :

Le test décrit par Gardan et Luisetti (1981) consiste à ensemencer les isolats bactériens jeunes dans le milieu bouillon nitraté (annexe N°1) ; les tubes inoculés sont incubés à 25°C± 2 pendant 2 à 3 jours.

La lecture des résultats se fait après addition des deux réactifs spécifiques révélateurs des nitrates 1 et 2 et une pincée de Zinc. Les notations sont en fonction de la coloration obtenue.

-Si une coloration rose apparaît, les nitrates sont présents. La bactérie possède une nitrate-réductase.

-Si le milieu reste incolore, on ajoute de la poudre de Zinc.

-Si milieu devient rose, les nitrates sont présents la bactérie ne possède pas la nitrate réductase.

-Si le milieu reste inchangé, les nitrates ont été réduits en nitrites par nitrate-réductase et les nitrites en azote ammoniacal par la nitrate-réductase.

2.2.1.7. Catalase:

Sur une culture bactériennes âgées de 24 heures, on instille quelques gouttes de l'eau oxygène à 10 volumes. La présence d'une catalase (catalase positive) se traduit par l'émission de bulbes gazeux juste après contact selon la formule :



2.2.1.7. Test oxydase :

Ce test est réalisé à un disque d'oxydase prêt à l'emploi, sur lequel nous avons déposé des colonies bactériennes âgées de 24 heures. La lecture de résultats se fait immédiatement, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur bleu au bout de 10 secondes.

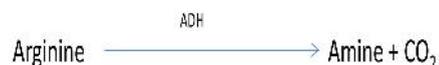
2.2.1.8. Test arginine :

Le milieu meöller (Möeller., 1955) (annexe N°1) permet la recherche de l'arginine-dihydrolase (ADH), d'une grande importance taxonomique pour la différenciation des bacilles Gram – et autres Entérobactéries.

Ce milieu consiste à ensemencer les isolats bactériens jeunes dans le milieu (annexe :1) ; les tubes inoculés sont incubés à 25°C± 2 pendant 2 à 3 jours.

-Si le milieu est violet et trouble, les bactéries se sont développées. Elles ont acidifié le milieu à partir du glucose puis réalcalinisé en utilisant l'acide aminé : Résultat +.

-Si le milieu est jaune et trouble, les bactéries se sont développées. Elles ont acidifié le milieu à partir du glucose et ne l'ont pas réalcalinisé car elles ne possèdent pas l'enzyme : Résultats -.



2.2.2. Caractérisation par la plaque API 20E :

Créé en 1970 par le docteur Bussière, une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'indentification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Galerie de 20 microtubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques (Figure 16).

L'API 20E est un système d'identification des bacilles à Gram -, ce teste est réalisé selon les recommandations Biomerieux S.A (France) qui consiste à :

- Réunir fond et couvercle d'une boite d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Ouvrir une ampoule d'API Na Cl 10,85% Medium (7ml) (Annexe N 1).
- A partir d'une culture bactérienne de 24 h on réalise une suspension bactérienne égale à 0,5 de Mc Farland (Figure 15), et cette dernière doit être utilisée dans 15 minutes suivant sa préparation.
- En suite déposer soigneusement la suspension bactérienne dans les cupules des testes de NO₃   PNPG en utilisant un embout stérile.
- Ouvrir une ampoule d'AIA AUX Medium et y transférer environ 200 l de la suspension.
- Remplir tubes et cupules des testes GLU   PAC.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des 3 testes soulignés (GLU, ADGH, URE) pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boite d'incubation et incuber à 25 2  C pendant 2h.



Figure 15 : Inoculation de la plaque api 20 E (Original., 2017).



Figure 16 : Plaque API 20 E avant l'inoculation (Original., 2017).

La lecture des résultats repose sur des changements de la coloration initiale des différents milieux (Tableau 05).

Tableau 05 : Lecture de la plaque API 20 E.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune (1)
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé (2)
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé (2)
[CIT]	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu (3)
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé (2)
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	jaune	<u>TDA / immédiat</u> marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	<u>JAMES / immédiat</u> incolore vert pâle / jaune	rose
[VP]	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore / rose pâle	rose / rouge (5)
[GEL]	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation / oxydation (GLUcose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAMnose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARABinose) (4)	bleu / bleu-vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-OXYdase	(voir notice du test oxydase)	

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecteur dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10mn doit être lue négative.
 - Les quantités indiquées peuvent ajustées en fonction des titres des matières premières.
 - Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

2.3. Resistance aux antibiotiques « Antibiogramme » :

Pour évaluation de la sensibilité aux ATB des souches bactériennes isolés nous avons adopté la méthode de diffusion sur un milieu gélosé (antibiogramme) qui consiste à estimer l'inhibition de la croissance des antibiotiques.

100µl de la suspension bactérienne de 10^7 UFC / ml sont ensemencées à la surface du milieu de culture à l'aide d'un étaloir. Les disques d'antibiotiques (AmpicillineAM¹⁰, Kanamycine K³⁰ et Imipenem I¹⁰) sont disposés au centre des boîtes.

Après d'incubation à $25^{\circ}\text{C}\pm 2$ l'absence de la croissance se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une règle (exprimé en mm).

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est classé selon les diamètres des halos d'inhibitions (Ponce *et al.*, 2003).

- $\varnothing < 8\text{mm}$: bactérie non sensible.
- $9 < \varnothing < 14\text{ mm}$: bactérie sensible.
- $15 < \varnothing < 19\text{ mm}$: bactérie très sensible.
- $\varnothing > 20\text{ mm}$: bactérie extrêmement sensible.

2.4. Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes :

La solubilisation de phosphate tricalcique a été étudiée sur milieu PVK (Pikovskaya., 1984) (Annexe 1).

Le milieu est réparti en boîte de Pétri puis ensemencé par différentes méthodes :

- Méthode des spots, qui consiste à déposer la crème bactériennes sous forme de spot sur le milieu de culture.

- Méthode des puits qui consiste à effectuer à l'aide d'une pipette Pasteur et les remplir avec la suspension bactérienne.

- La dernière méthode, consiste à étaler directement la suspension bactérienne à l'aide de surface du milieu de culture.

L'incubation a été effectuée à 28°C pendant 5 jours .Deux répétitions On été réalisés pour chaque souche.

La lecture des résultats se fait pas la mesure du diamètre de l'halo clair qui entoure les bactéries (le diamètre totale : diamètre de L'halo + diamètre de la colonie ou de puits) l'indice de solubilisation de phosphate est calculé comme suite :

$$\text{Indice de solubilisation(\%)} = \frac{\text{diamètre du halo} - \text{diamètre de la colonie}}{\text{diamètre du halo}} \times 100$$

2.5. Production de l'acide cyanhydrique (HCN) :

Le test de production d'HCN a été réalisé sur les souches isolées afin d'évaluer leur activité cyanogénique selon la méthode décrite par Bekker et Shippers (1988). Des cultures de 24h de ces souches rhizobactériennes ont été repiquées sur un milieu de culture B de King. Sur la surface interne du couvercle des boîtes de culture, des morceaux de papier filtre stériles imbibés d'une solution stérile d'acide picrique carbonate à 2% ont été placés. Toutes les boîtes ont été bien fermées avec du parafilm et incubées à 28± 2°C pendant 48h. Cet essai a été mené avec trois répétitions pour chaque traitement avec des témoins sans cultures rhizobactériennes. Les boîtes ont été observées pour tout changement éventuel de la couleur du papier filtre du jaune à l'orange ou au rouge. Ce changement serait révélateur de l'activité cyanogénique des souches testées.

3. Essai de la stimulation de la germination du cèdre d'Atlas " *in-vitro*" :

3.1. Matériels biologiques :

3.1.1. Matériels végétaux :

L'essai a été effectué sur les graines du cèdre d'Atlas de différentes stations : de l'Atlas tellien (Tikjda, wilaya de Bouira) et l'Atlas blidéen (Chrèa, wilaya de Blida).

3.1.2. Isolats bactériens :

Les souches bactériennes utilisées sont B1, B2 isolées de la rhizosphère de l'arboriculture du pêcher de la région de la Mitidja. Ces souches sont caractérisées par leurs capacités de biocontrôle et de bio-stimulation assez appréciables (Ben chabane., Gazon., 2016 ; Leghima et Imekhlif., 2017).

Nous avons également utilisé une souche résultante de notre isolement. C'est une souche supposée appartenir au groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents qui a été isolé d'un sol forestière appartenant à la rhizosphère du cèdre de la région de Tikjda.

3.2. Préparation des graines :

3.2.1. Désinfections superficielles des semences :

La désinfection des semences a été réalisée par trempage dans l'eau javellisée (225ml d'H₂O + 25ml d'eau de javel) pendant 20 minutes. Ensuite réaliser trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile pour chaque lot de semence.

3.2.2. Levée de la dormance :

Nous avons trempé les 800 graines (400 : les graines de Tikjda et 400 : graines de chréa) dans l'eau oxygénée à 30% pendant 45 minutes, (Lebru, 1970) puis lavé abondamment à l'eau distillé (Figure 17).



Figure 17 : Levée de dormance par trempage des graines dans l'eau oxygénée à 30% (Original., 2017).

3.3. Bactérisation des graines :

La bactérisation des graines a été réalisée par des suspensions bactériennes préparées à partir de crèmes bactériennes âgées de 24 heures prélevés sur milieu King.

La concentration des suspensions bactériennes d'environ 10^6 - 10^7 UFC est ajustée à une longueur d'onde 620nm. La bactérisation a été effectuée par trempage des graines dans chaque suspension bactérienne pendant 30 minutes. Les semences témoin (non bactérisées) ont été mises dans l'eau distillée stérile

3.4. Mise en germination :

Les graines désinfectées et bactérisées avec la souche B₁, souche B₂ et la souche S₁₄₁ ainsi que les témoins et non bactérisées sont disposées aseptiquement sur du papier filtre stérile dans des boîtes de Pétri à raison de 10 graines / boîte avec 10 répétitions pour chaque traitement.

Pour éviter le dessèchement des graines et afin de maintenir une certaine humidité suffisante, 3ml d'H₂O distillée sont apportés dans chaque boîte. Ces dernières sont maintenues à la température ambiante pour la germination.

3.5. Paramètres étudiés :

L'observation visuelle des gaines se fait quotidiennement pendant toute la période de l'essai qui est d'un mois.

Les graines sont comptées pour déterminer la capacité et la période de germination. On considère qu'elles ont germé lorsque la radicule perce les téguments.

3.5.1. Taux de germination :

$$FG \text{ (faculté de germination)} = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre totale de graine}} \times 100 \text{ (jours)}$$

3.5.2. Vitesse de germination :

C'est le nombre de graines germées en fonction du temps (en temps bien déterminé).

$$TMG = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_nT_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}$$

TMG : temps moyen de germination

N1 est le nombre de graines germées au temps T1, N2 est le nombre de graines qui ont germées entre le temps T1 et T2,... etc.

3.6. Diapositif expérimental :

Le dispositif expérimental est une randomisation totale, représentés par l'interaction des deux facteurs variant :

- Facteur1 : correspond aux souches bactériennes avec quatre variantes : B₁, B₂, S₁₄₁ et témoin – (sans bactérie)
- Facteurs2: végétales avec 2 variantes: cèdre de Tikjda et cèdre de Chréa.

3.7. Analyse statistiques :

L'analyse statistique des résultats est effectuée selon le test ANOVA Comparaison de k échantillons (Kruskal-Wallis) avec le logiciel XLSTAT, la comparaison des traitements est pour déterminer leur seuil de signification, avec un niveau de signification (95%).

Interprétation du test :

H₀ : Les échantillons proviennent de la même population.

H_a : Les échantillons proviennent de populations différentes.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H₀.

Lorsque : la probabilité (P) est :

P > 0,05 : Les variables ne montrent aucune différence significative.

P < 0,05 : Les variables montrent une différence significative.

P < 0,01 : Les variables montrent une différence hautement significative.

4. Activité antifongique:

4.1.1. Souches bactériennes :

Dans l'essai d'antagonisme microbien, nous avons utilisés les souches bactériennes (S₁₁, S₁₂, S₁₃, S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃) isolés de la rhizosphère du cèdre de la région de Tikjda.

4.1.2. Isolats fongiques :

Deux isolats fongiques ont été utilisés dans notre essai, il s'agit de l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* (F.O.L) agent de la fusariose vasculaire de la tomate et l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* (F.O.A) agent de la fusariose de palmier dattier (Tableau 06).

Tableau 06 : Origines des isolats fongiques utilisés dans le test d'antagonisme.

Isolats fongique	Plante hôte	Provenance
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (F.O.L)	Tomate	Université de Laghouat
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (F.O.A)	Palmier dattier	

La purification de ces isolats est réalisé par repiquage successif de disque mycélien sur milieu PDA (annexe N°1) en boîte de Pétri.

4.2. Essai d'activité antagoniste "in- vitro" :

Ce test est réalisé pour mettre en évidence les activités inhibitrices des souches bactériennes en contact direct avec isolats phytopathogènes sur milieu King B et milieu PDA. Pour cela, nous avons utilisé deux méthodes :

- **Méthode des spots :** (Becker, 1988) :

Il s'agit de déposer à l'aide d'une anse des spots bactériens âgés de 24h à la périphérie de boîte de Pétri, contenant le milieu de cultures. Après une incubation de 24 h à une température de 25± 2°C un disque mycélien déposé au centre de la boîte ensemencée par la souche bactérienne (Figure 18).

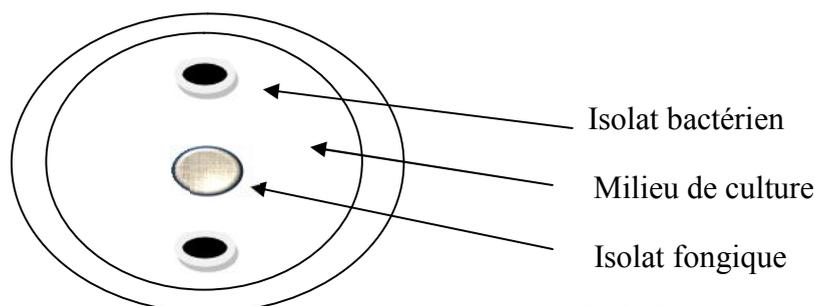


Figure18 : Méthode des spots.

- **Méthodes des traits** : (Reddy et Patrick, 1990) :

Consiste à déposer les bactéries antagonistes âgés de 24 heures sous forme de fins espacés de 2 à 3 cm, et le disque mycélien est déposé entre les deux traits bactériens, l'incubation est réalisée à 28°C pendant 7 jours (Figure 19).

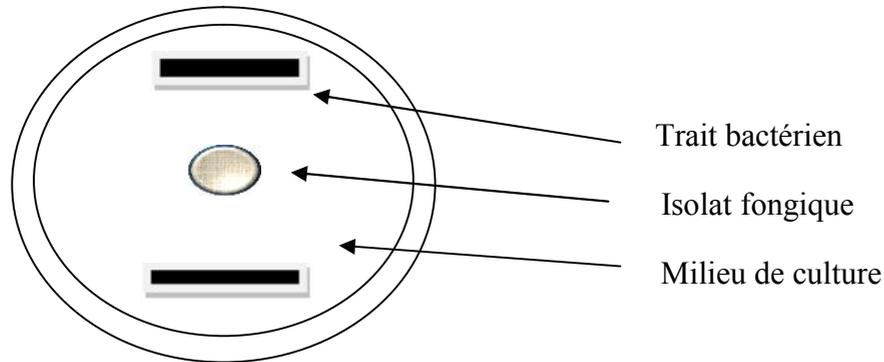


Figure 19 : Méthodes des stries

Pour les deux méthodes (spot et traits), les témoins positifs ont été obtenus par dépôt de disque de deux isolats fongiques au centre des milieux de culture et incubés à la même température.

Après une semaine d'incubation à 25°C ± 2. La lecture des résultats se fait par mesure de la distance parcourue par le mycélium de l'isolat fongique en direction de la souche bactérienne. Le pourcentage d'inhibition selon (Trivrdi *et al.*, 2008) est comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I)} = \frac{(R \text{ témoin} - R \text{ testé})}{R \text{ témoin}} \times 100$$

- **I (%)** : pourcentage d'inhibition
- **R témoin** : distance de la croissance radiale de l'isolat témoin
- **R testé** : distance de la croissance radiale du mycélium en présence de bactérie

On peut parler d'inhibition que lorsque le pourcentage (%) d'inhibition est supérieur à 20%.

Partie 3

Résultats et discussion

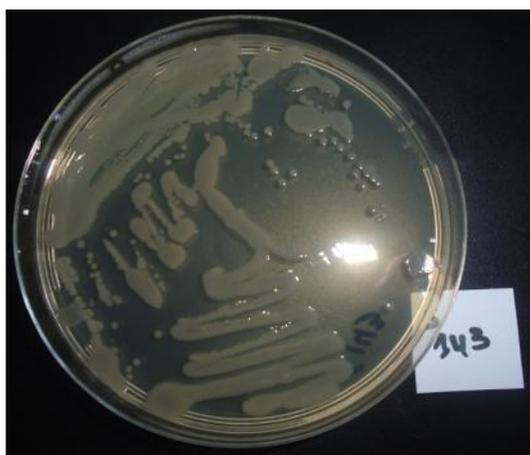
1. Caractérisation des bactéries

1.1. Caractères cultureux des souches :

Les isolements à partir de la rhizosphère du cèdre nous ont permis l'identification de 6 souches, après 24h d'incubation à une température de 25°C. Les principaux caractères macroscopiques sont représentés dans le (Tableau 07) (Figure 20-21).

Tableau 07 : Caractéristiques morphologiques des souches bactériennes isolées de la rhizosphère de cèdre.

Caractéristiques souche	Taille	Forme de bord	Aspect	Couleur	Elévation	Consistance
S ₁₁	1 mm	Régulière	Rugueux	Crème	Bombé	Crème
S ₁₂	2 mm	Régulière	Lisse	Jaune clair	Plate	Crème
S ₁₃	1 mm	Régulière	Lisse	Crème	Bombé	Crème
S ₁₄₁	1,5 mm	Régulière	Lisse	Jaune clair	bombé	Crème
S ₁₄₂	2 mm	Régulière	Lisse	Jaune clair	Bombé	Crème
S ₁₄₃	2,5 mm	Régulière	Lisse	Jaune clair	Bombé	Crème



Figures 20 : Souches bactériennes isolées de la rhizosphère de cèdre
(Original., 2017)



Figure 21: Souches bactériennes *pseudomonas fluorescens*
(Ninjatacoshell, 2010)

Les résultats obtenus sur le milieu King B après 72 h d'incubation à 25°C ±2 montrent que la pigmentation fluorescente a été visible à l'œil nu sous la lumière naturelle pour la majorité des souches. L'intensité du pigment a été très importante pour les souches S₁₄₁ S₁₄₂ S₁₄₃.

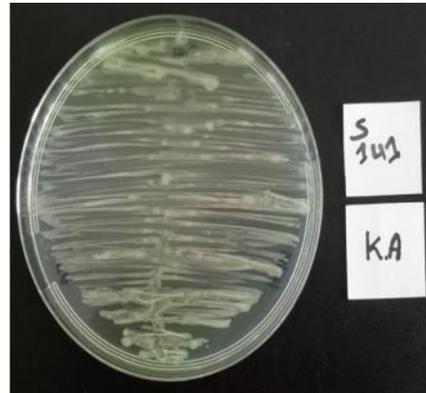
Sur le milieu King A, les souches S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ ont présenté un pigment fluorescent alors que pour le reste des souches la fluorescens est absente (Tableau 08) (Figure 22-23)

Tableau 08: Production de pigment fluorescens sur milieu King A.

Souches	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄₁	S ₁₄₂	S ₁₄₃
Fluorescens	+	-	-	++	++	++



Figure 22 : Production de pigment fluorescent par la souche S₁₄₂ sur le milieu King B (Original., 2017)



Figures 23 : Production de pigment fluorescent par la souche S₁₄₁ (Original., 2017)



Figure 24 : Observation sous les rayons (UV) de la pigmentation fluorescens de la souche S₁₄₁. (Original., 2017)

1.2. Caractérisation microscopiques :

Les six souches bactériennes observées sous microscope optique au grossissement 40x100 sont de forme bacille, droit, isolé ou regroupé, de couleur rose. Elles sont dites Gram négative (Gram-) et ceux suite à leur décoloration par l'alcool (Figure 25).

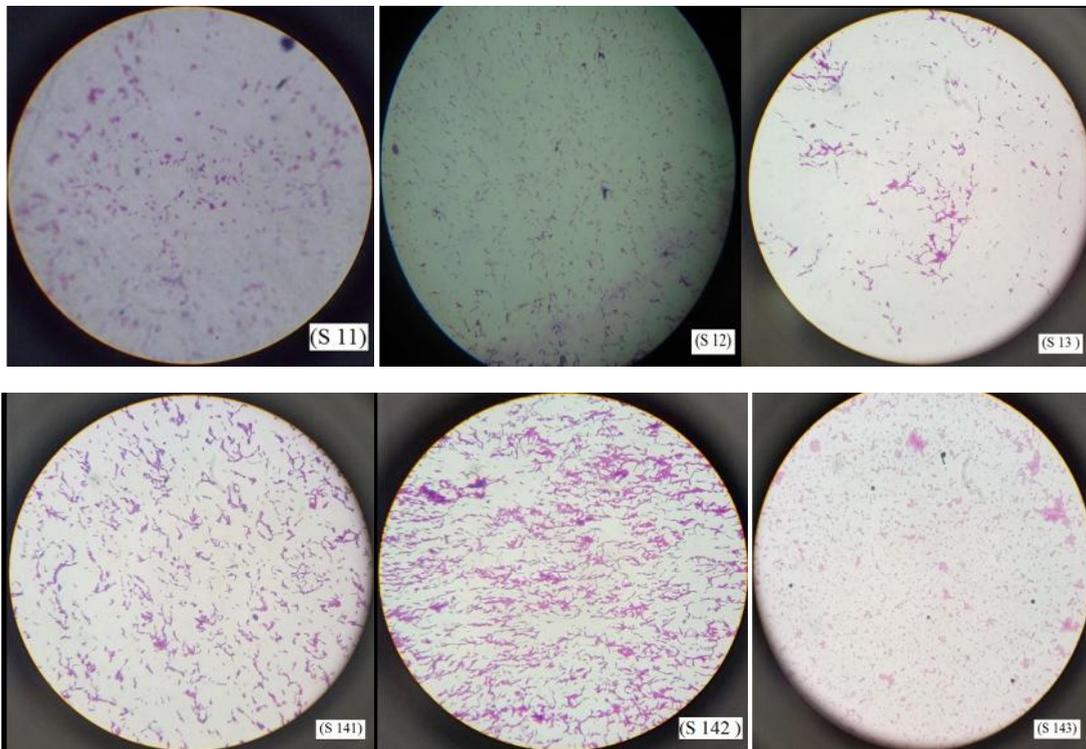


Figure 25 : Observation des souches S₁₁, S₁₂, S₁₃, S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ sous le microscope optique au G: 40x100 (Original., 2017)

1.3. Caractérisation physiologique :

1.3.1. Effet de la température :

Selon les résultats obtenus, la température a un effet notable sur la croissance des souches bactériennes, cette dernière varie en fonction de la T° et la souche bactérienne (Tableau 09).

La température optimale pour l'ensemble des souches a été obtenue avec la température 27°C.

La température 4°C n'est pas favorable pour la croissance dans la souche S₁₁ et S₁₃. Le reste des souches ont présenté une faible croissance à la même température (Figure 26).

A l'exception des souches S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ les autres souches ont présenté une croissance à 41°C (Figures 27).

Tableau 09 : Effets de la température sur la croissance bactérienne.

	Souches bactériennes	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄₁	S ₁₄₂	S ₁₄₃
Températures	4°C	-	+	-	++	++	++
	27°C	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	41°C	++	+++	+++	+	+	+

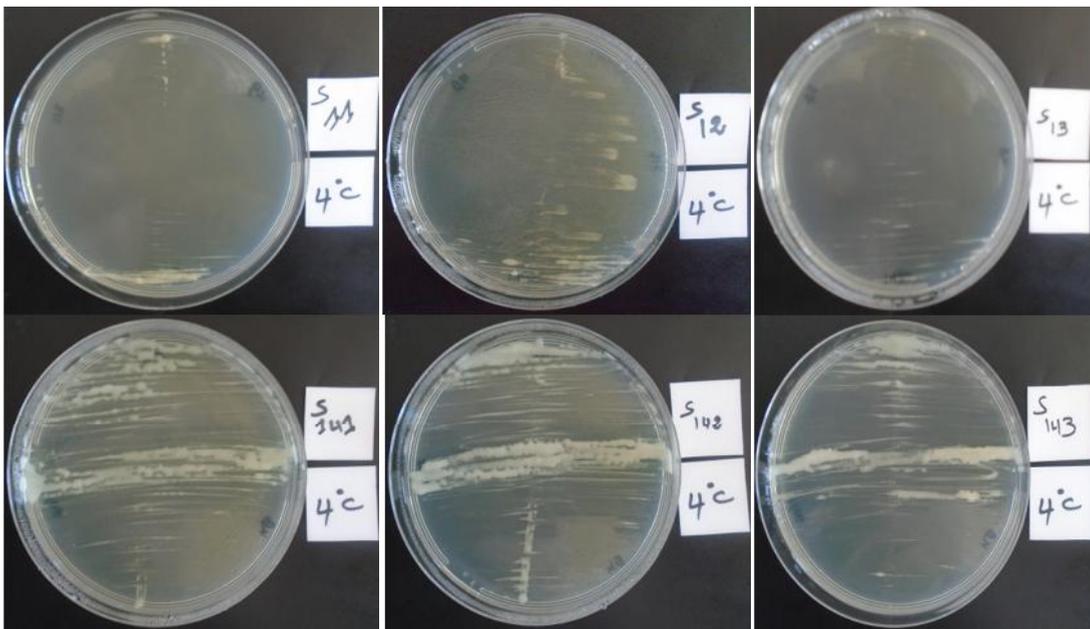
- : Absence de croissance.

+ : Très faible croissance.

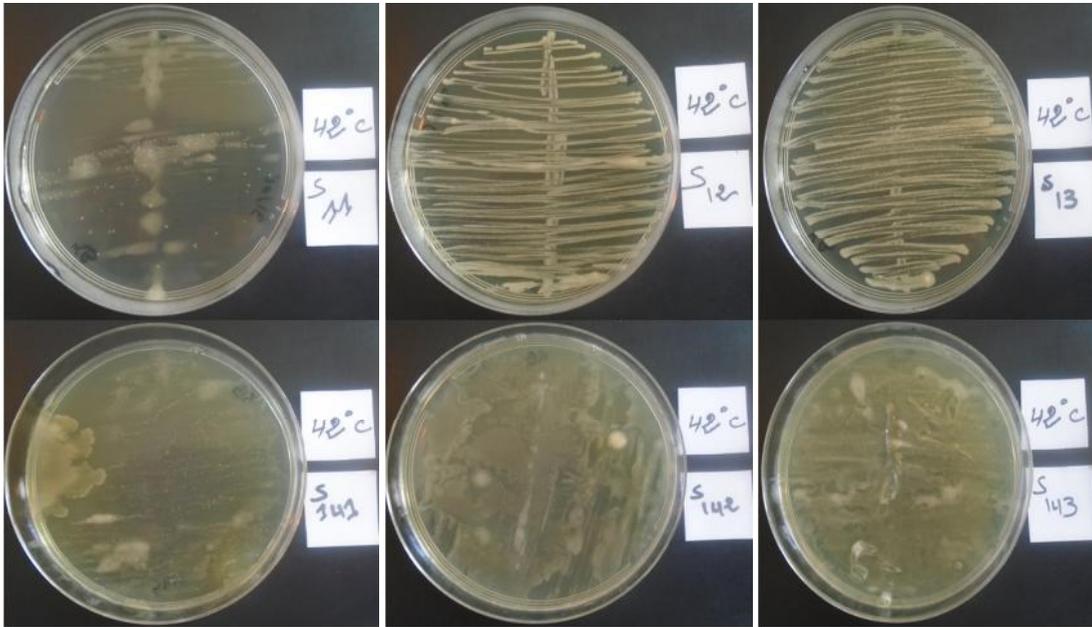
++ : Faible croissance.

+++ : Moyenne croissance.

++++ : Forte croissance.



Figures 26 : Représentent les résultats de l'effet de la température à 4°C sur les souches bactériennes (Original., 2017).



Figures 27 : Représentent les résultats de l'effet de la température à 42°C sur les souches bactériennes (Original., 2017).

Selon Palleroni (1984), Digat et Gardan (1987) et Digat (1991), la température optimale pour la croissance des *Pseudomonas* spp. Fluorescents se situe entre 25°C et 30°C.

Selon Palleroni (1984), la croissance à 41°C permet de caractériser certaines souches de *Pseudomonas fluorescens*, les souches d'origine tropicales testées résistante au stress thermique de 41°C (Digat, 1991).

Selon des travaux précédents de Nait Messaoudene O et Mahiout K (2007), les souches bactériennes de Ghardaïa, sont capables de croître à la température de 42°C.

1.4. Caractérisation biochimique :

1.4.1. Galerie biochimique classique:

D'après les tests biochimiques réalisés (Tableau 10) (Figure 28-29-30-31), nous avons constaté :

- Sur Mannitol-mobilité, toutes les souches sont mobiles mais elles n'ont pas la capacité à utiliser le Mannitol.
- Sur le bouillon nitraté, les six souches ont montré une réaction négative ce qui signifie l'incapacité à réduire les nitrates.

- Toutes les souches utilisent le citrate ceci explique la capacité à se développer en utilisant le citrate de sodium comme seule source de carbone donc elles possèdent la citrate-perméase.
- Les six souches présentent une réaction négative pour le rouge de méthyle (RM), et le Voges Proskaur (VP), ce qui signifie que les souches ne dégradent pas l'acide pyruvique en acide acétique formique et acétoïnes.
- Toutes les souches peuvent hydrolyser la gélatine donc elles synthétisent de la gélatinasse.
- Les tests catalase et oxydase sont positifs pour l'ensemble des souches.

Tableau 10 : Caractères biochimiques de six souches bactériennes.

Souches Tests	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄₁	S ₁₄₂	S ₁₄₃
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Mobilité						
Nitrate réductase	-	-	-	-	-	-
Citrate de Simmons	+	-	-	+	+	+
TSI	-	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-
RM	-	-	-	-	-	-
Gélatine	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+

(-): réaction négative

(+) : réaction positive



Figure 28 : Galerie biochimique classique (Original., 2017)



Figure 29 : Teste oxydase.
(Original., 2017).



Figure 30 : Teste catalase
(Original., 2017).

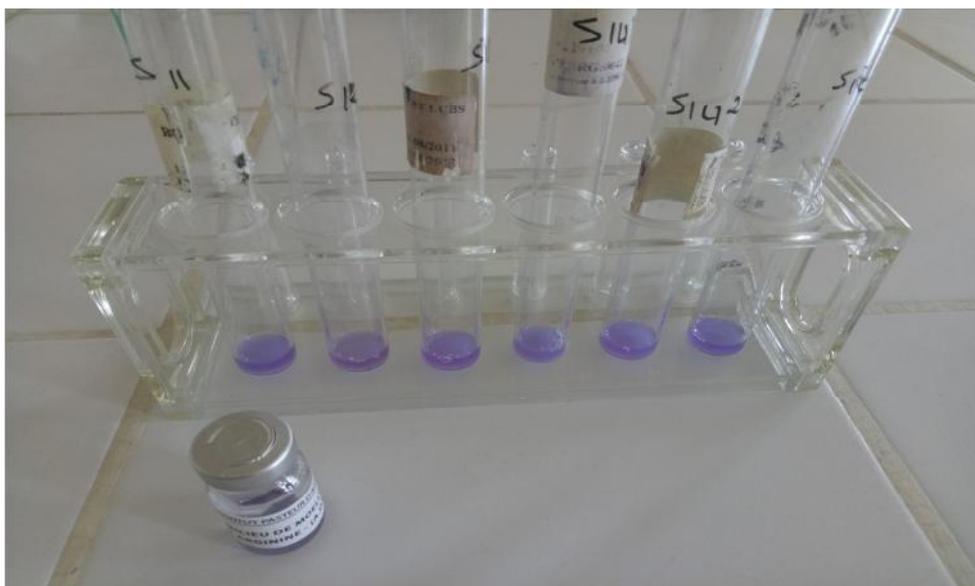


Figure 31 : Test ADH-Arginine (Original., 2017).

1.4.2 Assimilation des sucres :

La mise en évidence de l'utilisation des sucres à été effectuée sur la plaque API 20 E pour trois isolats bactériens sélectionnés pour leur forte production en pigment fluorescent.

Après incubation, la lecture de la galerie a révélée que : (Tableau 11) (Figure 32)

- Toutes les souches bactériennes sont incapables de fermenter le glucose.
- Toutes les souches bactériennes incapables d'utiliser le D-mannose (MAN), l'inositol (INO), le D-sorbitol (SOR) et le L-rhamnos (RHA).
- La souche S141 est capable de fermenter le saccharose, mais les souches S142 et S143 incapables d'utiliser le D-saccharose (SAC).
- Toutes les souches bactériennes sont capables de fermenter le melibiose (MEL), l'amygdaline (AMY) et l'arabinose (ARA), par l'utilisation le D-melbiose, amygdaline et L-arabinose respectivement.

Tableau 11 : Assimilation des sucres par les isolats bactériens sur plaque API 20 E.

Souches Tests	S141		S142		S143	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
GLU	-	-	-	-	-	-
MAN	-	-	-	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-
SAC	+	+	-	-	-	-
MEL	-	+	+	+	-	+
AMY	+	+	+	+	+	+
ARA	+	+	+	+	+	+



Figure 32 : Assimilation des sucres par les souches S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ (Original., 2017).

En se basant sur la caractérisation microscopique et macroscopique, nous avons remarqué que six souches isolées présentent les caractéristiques de groupe *Pseudomonas* qui sont des bacilles à Gram négatif (Bell-Perkins et Lynch, 2002)

Les isolats bactériens ont montré une croissance ne pas accordant avec ce de Palleroni (1984) qui montre que les températures cardinales varient de 4°C à 42°C pour que ces espèces se multiplient.

Les caractéristiques spécifiques et intra spécifique ont été réalisées selon le schéma de caractérisation du groupe *Pseudomonas fluorescens/putida* proposé par Digat et Gardan (1987) les clés dichotomiques (Figure 33 B) proposées par Jacques (1994) et Bossis (1995) pour l'identification des *Pseudomonas* spp. Fluorescents saprophytes

Les résultats obtenus des tests biochimiques des isolats bactériens déduiront que ces isolats sont des *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Selon Palleroni (1984), Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont définis comme étant des microorganismes aérobies utilisant l'oxygène comme récepteur final d'électron et incapable de fermenter le glucose et selon Stanier et al., (1966), les *Pseudomonas* sont à catalase positive.

La dégradation de l'arginine est une voie caractéristique des *Pseudomonas* spp. Fluorescents saprophytes (Thornley, 1960). Elle fonctionne seulement en absence d'O₂ et sous conditions non-dénitrifiant, c'est-à-dire lorsque la chaîne respiratoire est totalement bloquée (Shoosmith et Sherris, 1990), c'est la seule voie fermentative connue chez ces bactéries.

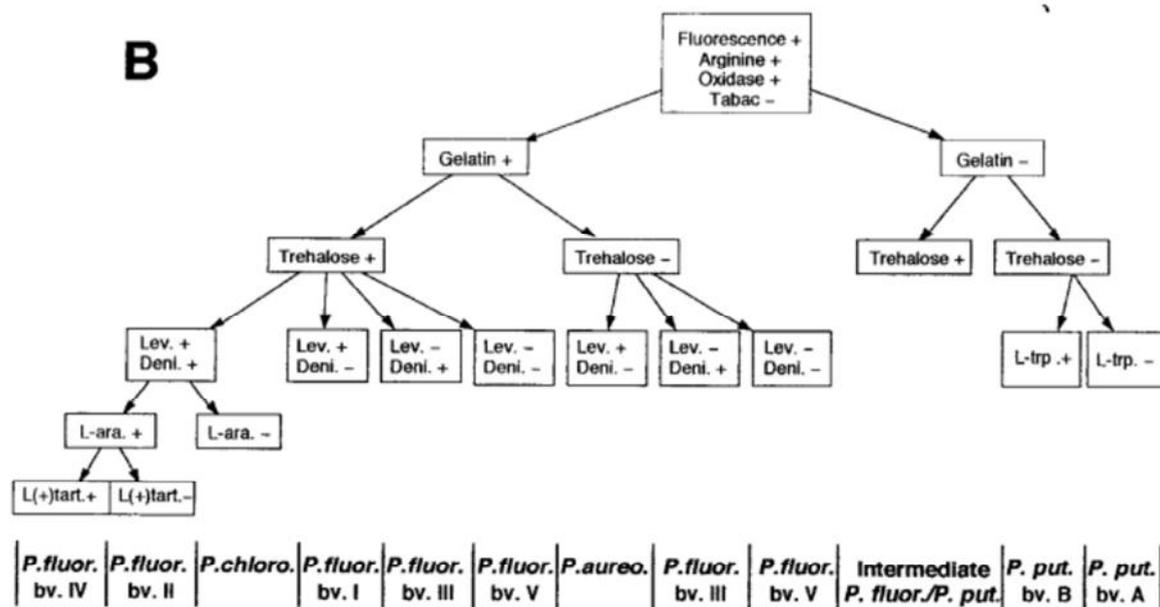


Figure 33 : Clé dichotomique pour l'identification des souches appartenant aux espèces *P. fluorescens* et *P. putida*. t B selon Bossis (1995). *P. aureo.*: *Pseudomonas aureofaciens* ; *P. chlor.*: *P. chlororaphis* ; *P. fluo* : *P. fluorescens* ; *P. put.*: *P. putida* ; L-ara : L-arabinose; Den.: Denitrification ; Lev : Levain ; L(+)-tart : L(+)-tartrate ; L-trp : L-tryptophane.

L'hydrolyse de la gélatine, est une priorité universelle de *Pseudomonas aerogenosa*, et *Pseudomonas fluorescens* mais absente chez *Pseudomonas putida* (Bossis., 1995) donc on constate que nos souches isolées appartiennent toutes à l'espèce *Pseudomonas fluorescens*.

En fin, les trois souches testées par (S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃) sont caractérisées par leurs utilisations de D-arabinose.

1.5. Résistance aux antibiotiques « antibiogramme » :

Les résultats d'antibiogramme des souches bactériennes réalisé sur le milieu King B ont montré une activité antibiotique variable selon les souches bactériennes (Tableau 12) (Figure 34-35).

Tableau 12: Résultats de l'antibiogramme testés vis-à-vis de Kanamycine, ampicilline et Imipenème comme antibiotiques.

Antibiotiques Les souches	Kanamycine (K ₃₀)	Ampicilline (AM ₁₀)	Imipenème (I ₁₀)
S ₁₁	ND	ND	ND
S ₁₂	36 mm	2 mm	5,4 mm
S ₁₃	32 mm	18 mm	5 mm
S ₁₄₁	23 mm	ND	37 mm
S ₁₄₂	25mm	ND	38 mm
S ₁₄₃	24 mm	ND	39 mm

Note : Les valeurs représentées sont en mm y compris le diamètre du disque (6mm).

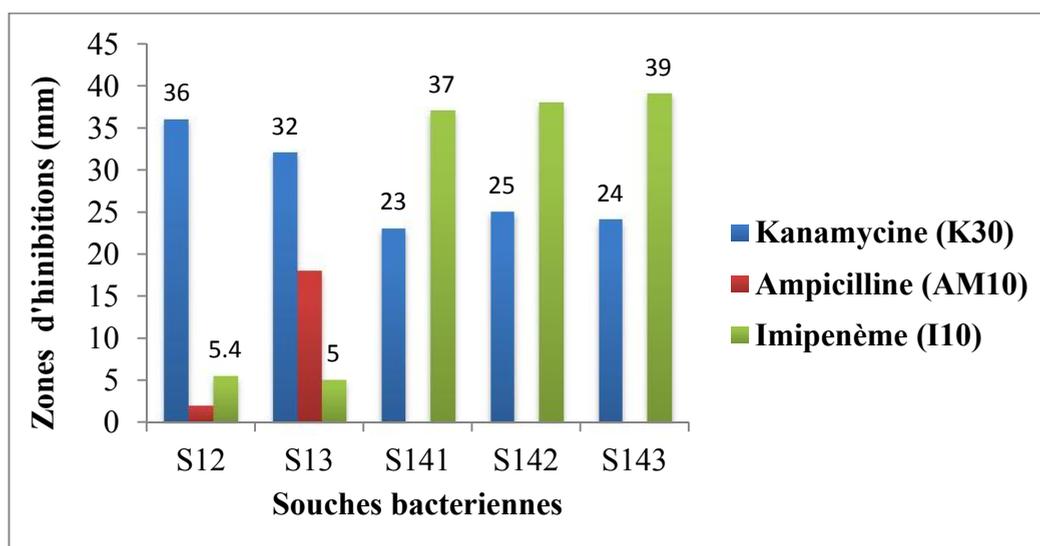


Figure 34 : Représentation des résultats du test de la résistance des souches bactériennes vis-à-vis de trois antibiotiques Kanamycine, Ampicilline et Imipenème.

Toutes les souches testées présentent des sensibilités à la Kanamycine. Les souches S₁₂ et S₁₃ se sont montrés sensible et représente des zones d'inhibition respectivement 36mm et 32mm. A l'Ampicilline c'est uniquement la souche S₁₃ qui s'est montrée sensible. Les souches S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ montrent des sensibilités vis-à-vis de L'Imipenème avec des zones d'inhibitions de 29, 38, et 37(mm) respectivement.

Selon des études de Zerrouki A et Kaci-Moussa F (2014) l'ensemble des souches *Pseudomonas fluorescens* présente une forte sensibilité à la Kanamycine qu'a l'Ampicilline. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenue par Donna *et al.*, (1972) et Saravanan *et al.*, (2013).

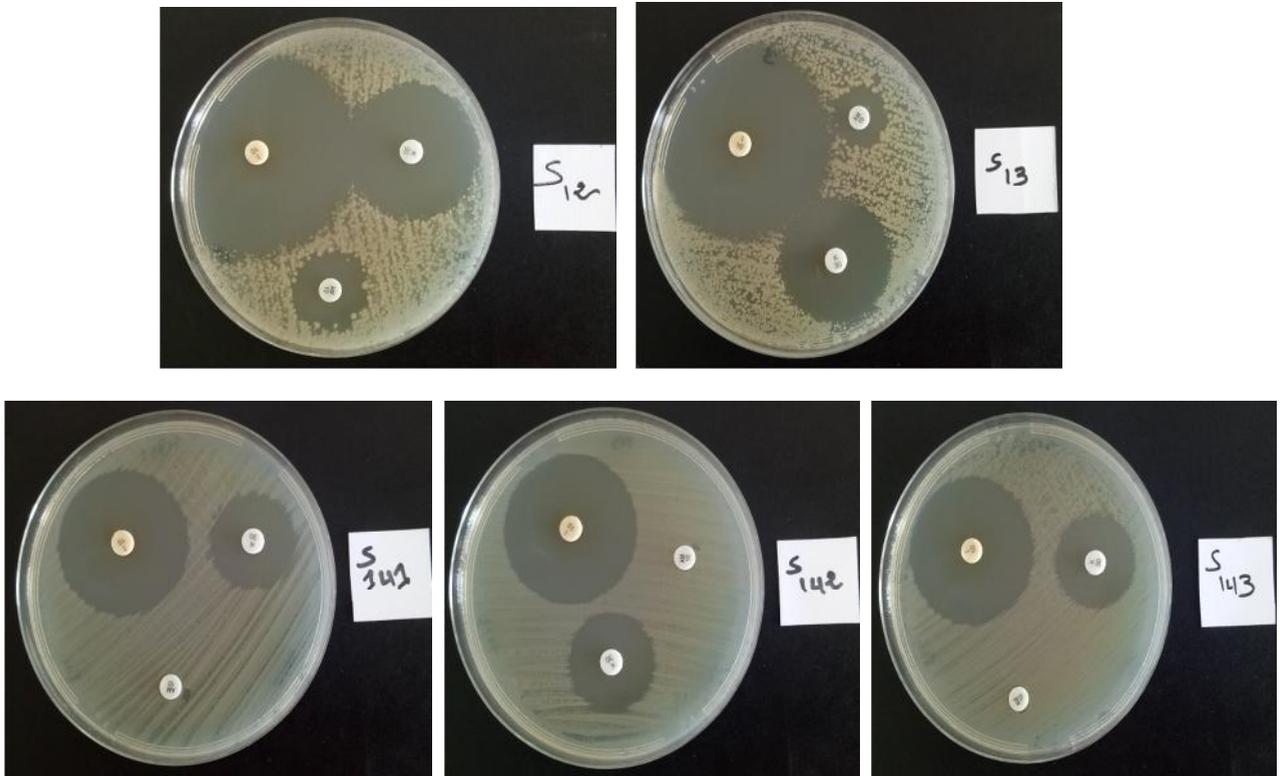


Figure 35 : Résultats de test antibiogramme sur les souches bactériennes S₁₂, S₁₃, S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ vis-à-vis de trois antibiotiques Kanamycine, Ampicilline et Imipenème.

2. Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes :

Après 5 jours d'incubation des souches bactériennes à 28°C, nous avons observé la formation des halos de clarification autour des colonies bactériennes ce qui indique la présence de substance dissolvant le phosphore, donc les souches bactériennes testées sont capables de solubiliser les phosphates inorganiques (Figure 36- 37-38).

Selon les deux méthodes spots et suspension, nous avons remarqué une clarification très importante à la surface de la boîte de pétri. Pour le calcul de l'indice de solubilisation nous avons pris en considération uniquement la méthode des spots.

Tous les isolats bactériens ont été capables de solubiliser le phosphate inorganique sur le milieu PVK solide, en forment des halos de différents diamètres (Tableau 13).

Tableau 13 : Solubilisation du phosphore on phosphore tricalcique par les six souches S₁₁, S₁₂, S₁₃, S₁₄₁, S₁₄₂ et S₁₄₃ sur le milieu PVK solide (méthode puits).

Souche	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄₁	S ₁₄₂	S ₁₄₃
Diamètre halo	12,5mm	5 mm	15 mm	12 mm	15 mm	7,5 mm
Diamètre colonie	2,25mm	3mm	4,5mm	6mm	5mm	5,5mm

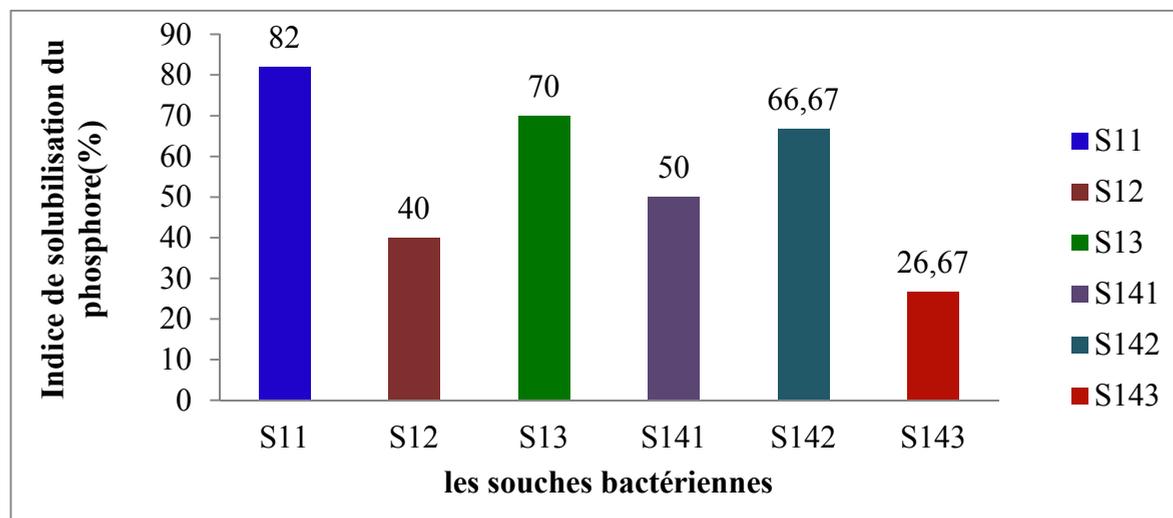


Figure 36: L'indice de solubilisation de phosphore on phosphore tricalcique sur milieu solide (PVK) par mode spot des souches purifiées.

La meilleure souche capable de solubiliser le phosphate tricalcique est la souche S₁₁ en enregistrant un indice de 82% suivie par la souche S₁₃ et souche S₁₄₁ avec représentation des indices de 70% à 50%. Le plus faible indice de solubilisation de 26,67% a été obtenu par la souche S₁₄₃.

Selon Dahdah (2015), Plusieurs microorganismes solubilisent le phosphate, dont les *Pseudomonas* spp. présentent une capacité de solubilisation très élevée.

Nos résultats sont en concordance avec les résultats des travaux précédents (Gazou., 2015). Selon cet auteur, les souches B₁ et B₂ de *Pseudomonas fluorescens* sont dotés d'une capacité de solubiliser le phosphore inorganique variable sur le milieu PVK solide.

En effet, la disponibilité de formes solubles du phosphate dans le milieu entraine leur association avec les acides organiques libérés, en formant des composés organo-phosphatés. Ces derniers seraient difficiles à dégrader par les souches bactériennes de *Pseudomonas* (Chaiharm et Lymyong, 2009).

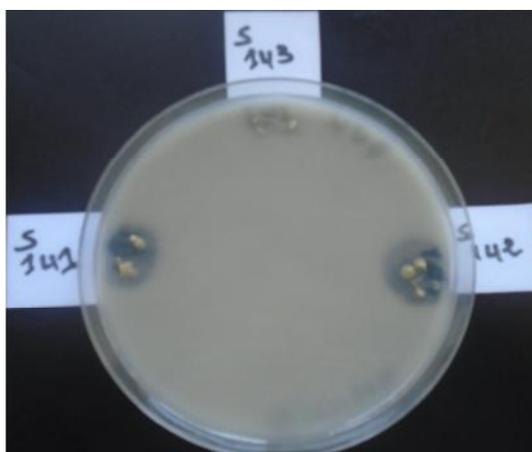


Figure 37: Solubilisation de phosphore Sur le milieu (PVK), en méthode spots (Original., 2017).

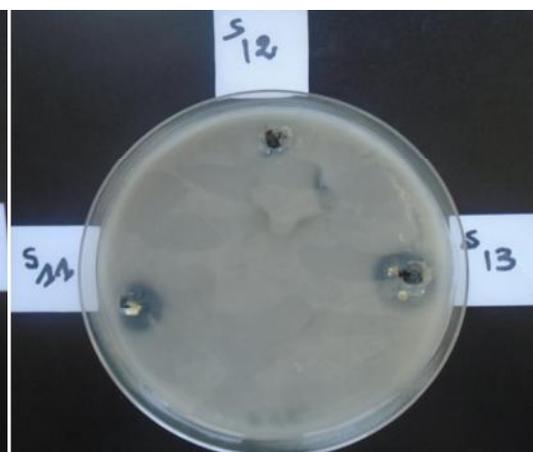


Figure 38 : Solubilisation de phosphore sur le milieu (PVK), en méthode puits (Original., 2017).

3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN) :

Après incubation à 28°C pendant 5 jours, nous avons remarqué que l'ensemble des souches testées ont la capacité à produire de l'acide cyanhydrique. On a obtenu les résultats suivants (tableau 14).

Tableau 14 : Production d'HCN par les souches bactériennes.

Souches	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃	S ₁₄₁	S ₁₄₂	S ₁₄₃
Tests						
1	++	+++	+	++	-	+++

NB : L'estimation de l'intensité de production d'HCN est faite avec trois répétitions

- : Absence de production d'HCN
- + : Très faible production d'HCN
- ++ : Faible production d'HCN
- +++ : Moyenne production d'HCN
- ++++ : Forte production d'HCN

Cinq souches S₁₁ S₁₂ S₁₃ S₁₄₁ et S₁₄₃ sont capables de produire l'HCN (HCN+). La production est très variable d'une souche à une autre. Les souches S₁₂ et S₁₄₃ semblent être les plus performantes en production de HCN, en virant la couleur du papier filtre vers l'orangée et jaune foncée et à un degré moindre pour les souches S₁₁ et S₁₄₁. La plus faible production est obtenue par la souche S₁₃.

Une différence existe entre les souches en termes d'efficacité de production de HCN, celle-ci revient à la variabilité d'expression des gènes (*hcnB* et *hcnC*) présentés chez les *Pseudomonas* producteurs. (Ramette *et al.*, 2003). L'absence de production chez certaines souches comme S142 serait peut être dû à la perte des gènes responsable de la biosynthèse.

La production d'HCN par les *Pseudomonas* est impliquée dans la suppression de différents d'agents pathogènes. Il agit directement sur les cellules en bloquant le cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire. Il contribue également à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blumer et Haas, 2000).

4. Stimulation de la germination du cèdre d'Atlas " *in-vitro*" :

4.1. Taux de germination :

D'après les résultats obtenues, l'effet de la bactérisation par les souches B₁, B₂ et S₁₄₁ sur le taux de la germination (Figure 39- 40- 41) est non significatif (P=0,442) (annexe N°2). Les traitements bactérisés ont montré des taux inférieurs par rapport aux traitements non bactérisés.



Figure 39 : Germination des graines de cèdre dans une boîte de pétri (Original., 2017).

Le taux de germination le plus important de 88% a été obtenu par les graines témoins (non bactérisées). Les traitements bactérisés par les souches B₂, B₁ et S₁₄₁ ont consisté respectivement des taux de 78%, 82% et 86% (Figure 40).

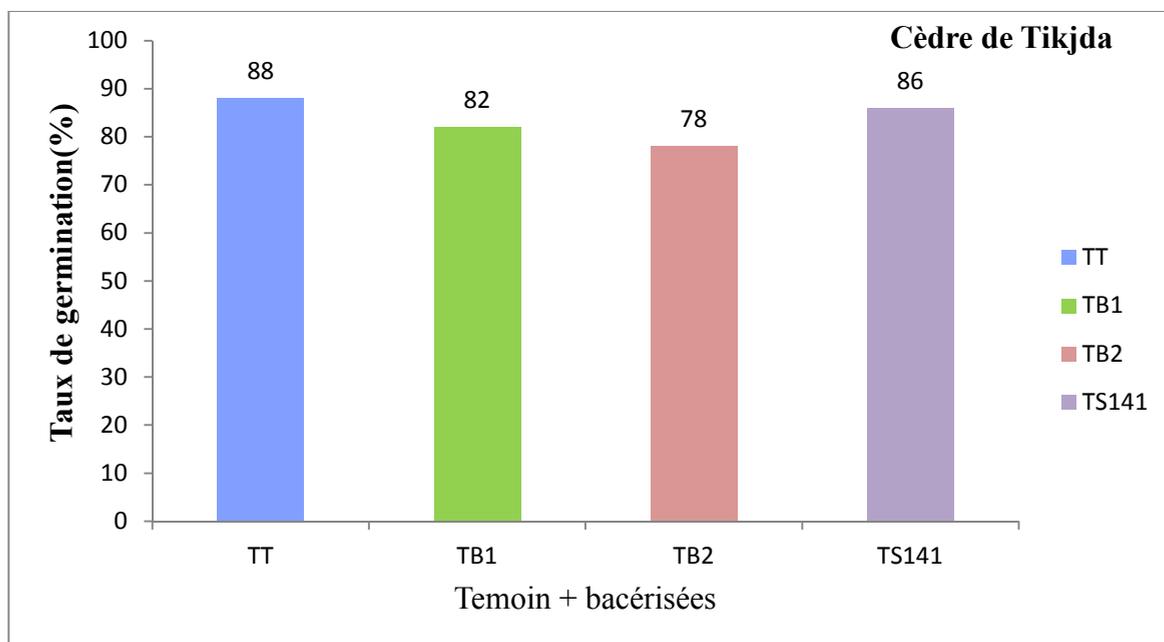


Figure 40 : Effet de la bactérisation sur le taux de germination de grains de cèdre Tikjda.

Egalement la bactérisation n'a pas eu un effet sur la germination de cèdre de Chrèa ($P=0,056$) (annexe N°2).

Les traitements bactérisées ont montré des taux de germination inférieurs de 71%, 69% et 66% respectivement par les souches B₁, S₁₄₂ et B₂ par rapport au témoin enregistré un taux plus élevé de 87% (Figure 41).

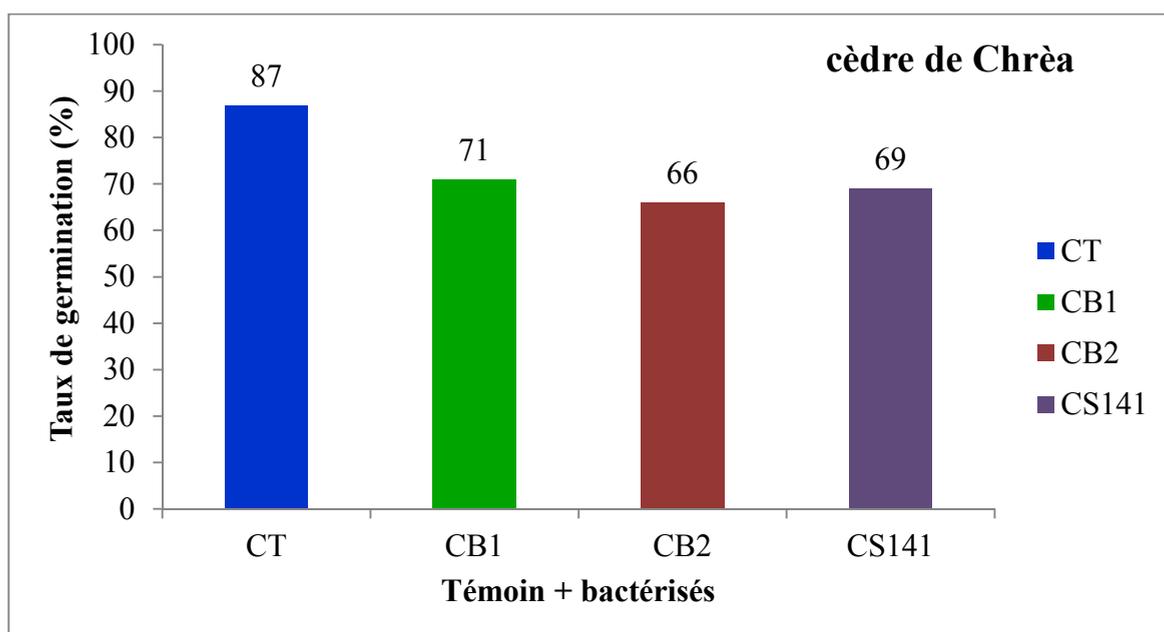


Figure 41 : Effet de la bactérisation sur le taux de germination de grains de Chrèa.

4.2. Vitesse de germination :

Les résultats de la cinétique de la germination après bactérisation ont montré que les souches bactérisées tests B₁, B₂ et S₁₄₁ n'ont pas eu d'effet sur la vitesse de germination des graines du cèdre des deux régions étudiées (Tikjda et Chrèa).

En effet, la germination des graines témoins (non bactérisées) est plus précoce par rapport aux graines bactérisées par les souches de *Pseudomonas* spp. (Figure 42-43).

La germination des graines témoins a débuté après 48h – 72h alors que les graines bactérisées ont commencé à germer après 120h.

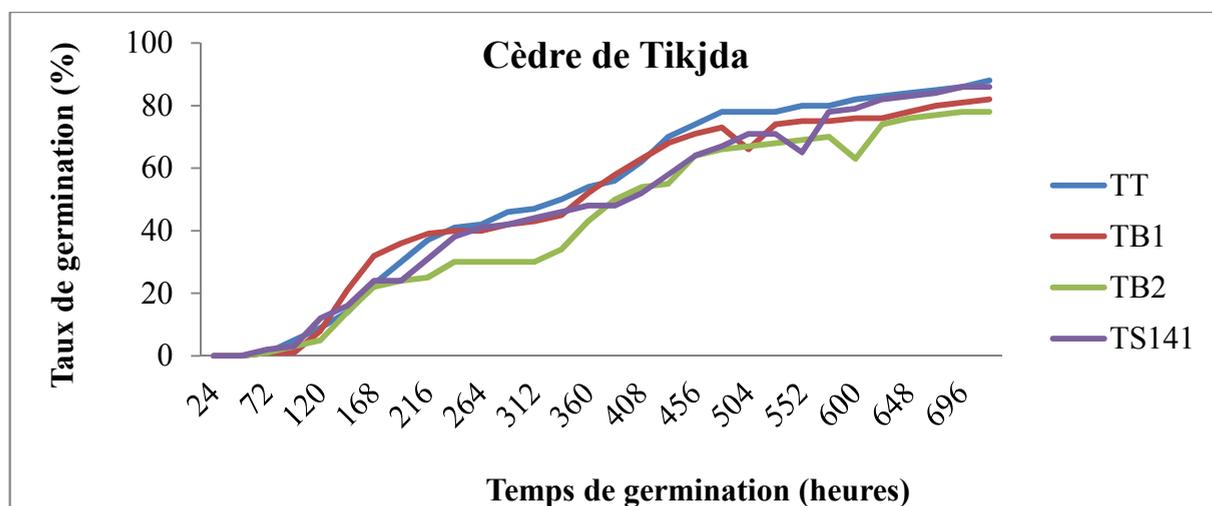


Figure 42 : La cinétique de germination des grains de cèdre de Tikjda cultivé pendant 30 jours.

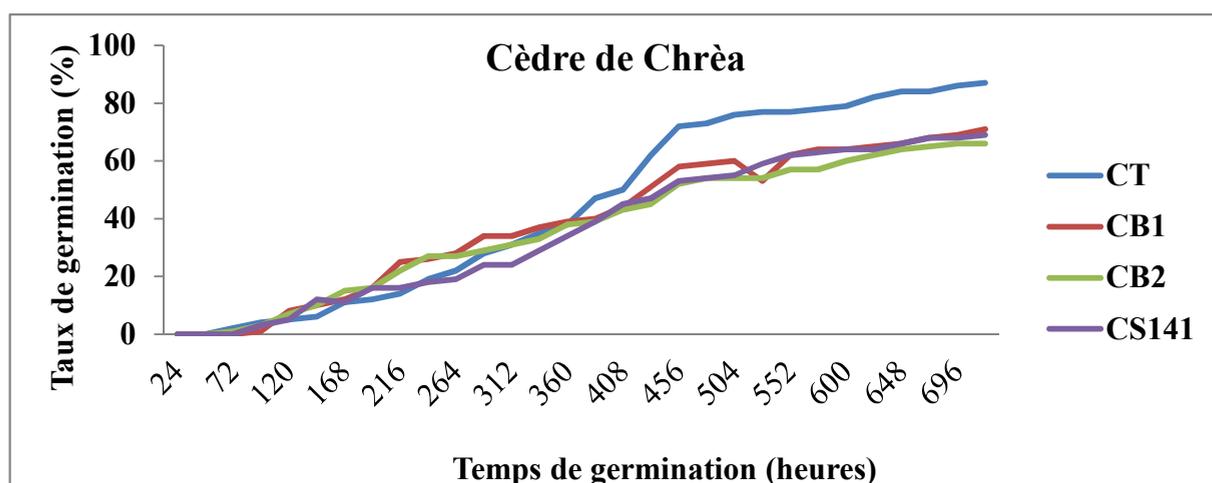


Figure 43 : La cinétique de germination des grains de cèdre de Chrèa cultivé pendant 30 jours.

D'après les résultats de notre essai, nous avons constaté que la bactérisation par les souches bactériennes B₁, B₂ et S₁₄₁ n'a pas d'effet significatif sur l'amélioration de la germination de la semence du cèdre de Tikjda et celle de Chrèa.

Nos résultats sont en contradiction avec les résultats obtenus des travaux précédents, selon les travaux de Gazou, (2016) les souches B₁, B₂ ont un effet très notable sur le taux de la germination des graines du cèdre de Tikjda. De même ces souches ont un effet favorable sur la germination ainsi que sur les paramètres morphologiques et biochimiques de la tomate (stade plantule) (Leghima D et Imekhlef K., 2017).

En effet certaines souches de *Pseudomonas* peuvent stimuler significativement la germination de graines de tomate même lorsque les conditions d'environnement ne semblent pas défavorables (Digat *et al.*, 1990).

Selon Kumar *et al.*, (2012) ont montré que la plupart des espèces de *Pseudomonas* spp isolées et testées ont un effet sur la promotion de la croissance des semis de sorgho.

La relation entre la protection et l'augmentation de croissance ou de rendement est très claire lorsque la plante est confrontée à des microorganismes qui déterminent des symptômes évidents et bien caractérisés (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Thielaviopsis basicola*, etc). Ainsi il apparaît que la réduction de la gravité de la maladie s'accompagne d'une augmentation de rendement de la culture bactérisées. Selon Weller et Cook, (1986) ; Lemanceau et Alabouvette, (1991).

Cette variabilité dans les résultats obtenus peut être liée à des facteurs qui peuvent influencer le pouvoir germinatif des graines, tels que des facteurs liés à la pureté variétale, et/ou à la stabilité des caractères, et dans ce cas on aura des facteurs intrinsèques qui ne sont pas stables, ces derniers, participent à l'activation des hormones et des enzymes qui sont essentielles à la germination (Bove *et al.*, 2001).

5. Activité antifongique :

Après une semaine d'incubation à 28°C sur les deux milieux King B et PDA, toutes les souches manifestent une action inhibitrice vis-à-vis de *Fusarium oxysporium* f. sp. *lycopersici* (F.O.L) et *Fusarium oxysporium* f. sp. *albidinis* (F.O.A) Le diamètre des colonies mycéliennes de (F.O.A) et (F.O.L) a été réduit en présence des souches antagonistes de *Pseudomonas fluorescens*, comparé au témoin non inoculé.

L'activité antagoniste vis-à-vis de deux agents pathogènes (F.O.L) et (F.O.A), varie selon la souche bactérienne, le milieu de culture. Le calcul des moyennes entre les deux méthodes spot et trait nous a permis l'obtention des résultats (Tableau 15-16-17) (Figure 44-45).

Tableau 15 : Taux d'inhibition(%) des souches bactériennes vis-à-vis de (F.O.L) et (F.O.A).

Milieu		PDA		KB	
Souches fongiques		F.O.A	F.O.L	F.O.A	F.O.L
Souches	S ₁₁	29,16	35,27	21,01	28,51
	S ₁₂	33,56	35,69	23,14	24,06
	S ₁₃	38,88	37,98	37,68	47,22
	S ₁₄₁	33,33	41,45	38,32	45,36
	S ₁₄₂	32,91	40,83	42,54	42,31
	S ₁₄₃	35,05	35,48	41,38	48,14

Seules les souches qui présentent un taux d'inhibition supérieur à 20% sont considérées comme inhibitrices.

Les meilleurs taux d'inhibition ont été obtenues par les souches S₁₄₃ en enregistrant un taux de 48,14% *vis-à-vis* de (F.O.L) et par la souche S₁₄₁ avec un taux de 41,45% *vis-à-vis* du même agent pathogène.

Sur le milieu King B, toutes les souches exercent une activité antagoniste *vis-à-vis* de (F.O.L) et (F.O.A).

La plus faible activité antagoniste a été obtenue par la souche S₁₁ *vis-à-vis* des deux isolats.

L'activité inhibitrice la plus importante a été obtenue par la souche S₁₄₃ (suivie par la souche S₁₃, S₁₄₁ et S₁₄₂ avec des taux respectivement 48,14% ; 47,22% ; 45,36% ; 42,54% *vis-à-vis* de (F.O.L).

Le taux d'inhibition le plus élevé *vis-à-vis* du (F.O.A) a été enregistré par la souche S₁₄₂ suivie par la souche S₁₄₃ avec représentation des taux 42,54% et 41,83%.

Sur le milieu PDA, l'activité antagoniste est plus représentée *vis-à-vis* du (F.O.L). Les souches bactériennes S₁₄₁ et S₁₄₂ ont enregistré des taux d'inhibition dépassent 40% alors que le reste des souches on présenté des taux d'inhibition puis varient de 35,27% à 37,98%.

Sur le même milieu, la souche S₁₃ a enregistré le taux le plus élevé de 38,88% *vis-à-vis* de l'isolat (F.O.A).

D'après nos résultats, nous avons remarqué que l'activité antagoniste dans toutes les souches est plus importante *vis-à-vis* du (F.O.L) que *vis-à-vis* du (F.O.A) sur les deux milieux de culture. Seule la souche S₁₃ qui s'est montrée plus efficace *vis-à-vis* du (F.O.L) sur milieu King B et *vis-à-vis* de (F.O.A) sur le milieu PDA.

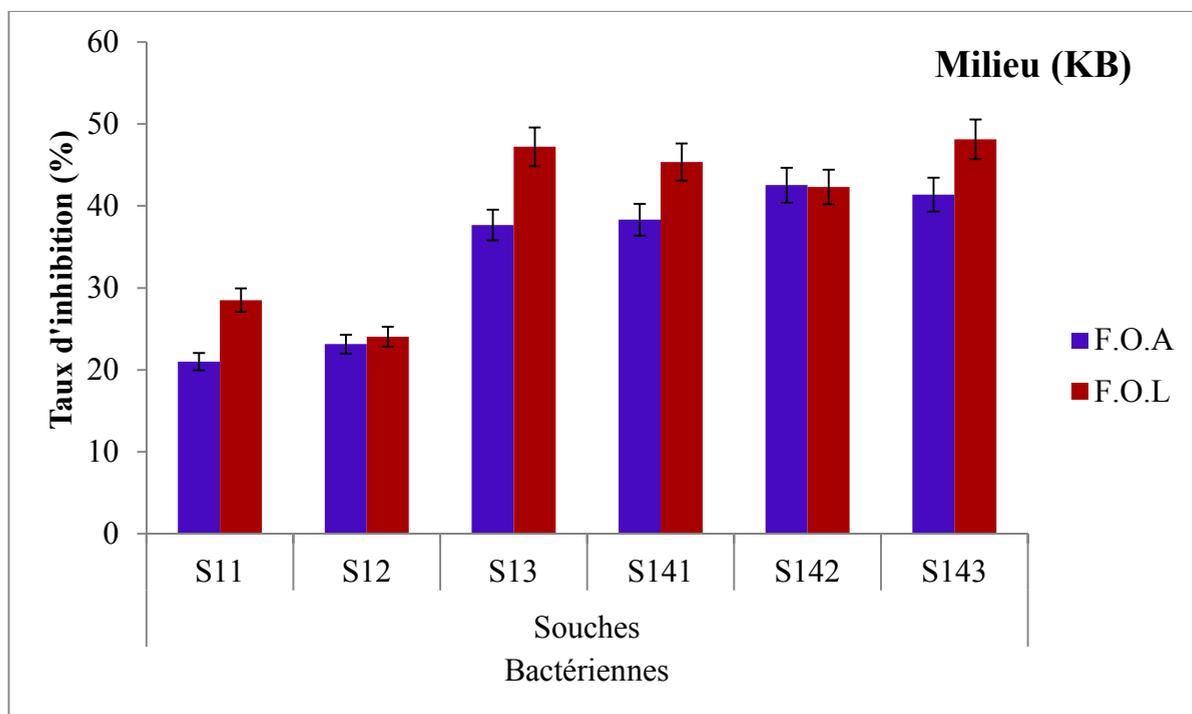


Figure 44 : Taux d'inhibition(%) des souches bactériennes contre la souche fongique (F.O.A) et (F.O.L) sur milieu KB.

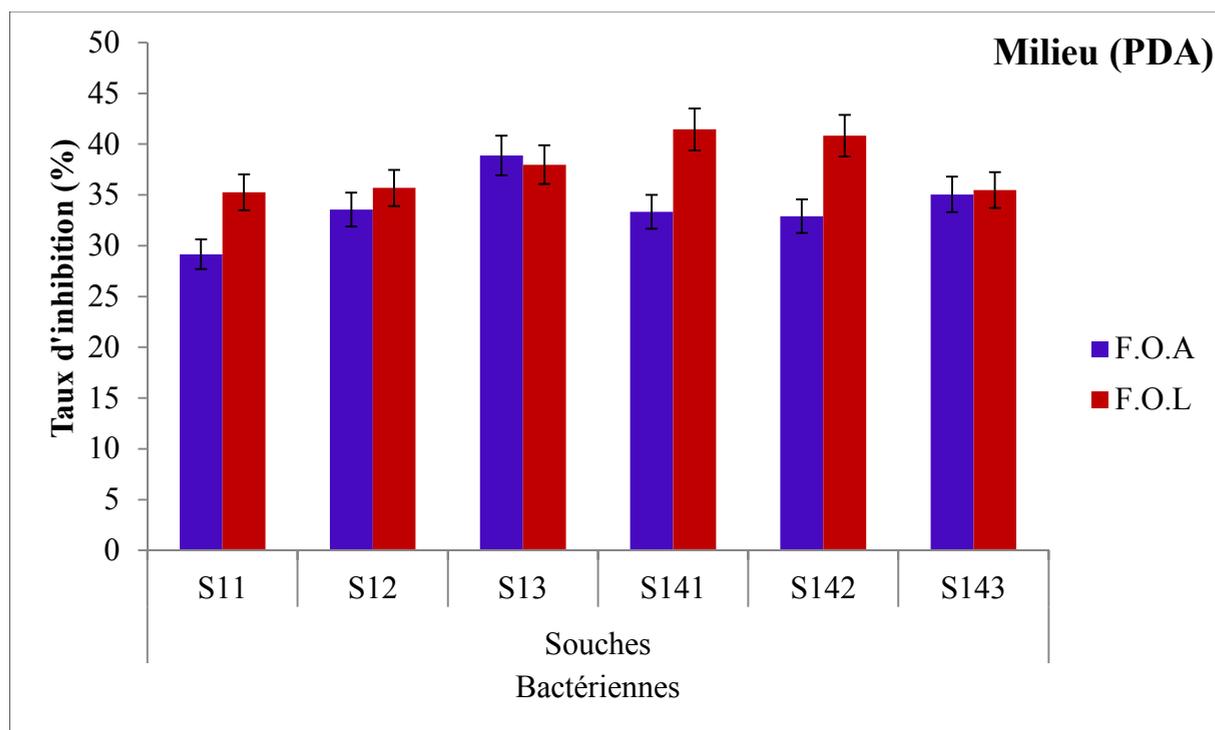


Figure 45 : Taux d'inhibition(%) des souches bactériennes contre la souche fongique (F.O.A) et (F.O.L) sur milieu PDA.

Tableau 16 : Activité antagoniste des souches sur le milieu King B *vis-à-vis* de (F.O.L) et (F.O.A) (Original., 2017).

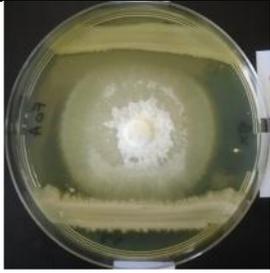
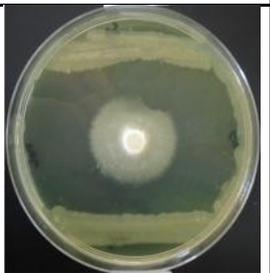
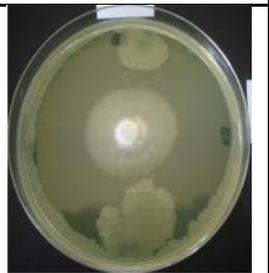
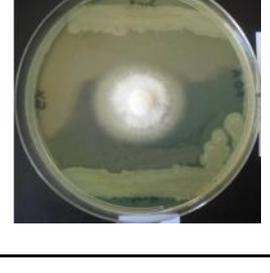
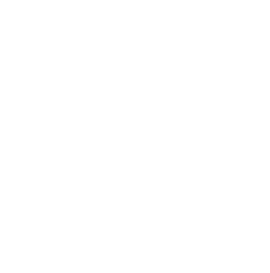
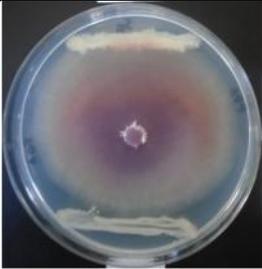
Milieu		King B (K B)			
Méthode		Trait		Spot	
Souche		F.O.A	F.O.L	F.O.A	F.O.L
Souches	S ₁₁				
	S ₁₂				
	S ₁₃				
	S ₁₄₁				
	S ₁₄₂				
	S ₁₄₃				

Tableau 17 : Activité antagoniste des souches sur le milieu PDA *vis-à-vis* de (F.O.L) et (F.O.A) (Original., 2017).

Milieu		La gélose dextrose à la pomme de terre (PDA)			
Méthode		Trait		Spot	
Souche		F.O.A	F.O.L	F.O.A	F.O.L
Souches	S ₁₁				
	S ₁₂				
	S ₁₃				
	S ₁₄₁				
	S ₁₄₂				
	S ₁₄₃				

Egalement, l'inhibition de la croissance mycélienne est plus importante obtenus sur milieu King B que milieu PDA, cette activité inhibitrice sur le milieu King B, peut être attribué à la production de sidérophores par les isolats bactériens. Selon Benchabane *et al.*, (2000), sur le milieu PDA, les taux d'inhibition enregistrées sont nettement inférieurs à ceux obtenus sur milieu King B. Cela peut être expliqué par le fait que les deux souches ne produisent pas suffisamment de pyoverdines (pigment fluorescents) sur milieu PDA.

L'activité antagoniste *in vitro* dépend non seulement des espèces des isolats testés, mais aussi de la composition du milieu de culture (Buyer et Leong, 1986).

Les différences d'intensité du pouvoir d'inhibiteur de nos souches pourraient être liées à la nature et la quantité des substances secrétées (Mishagui *et al.*, 1982).

On établie une corrélation entre la quantité des pigments fluorescents et le pouvoir antagoniste des *Pseudomonas*. Plusieurs types de pigments fluorescent sont mentionnés dans la littérature telles que la pyoverdine (Turfreije., 1942 ; Bossier *et al.*, Iswandi 1986) la fluorescine (King *et al.* 1980), la Pseudobactine (Klopper *et al.*, 1980).

L'activité antagoniste exercée par des *Pseudomonas fluorescens* à l'encontre de *Pseudomonas* délétères peut également être associée à la compétition pour le fer (Bakker et al, 1986a). Les *Pseudomonas fluorescens* sont plus aptes à mobiliser le fer que les *Fusarium* (Lemanceau, 1988). Il interviennent dans l'inhibition des agents pathogène, par le phénomène de séquestration du fer du milieu par les sidérophores (Klopper *et al.*, 1980 ; Meyer *et al.*, 1987 ; Loper *et al.*, 1991).

Sur le PDA, nous avons remarqué une activité antagoniste assez appréciable qui peut être expliqué par la production d'autres substances telles que la production d'HCN.

Selon plusieurs auteurs les activités antagonistes peuvent être attribuées à la synthèse d'antibiotique et d'autres types de métabolites secondaires à effets d'antibiose (Digat et Gardan, 1987, Lemanceau, 1988, Van et Bakker, 2003).

Conclusion

Les travaux d'une essence d'isolement effectuées a partir de la rhizosphère forestière « le cèdre » de la région de Tikjda. En se basant sur les caractères cultureux, biochimiques et physiologiques. Les souches bactériennes isolées présentent les caractéristiques de groupe *Pseudomonas* spp. Fluorescents.

La solubilisation du phosphore inorganique à été mise en évidence par les souches bactériennes isolés, la meilleure capacité de solubilisation le phosphore organique manifesté par la souche S11 en enregistrant un taux d'indice de 82%.

Toutes les souches S₁₁, S₁₂, S₁₃, S₁₄₁ et S₁₄₃ sont capables de produire le cyanure d'hydrogène (HCN). Donc ces souches on a eu le pouvoir cyanogénique.

La mobilisation du phosphore inorganique a été obtenue par les six souches bactériennes. La meilleure capacité a solubilisé le phosphore inorganique manifesté par la souche S11.

A l'exception de la souche S₁₄₂ toutes les souches bactériennes S₁₁ S₁₂ S₁₃ S₁₄₁ et S₁₄₃ sont capables de produire le cyanure d'hydrogène (HCN). Donc ces souches on eux le pouvoir cyanogénique.

Consternant l'essai de la biostimulation, nous avons remarqué que les souches bactériennes testées B₁, B₂ et S₁₄₁ n'ont pas d'effet significatif sur la stimulation de la germination des graines du cèdre de Tikjda et Chrèa. Nous avons constaté que nos résultats sont en contradiction avec les travaux déjà réalisées avec les mêmes souches B1 et B1 sur le cèdre (Gzaou., 2016), sur la tomate (Leghima et Imhlef., 2017) et même sur des légumineuses (Chaou., 2017) où ces souches bactériennes ont montré un effet remarquable sur la germination et sur la croissance d'une manière générale.

Il apparaît clairement que l'un des problèmes majeurs liés à l'utilisation des *Pseudomonas* spp Fluorescents est le manque de reproductibilité dans le temps et dans l'espace des effets bénéfiques enregistrés (Weller, 1988). Afin d'améliorer l'efficacité de la bactérisation, il est nécessaire de comprendre les mécanismes responsables des effets bénéfiques. Deux types de mécanismes se dégagent de l'ensemble des travaux publiés : l'un concerne la modification des équilibres microbiens, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante.

Pour l'activité antifongique des souches bactériennes isolées, nous avons remarqué que l'activité inhibitrice la plus importante a été obtenue sur le milieu King B.

Les souches bactériennes se sont montrées plus efficaces *vis-à-vis* du *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL) que *vis-à-vis* de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (FOA).

D'après les résultats obtenue et indépendante du milieu de culture, ou pourra conclue que les souches S₁₃ et S₁₄₃ ont des potentialités inhibitrice très importante en enregistrant de taux d'inhibitions de 35 à 48%.

Cette activité antagoniste des souches bactériennes sur milieu King B et PDA peut être liée à la capacité de ses souches à produire les sidérophores et d'autres composés à l'effet d'antibiose.

Vu les capacités inhibitrices des deux isolats fongiques par les souches bactériennes isolées, il est souhaitable d'effectuer d'autres tests complémentaires à fin de pouvoir identifier ces isolats bactériens d'une manière exacte.

De réaliser des expérimentations de conformation Pathogène-Antagoniste *in-vitro* dans des conditions contrôlés et non contrôlés.

Références bibliographiques

- **Abdessamed Kh., 1981.** Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dans les massifs de l'Aurès et du Belezma. Etude phytosociologique, problèmes de conservation et d'aménagement. Thèse Doct. Ing. Univ. Aix-Marseille, p. 202-199.
- **Akkermans, et al. 1996.** Reclassification of *Pseudomonas syringae* pv. *avellanae* as *Pseudomonas avellanae* (spec. nov), the bacterium causing canker of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Syst Appl. Microbiol.*, 19: 589-595.
- **Ali S.k.Z, V. Sandhya, M. Grover, N. Kishore, L.V. Rao, et B. Venkateswarlu. 2009.** *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biol. Fert. Soils.* 46: 45–55.
- **Andersen S. M., Johnsen, K., Sorensen, J., Nielsen, P. and Jacobsen, C. S. 2000.** *Pseudomonas frederiksbergensis* sp. Nov., isolated from soil at a coal gasification site. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 1957-1964.
- **Antoun H., Prévost, D., 2005.** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Siddiqui, Z.A (ed.). Springer, The Netherlands.
- **Babalola O.O., 2010 b.** Ethylene quantification in three rhizobacterial isolates from *Stirga hermonthica*-infested maize and sorghum. *The Egyptian Journal of Biology* 12.1-5.
- **Bano A et M. Fatima. 2009.** Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol. Fert. Soils.* 45: 405–413.
- **Bariteau M. et Ferrandes, P. 1990.** L'amélioration des cèdres en France. Inactes du Symposium International sur le cèdre. Antalya, Turquie. p. 366 – 379.
- **Bashan Y., Holguin, G., 2002.** Plant growth promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees* 16, 159-166
- **Becker J. o. Cook, R.j 1988:** Role of siderofere on suppression of Pithier species production of increased- growth reponse of wheat by *fuorescens Pseudomonas* *Phytopathoogy.*, 78 : 778-782.
- **Beckman C.H. 1987.** The nature of wilt disease. *Plants* APS Press, The American phytopathological Society, St Paul, Minnesota. 175 p.

- **Belkhir S. 1993.** Contribution a l'étude de la régénération naturelle du cèdre de l'atlas dans le Belezma. Cas du Djebel M'Hasseur. Thèse. Ing. Dép. Agro. Université de Batna, 82p.
- **Bell Perkins L.J., Lynch J.M., 2002.** Encyclopedia of environmental microbiology, A Wiley-Interscience Publication, Canada. Rhizosphere microbiology In.G.Bitton (ed), 2713-2728.
- **Benabid A., 1994.** Biogéographie phytosociologie et phytodynamique des cédraies de l'Atlas *Cedrus atlantica*(Manetti) Ann. Rech. For. Maroc, (1994), T (27), 61-76.
- **Benhalima S., 2006.** Les insectes xylophages et leur rôle dans le dépérissement du Cèdre de l'Atlas *Cedrus atlantica* (Endl.) Carrière dans le Haut et le Moyen Atlas (Maroc). Thèse Doc., Univ. Mohammed. V-Agdal, Rabat, 107p.
- **Benhamou N., 2012.** Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable .I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection*, 92 (1): 1-23.
- **Berge O., 2011.** Écologie des populations bactériennes associées aux eucaryotes photosynthétiques: de la rhizosphère à la phycosphère. INRA-PACA. Unité de Pathologie Végétale UR407, 83p.
- **Blancard D. 1997.** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212p
- **Bloemberg G.V. and Lautenberg B.J.J., 2001.** Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, pp 343-350.
- **Blumer C., et D. Haas. 2000.** Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch. Microbiol* 173: 170-177.
- **Bossis E., 1995.** Les *Pseudomonas* fluorescents de la rhizosphère : étude taxonomique et effets sur la croissance de la tomate et du maïs, de la germination à la levée, Thèse de doctorat, Université de Nantes, France, 143p.
- **Bossis E., Lemanceau P., Latour X et Gardan, L., 2000.** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* : current status and need for revision *Agronomie*. 20: 51-63.
- **Bouchez M., Blanchet, D. and vandeCastele, J.-P. 1995.** Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43: 156-164.

- **Boudy P., 1950.** Economie forestière Nord-Africaine : monographie et traitement des essences forestières. Ed. Larose, T2. Pp : 529-619.
- **Boudy P, 1952.** Guide du forestier en Afrique du nord Ed. Maison Rustique. Paris, 505p.
- **Boudy P., 1955.**Economie forestière Nord Africaine, description forestière de l'Algérie et de la Tunisie, T. IV : 483. La rose édit., Paris.
- **Bove J., Jullien M & Grappin P., 2001.**Functional genomics in the study of seed germination. *Gen. Biol*, **3** (1): 10021–10025.
- **Brimecombe M. J., F.A. De Leij, et J.M. Lynch. 2007.** Rhizodeposition and microbial population, p. 74-98. In R. Pinto, Z. Varanini, P. Nannipierei (ed.), *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press. New York.
- **Bulit J.;Bouhot D. ; Louvet J.;Toutain G. 1967.** Recherches sur les fusarioses. I. Travaux sur le bayoud, *Fusariose vasculaire* du palmier dattier en Afrique du Nord. *Annales des Epiphyties*18, 213-239
- **Caballero-Mellado J., Martinez-Aguilar L., Paredes-Valdez G., and Estrada-de L.S., 2004.** *Burkholderia unamae* sp nov. a N2-fixing rhizospheric and endophytic species, *int J. Syst. Evol. Microbiol*, 54, pp 1165-117.
- **Campbell J.I.A., Jacobsen, C.S. and Sorensen, J., 1995.** Species variation and plasmid incidence among *fluorescent Pseudomonas* strains isolated from agricultural and industrial soils. *FEMS. Microbiol. Ecol.* **18**: 51-62.
- **Chbouki N., 1994.** Une synthèse dendroclimatique du Cèdre de l'Atlas. *Ann. Rech.For. Maroc.* T27.33-59.
- **Chaiharm M., et S. Lymyong. 2009.** Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 305-314
- **Chanway C.P., 1997.** Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. *Forest Sci.*, **43**, 99-112.
- **Chin-A-Woeng T.F., Bloemberg, G.V., Lautenberg, B.J., 2003.** Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist* **157**, 503-523.

- **Cook R. J., L. S. Thomashow D. M. Weller D. Fujimoto M. Mazzola G. Bangera and D. S. Kim. 1995.** Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against rootdisease. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 92:4197-4201.
- **Courbet F., Lagacherie M., Marty P., Ladier J., Ripert C., Riou-Nivert P., Huard F., Amandier L. & Paillassa É., 2012** .Le cèdre en Franceface auchangement climatique : bilan et recommandations P 7.
- **Crosa J.H., et Walsh C.T., 2010.** Genitics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. Microbiol.mol.bio. Rev. 66pp 223-249.
- **Curl EA .1982.** The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. Plant Dis 66, 624-630.
- **Dahdah K., Rai A., Bensidhoum L., Schmid M., Hartmann, A et Nabt E., 2015.** Rev microbial. Ind . San et Environn. VOL9, N°1, Pp:1-19
- **De Weert S., H. Vermeiren I.H.M. Mulders, I. Kuiper N. Hendrickx G.V. Bloemberg J. Vanderleyden R. De Mot, et B.J.J. Lugtenberg. 2002.** Flagella-driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. Mol. Plant Microbe Interact. 15: 1173-1180.
- **Derridj A. 1990.** Etude des populations de *Cedrus atlantica Manetti* en Algérie. Thèse Doc. U.P.S. Toulouse. P 112-122-288.
- **Digat,B. and Gardan L., 1987.** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. Bull OEPP.17: 559-568-468.
- **Digat B., Gaudillat M., Labradie J.M.1990.** Susceptibility of various tomato and lettuce genotype to plant growth promoting *Pseudomonas*. Symbiosis. 9: 295-303.
- **Digat B., 1991.** A new encapsulation technology for bacterial inoculants and seed bactérisation. *In: Plant Growth – Promoting Rhizobacteria-Progress and Prospects* (Keel, C., Koller. B., eds) IOBC/WPRS, XIV/8: 383-391.
- **Djerbi M. 1982.** Bayoud disease in North Africa:history distribution, diagnosis and control. Date Palm Journal1, 153-197.

- **Doona J., Blazevic., Marilyn H., Kepcke., John, Matsen. 1972.** Incidence and identification of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* in the clinical laboratory. *Printes in USA*. Vol. 25, N°1: 107-110.
- **El Mahjoub M., Le Picard D., and Moreau M. 1984.** Origin of tyloses in melon (*Cucumis melo*) in response to a vascular *Fusarium*. *IAWABulletin n.s.*, Vol.5(4). 307-311.
- **El Yousfi M. 1989.** La procesionaria del cedro, *Thaumetopoea bonjeani* (Powell). *Bol. San. Veg. Plagas* 15, 43-56.
- **El Yousfi M. 1994.** La santé du cèdre de l'Atlas au Maroc. *Ann. Rech. For. Maroc* 27, 59-611.
- **Ellis R.J., Timms-Wilson, T.M., Bailey M.J., 2000.** Identification of conserved traits in fluorescent *Pseudomonads* with antifungal activity. *Environmetal microbiology*. Volume 2, Issue 3. Pp : 247-284.
- **Emberger L., 1952.** Sur le quotient pluviothermique. *Sciences*, 234, 2508-2511.
- **Ezzahiri M., Belghazi B. et Bahmad M., 1994.** Bilan de la régénération naturelle de la cédraie dans les parcelles clôturées du Moyen Atlas, Maroc. *Ann. Rech. For.* T27. 259-268.
- **Fabre JP. 1976.** Extension du cèdre et risques d'attaque d'insectes. *R.F.F.* 27 (4), 261-269.
- **Fabre JP, Mouna M, Du Merle P, Benhalima S. 1999.** Le point sur certains ravageurs du cèdre de l'Atlas en Afrique du Nord, en France et en Europe. *Forêt méditerranéenne* 10 (4), 203-218.
- **Fernando W.G., Dilantha N.S. and Zhang Y., 2005.** Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases. In Siddiqui Z.A., (ed) *PGPR: Biocontrol and biofertilization*. Springer, Netherlands, 313 p.
- **Fernando W.G.D., Ramarathnam R., Akkanas-Krishnamoorthy S.& Savchuk S.C., 2005a.** Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biol. Biochem.* 37: 955-964.
- **Fravel D.R., 2005.** Commercialisation and implication of biocontrol. *Annu.rev phytopathol.* 43:337-359.

- **Frederix M.J.J.; Den Brader K., 1989.** Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum* f.sp. albedinis. FAO/ PNUD/ RAB/ 88/024. Ghardaia, Algérie
- **Gachi M., 1994.** Note sur la présence en Algérie de la processionnaire du cédre *Thaumetopoea bonjeani* Powell (Lepidoptera ; Thaumetopoeidae). Ann. Rech. For. Maroc,T(27). Pp : 527-537.
- **Garbaye J., 1994.** Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128: 197-210.
- **Gardan N, Luisetti G., 1981.** Ethode d'isolement et identification des bactérie phytopathogens . Station de Pathologie INRA.Angers, 32.
- **Gausсен H., 1967.** Les gymnospermes actuelles et fossiles. Trav.Lab. Forest. Toulouse. Vol. 1, Fasc. V1.
- **Gazou S., 2016.** Les effets bénéfiques de *psudomonas* spp. Fluorescents dans la biostimulation et Biocontrôle des végétaux P 76.
- **Gillespie D. R., and J. G. Menzies., 1993.** Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f.sp. radicis-lycopersici. Ann. Appl. Bio. 123: 539-544.
- **Gouzou L., 1992.** Devenir d'une population bactérienne inoculée dans la rhizosphère du blé et ses effets sur la plante: Cas de *Bacillus polymyxa*.Thèse de Doctorat Université de Nancy.173p.
- **Granchinho S. C. R., Franz, C. M., Polishchuk E., Cullen, W. R.,Reimer K. J., 2002.** Transformation of arsenic (V) by the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp.melonisolated from the alga *Fucus gardneri*. Appl. Organomet. Chem. 16: 721-726.
- **Gray E.J., and smith D.L., 2004.** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinction in the Plant-bacterium signaling processes. 37 (3), pp 395-412.
- **Guerinot M. L., 1994.** Microbial iron transport. *Annu. Rev. Microbiol.* 48: 743–772.
- **Gyaneshwar P., GN. Kumar LJ. Parekh et PS. Poole., 2002.** Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil.* 245(1):83-93.

- **Hamoir J., Goret M., Mignon B., and Gustin P., 2001.** Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses. *Ann. Med. Vet.* 145:226-232.
- **Harfouche A. ET Nedjahi A., 2003.** Prospections écologiques et sylvicoles dans les cédraies du Belezma et de l'Aurès à la recherche de peuplements semenciers et d'arbre. *Rev. For. Fr.* Vol. 55, n°2, Pp: 113-122.
- **Henni J.E., 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171 p.
- **Hillbrand D.C., Schorth M.N et Sand D.C., 1988.** *Pseudomonas* spp 60-77. In Shaaad, N.W.E.D Laboratory guide for identification of plant pathogen bacteria 2nd. ST. Paul. Minnosta.pps.
- **Hofte M.; Atlier G., 2010.** Plant pathogenic *pseudomonas* species. In: Plant associated bacteria. Part. 3, Gnanamanikam S S. Eds, Speing, Netherlands, Pp: 507-533.
- **Höfte M Boelens J Vestraete W., 1991.** Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2 and ANP15. *Soil Biol Biochem* 23, 407-410.
- **Hol, W., Gera., Martijn T. Bezemer and Biere A., 2013.** Getting the ecology into interactions between plants and the Plant growth promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens*., *Frontiers in Plant science*., Pp: 296-320.
- **Holloway B.W., 1992.** *Pseudomonas* in the late twentieth century. In : *Pseudomonas, Molecular Biology and Biotechnology* (E Galli, S Silver, B Witholt, eds), Am Soc Microbiol, Washington, DC, 1-8
- **Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams S.T., 1994.** Genus *Pseudomonas*. (Eds) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Microbiol. Meth. 2 : 296.
- **Jacques MA., 1994.** Écologie quantitative et physiologie de la communauté bactérienne épiphyllé de *Cichorium endivia* var *latifolia* L. Thèse de doctorat, université de Paris-XI, Orsay, 123 p
- **Jacques P., Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Thonart P., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les

Pseudomonas fluorescens dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol, Cahier Agriculture, 2, pp 301-307.

- **Johnsen K., Andersen S. and Jacobsen C. S., 1996.** Phenotypic and genotypic characterization of phenanthrene-degrading fluorescent *Pseudomonas biovars*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 3818-3825.
- **Jourdan E., Ongena M. & Thonart P., 2008.** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 12: 437-449.
- **Kamilova. F., S. Validov, T. Azarova, I. Mulders, et B. Lugtenberg., 2005.** Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environ. Microbiol.* 7: 1809–1817.
- **Karnwal A., 2009.** Production of indole acetic acid by fluorescent pseudomonas in the presence of l-tryptophan and rice root exudates. *J. Plant Pathol.* 91 (1): 61-63.
- **Katan T., Shlevin, E., Katan J. 1997.** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculums. *Phytopathology* 87: 712-719.
- **Keel C, Maurhofer M, Oberhansli TH, Voisard C, Haas D, Defago G., 1991.** Role of 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of take-all of wheat by a strain of *Pseudomonas fluorescens*. In: Biotic interactions and soil-borne diseases (Beemster ABR, Bollen GJ, Gerlagh M, Ruissen MA, Schippers B, Tempel A) *Dev Agric Managed Forest Ecol* 23, Elsevier, Amsterdam, 335-338
- **King E.d Ward. M.K et Rnaey D.E., 1954.** Two simple media for the demonstration of pycnanin and *fluorescein*. *J. Lab. Clin. Med.* 44 : 301 -307
- **Kloepper J.W, Scher F.M, Laibert M, Tipping B., 1986.** Emergence-promoting rhizobacteria: description and implication for agriculture. In: Iron, siderophores and plant disease (TR Swinburne, ed) *NATO ASI Series A, Life Sci*, Plenum Press, New York, 351, 155-164.
- **Klopper J.W., Lifshitz R., Zablutowicz R.M., 1989.** Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology* 7, 39-44.
- **Kommedahl, T., Abbas, H.K., Burnes, P.M., Mirocha, C.J., 1988.** Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* spp. from soils of Norway near the Arctic Circle. *Mycologia* 80(6): 790-794.

- **Krasilnikov M ., 1961.** On the role of soil bacteria in plant nutrition. *J Gen Appl Microbiol* 7, 128-144
- **Krewulak, K.D. and Vogel, H. J., 2008.** Structural biology of bacterial iron uptake *Biochim. Biophys. Acta* 1778:1781–1804.
- **Krouchi F., 2010.** Étude de la diversité de l'organisation reproductive et de la structure génétique du cèdre de l'Atlas. P 3-111.
- **Kumar V. et N. Narula., 1999.** Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, 28(3):301-305.
- **Larbaoui A., 1999.** Mise en évidence de la production de sidérophores, de l'acide cyanidrique et d'antibiotiques chez quelques espèces de *Pseudomonas fluorescens*. *Thèse d'ingénieur Ines d'agronomie Blida* .68 p
- **Latour X., Corberand T., Laguerre G., Allard F. and Lemanceau P., 1996.** The composition of fluorescent Pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2449-2456.
- **Latour M., 2002.** Perspective de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique *Biocontrol. Agron.Soc. Environ.* 6(2), Pp: 67-77.
- **Laville J., C. Blumer, C. Von Schroetter, V. Gaia, G. Défago, C. Keel, and D. Haas., 1998.** Characterization of the hcnABC gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *J Bacteriol* **180**:3187-3196.
- **Leghima D., et Imekhlef K., 2017.** Effets de Phytostimulation de la croissance de la Tomate *Solanum Lycopersicum* par deux souches de *Pseudomonas* spp Fluorescents. PP. 60
- **Lelliott R.A., Billing, E. and Hayward, A.C., 1966.** A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonas*. *J. Appl. Bacteriol.* **29**: 470–489.
- **Lemanceau P., 1992.** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. Fluorescents. *Agronomie.* 12: 413-437

- **Lemanceau P., Offrep., Mougcl., Gamaleroe., Dessaux Y., Moenne-Loccozy et Bertag., 2009.** Microbial ecology of the rhizosphere. In : microbiological methods for assessing, Massachussts, Cambridge, MA, Etats- Unis, Pp. 228-230.
- **Lemanceau P., Offre, P., Mougcl, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., 2006.** Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
- **Lepoivre P., 2003.** Phytopathologie. De. Boeck. Ed. 428p.
- **Liu L., Kloepper J.W., Tuzun S., 1995.** Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 85 (6), pp 695-695.
- **Lugtenberg B.J., Chin A. W.T.F. and Bloemberg G.V., 2002.** Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81:373-383.
- **Lugtenberg B., Kamilova F., 2009.** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-556.
- **Lugtenberg B. Malfanova N., Kamilova F. & Berg G., 2013.** Plant growth promotion by microbes, *In Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, F.J. de Bruijn (ed.), Chapter 53, Vol II, pp.: 559 573. Wiley-Blackwell Publisher, 1328 p.
- **M'Hirit O., 1982.** Etude écologique et forestière des cédraies du Rif Marocain : Essai sur une approche multidimensionnelle de la phytoécologie et de la production du cèdre de l'atlas. *Ann.Rech.For. Maroc* 2(1). 499p.
- **M'hirt O., 1994.** Eats des connaissances sur le cèdre de l'ATLAS. *Ann. Rech. For.* vol. Maroc, 27 (n°spécial) , vol 1, 1-XXXVI& 1-361.
- **M'Hirit O., 2006.** Le cèdre de l'Atlas. *Mémoire du temps*. Ed.MARDAGA.288p.
- **Maire R., 1952.** Flore de l'Afrique du Nord. *Encyclopedie biologique* Volume 1.Paul Le chevalier Editeur, Paris-366p.
- **Mandael Q.A., Abbas J.A., Saeed A.M. 1995.** Survey of *Fusarium* species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. *Sydowia* 47: 223-239

- **Marhofer M., Keel C., Schnider U., Voisard C., Hass D., Defago G., 1992.** Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO on its disease suppressive capacity. *Phytopathology* 82, 190-195.
- **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, 293-319
- **Marchel N., Bourdon j. M., 1982.** Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries. Doin éditeurs, Paris 196.
- **Mattar J. 1993.** Les *Pseudomonas* spp. fluorescents de la rhizosphère : Caractérisation, incidence de la température et microflore autochtone sur la colonisation racinaire. Thèse. Doct. Univ. Lyon 130p.
- **Meyer J.M. and Abdallah M.A., 1978.** The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107.Pp: 319-328.
- **Mishaguil J., Stowell L. J., Grogan R. G., Spearman L. C., 1982.** Fungistatic activity of water soluble fluorescent pigment of fluorescent *Pseudomonas*. *Phytopathology* 72, pp.33-36.
- **Misko A.L. and Germida J.J., 2002.** Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42: 399-407.
- **Möeller V., 1955.** Simplified tests of some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 36: 158-172.
- **Moore E.R.B., B.J. Tindall V.A.P. Martins Dos Santos D.H. Pieper, J.L. Ramos et N.J. Palleroni., 2006.** Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA.
- **Mouna M., 1994.** État des connaissances sur l'entomofaune du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) au Maroc. *Ann. Rech. For. Maroc* 27, 513-526.
- **Munsch P., Alatossava T., Marttinen N., Meyer J.-M., Christen L. and Gardan L. 2002.** *Pseudomonas costantinii* sp. Nov. another causal agent of brown disease, isolated from cultivated mushroom sporophores in Finland. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52:1973-1983.

- **Nait Messaoudene O., et Mahiout K., 2008.** Effets Atagonistes de quelques souches de *Pseudomonas* spp Fluorescents vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp albidinis*.Pp.47-48.
- **Nandakumar R., Babu S., Viswanathan R., Raguchander T. and Samiyappan R., 2001.** Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. Soil Biol. Biochem. 33(4-5):603-612
- **Neilands J.B., 1995.** Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Bio. Chem.* 270: 26723–26726.
- **Nelson P. E., Toussoun T. A., Marasas W. F. O., 1983.** *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania
- **Nielsen M.N., Sorensen J., Fels J. and Pedersen H. C., 1998.** Secondary metabolite –and endochitinase- dependent antagonism toward plant -pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 3563-3569.
- **Nishimori E., Kita-Tsukamoto K. and Wakabayashi H., 2000.** *Pseudomonas plecoglossicida* sp. nov., the causative agent of bacterial haemorrhagic ascites of ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 83-89..
- **Ongena M. and Thonart P., 2006.** Resistance induced in plants by non-pathogenic microorganisms: Elicitation and defense responses. *In* Floriculture, ornamental and plant biotechnology : advances and topical issues, edited by A Jaime and T.D. Silva Japan: Global Science Books.
- **Ongena M & Thonart P., 2006.** Resistance Induced in Plants by Nonpathogenic Microorganisms: Elicitation and Defense Responses. *In* Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: advances and topical issues. J.A. Teixeira da Silva (ed.). Global Science Books, Ltd. pp.: 447-463.
- **Palleroni N.J. 1984. Genus I.P.Pseudomonas Migula., 1984.** *In* : Krieg, N.R., Holt, J.G. (Eds.). Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA: 141-171.
- **Palleroni N., 1986.** *Pseudomonas* bergey’s of systematic Bacteriology. Krieg, N.R., and Hot.G., (editors) Baltimore: the Williams Co, Pp: 141- 199.
- **Palleroni N.J., 1992.** Introduction to the family Pseudomonaceae. *In*: the prokaryotes (MP Balows, ed), Sprin

- **Persello-Cartieaux F., Nussaume L., and Robaguila C., 2003.** Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant cell Environ.*, 26, pp 189-199.
- **Piano S., Neyrotti V., Migheli Q. and Gullino M.L., 1997.** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis postharvest* rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11 (3):131-140.
- **Pikovskaya R.I., 1948.** Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologiya* 17, 362-370.
- **Ponce A.G., Fritz R., Del Valle, Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss L Wu. *Technol.* Vol. 36 : 679-684.
- **Quezel. Pet Santa. S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales
- **Quézel P. & Médail F., 2003.** *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen.* Elsevier, Paris, 592 p.
- **Ramette A., M. Frapolli G. Défago and Y. Moëne- Loccoz., 2003.** Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact* 16:525-535.
- **Ratledge C. and Dover L.G., 2000.** Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu.Rev. Microbiol.* 54: 881–941.
- **Ravel J.& Cornelis P., 2003.** Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in pseudomonads. *Trends Microbiol.*, 11: 195-200.
- **Reddy M.S and Patrick Z, A. 1990.** Effect of fluorescent *Pseudomonas* on growth of tobacco seedlings and suppression of Black root caused by *Theilacriopsis basicola*. In *plant growth –promoting rhizobacteria .Prospects.*C.KEFL.B.Koller and G.Defago, (Eds), IOB/WPRS Bulletin XIV.18 : 23-33.
- **Reyes M.E.Q., Rohrbach K.G. and Paull R.E., 2004.** Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 33(2):193-203
- **Rouxel F., Alabouvette C., et Louvet J., 1979.** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IV: mise en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. *Ann. Phytopathol.* 70:412-417.

- **Saaidi M., 1979.** Contribution à la lutte contre le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse d'Université, Université de Dijon, France.
- **Saravanan S., Muthumanickam P., Saravanan T.S., Santhaguru K 2013.** Antagonistic potential of fluorescent Pseudomonas and its impact on growth of tomato challenged with Phytopathogens. African. Science. Corp . Science. Journal, Vol. 21, No. 1, 29-36.
- **Schroth M.N., Hildebrand D.C. and Panopoulos N., 1992.** Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads. In: *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, pp. 3104-3131.
- **Scott, I.T., 1923.** The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and on tomato wilt. Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin 64.
- **Sharma K., G. Dak A. Agrawal M. Bhatnagar et R. Sharma., 2007.** Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of Cicer arietinum seed and seedling growth. J. Herb. Med. Toxicol., 1: 61-63.
- **Shippers B., Bakker A.W., P.A.H.M., Van peer R., 1990.** Beneficial and deleterious effects of HCN- Producing Pseudomonads on rhizosphere interaction. In: *The rhizosphere and plant growth*, Keister , D.L. and Creagan, P.B. (Eds), Kluwer, Dordrecht, pp. 21-219.
- **Simeoni L. A; Lindsay W.L. and Baker R., 1987.** Critical iron level associated. With biological. Control. Of *Fusarium* with phytopathology 77, B1057-1061.
- **Snissi A., Ezzouhiri L., Rossi B.D., et Larini H.K., 2006.** Contrôle biologique de la Fusariose de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* sp *Lycopersici* et *Fusarium oxysporum radicii-Lycopersici*. Congrès International de biochimie, PP. 352-356.
- **Soltani A.A., 2010.** Plant Growth promoting Characteristics in Some *Flavobacterium* spp. Isolated from Soils of Iran. Journal of agricultural Science, 2(4), pp106-115
- **Spapen S., J. Vanderleyden et Remans R., 2007.** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. FEMS Microbiol. Rev.31: 425-448.
- **Stanier RY, Palleroni NJ, Doudoroff M., 1966.** The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. J Gen Microbiol 43, 159-271

- **Sturz A.V., Christie B.R., 2003.** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Research*, 72, pp 107-123.
- **Taghavi S., Garafola C., Monchy S., Newman A., Hoffman A., Weyens N., Barac T., Vangronsveld J., Van der Lelie D., 2009.** Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 748-757.
- **Thomashow L.S., Bonsall R. and Weller D.M., 1997.** Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes *in situ*. *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, D.C, pp. 493–499.
- **Thornley M.J., 1960.** The differentiation of *Pseudomonas* from other gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *J Appl Bacteriol*23, 37-52.
- **Toth J., 1970.** Plus que centenaire et plein d'avenir : le cèdre en France. *Rev. For. Fr.*, vol. 22, (3). Pp : 355-364.
- **Toth J., 1980.** Le cèdre III. La graine des plants en pépinière, reboisement, régénération naturelle. *Forêt privée. Rev. For; Europe*. N° 132. Pp : 41-47.
- **Toth J., 1982-1984.** Quelques éléments nouveaux pour mieux situer et caractériser le cèdre de l'Himalaya en France vis-à-vis du cèdre de l'Atlas et du cèdre du Liban en France méridionale. *INRA. Bull. Soc. Et Sci. Nat. Vaucluse*. Pp : 41-49.
- **Van Lon L.C., 2007.** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur.J Plant Pathol*.119: 243-254.
- **Van Loon L.C., Bakker P. and Pieterse C. M. J., 1998.** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol*.36:453-483.
- **Vonderwell J.D., Enebak S.A., 2000.** Differential effects of rhizobacterial strain and dose on the ectomycorrhizal colonization of loblolly pine seedlings. *For. Sci.*, 46(3), 411-437.
- **Walker J.C., 1971.** *Fusarium* wilt of tomato. Monogr. 6. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

- **Weller DM, Howie WJ, Cook RJ., 1988.** Relationships between in vitro inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take all wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 78, 1094-1100.
- **Weller D.M., van Pelt J.A., Mavrodi D.V., Pieterse C.M.J., Bakker P.A.H.M. and van Loon, L.C., 2004.** Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*. 94-S108.
- **Weyens N., Van der Lelie D., Taghavi S., Vangronsveld J., 2009.** Phytoremediation : plante endophyte partnerships take the challenge. *Current Opinion in Biotechnology* 20, 248-254.
- **Whipps J.M., Lumsden R.D., 2001.** Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. (Eds), *Fungi as biocontrol agents: Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing, Wallingford, pp.9-22.
- **Zahir A. A., Arshad M., Frankenberger W.T., 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture *Adv. Agron.* 81: 97-168.
- **Zerouki A., et Kaci-Moussa F., 2014.** Identification préliminaire de quelques souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescentes isolées à partir de la rhizosphère de deux essences forestières de Cédre. 43-44.

Annexes

Annexe N°1

Milieux de culture

1-Milieux de King B « KB » (King *et al.*, 1954) :

- Peptone 20g
 - Glycérol 15g
 - K₂ HPO₄ 1,5g
 - Mg SO₄ 1,5g
 - Agar agar 15g
 - Eau distillée q.s.q 1000ml
- Ajuster à un pH=7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

2-Milieux de King A « KA » (King *et al.*, 1954) :

- Peptone 20g
 - Glycérol 15g
 - K₂ HPO₄ 1,5g
 - Mg SO₄ 1,5g
 - Eau distillée q.s.q 1000ml
- Ajuster à un pH=7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

3-Potatos Dextrose Agar « PDA » (Jonsthon et booth., 1954) :

- Pomme de terre 200g
 - Dextrose 20g
 - Agar agar 20g
 - Eau distillée q.s.q 1000ml
- Ajuster à un pH=6,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

4-Milieu Levane (Gardan et Luisetti., 1981) :

- Nutriment agar 23g
 - D gkucose 2,5g
 - Sucre de tabe 50g
 - Eau distillée q.s.q 1000ml
- Ajuster à un pH=7. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

5-Milieu Gélatine (Garde et Luisetti., 1981) :

- Extrait de levure 3g
 - Batéριοpeptone 5g
 - Gélatine 120g
 - Eau distillée q.s.q 1000ml
- Ajuster à un pH=7. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

6-Milieu de Clark et Lubs (Marchal et Bourdon., 1982) :

- Peptone tryptique ou polypeptone.....5 à 7 g
 - Glucose.....5g
 - Phosphate bipotassique (K₂PO₄)..... 5g
 - Eau distillée q.s q.....1000ml
- Ajuster à un pH = 7.2

7- Milieu Citrate de Simmons (Gardan et Luisetti., 1981) :

- Sulfate de magnésium (MgSO₄) 0.2 g
 - Ammonium dihydrogène phosphate 1g
 - Phosphate dipotassique..... 1g
 - Citrate de Sodium2g
 - Chlorure de Sodium (NaCl).....5g
 - Bleu de bromothymol0.08 g
 - Agar20g
 - Eau distillée q. s.q..... 1000ml
- Ajustez à un pH = 6.6 ±0.1

8-Gélose nutritive « GN » (Garden et Luisetti., 1981) :

- Extrait de levure2g
- Peptone5g
- Extrait de viande..... 1g
- NaCl.....5g
- Glucose.....5g
- Agar agar20g
- Eau distillé q.s.q 1000ml

Ajuster à un pH=6.8. Autoclavage 120°C pendant 20mn.

8- Milieu triple sugar iron « TSI » (Garden et Luisetti., 1981) :

- Peptone20g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure3g
- Chlorure de sodium5g
- Citrate ferrique..... 0.3g
- Thiosulfate de sodium 0.3g
- Lactose.....10g
- Saccharose10g
- Glucose.....1g
- Rouge de phénol..... 0, 5g
- Agar12g

Ajuster à pH=7,4.

9-Le milieu de Möeller (Möeller., 1955) :

- Extrait de levure 3g
- L-arginine (mono-chlorhydrate)..... 5g
- Glucose..... 1g
- Bromocrésol pourpre.....0,16 mg
- Chlorure de sodium..... 5 g
- ph= 6,8

Stérilisé à 110 °C pendant 10 min.

10-Millieu Pikovskaya « PVK » (Pikovskaya., 1984) :

- Gelose..... 10g
- Extrait de viande.....0, 5g
- Phosphate calcium..... 5g
- Sulphate Magnesium(NH_4)₂SO₄..... 5g
- Potassium chloride (KCl) 0,2g
- Sulfate Magnesium (MgSO₄, 7H₂O)..... 0,1g
- Sulfate Manganese.....0,0001g
- Sulfphate Ferrous.....0,0001g
- Agar agar 15g

Ajuster à un pH=7,4. Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

11-API AUX Medium 7ml

- Sulfate d'ammonium 2g
 - Agar 1,5g
 - Solution de vitamines 10g
 - Phosphate monosodique6,24g
 - Chlorure de potassium..... 1,5g
 - Eau déminéralisée q.s.q 1000ml
- pH final : 7,0 – 7,2