

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences
agronomiques.

Option : Production végétale et agriculture durable

Thème

Contribution à l'étude de l'effet du stress salin sur la
germination des graines de deux légumineuses
forestières *Acacia raddiana* et *A nilotica* bacterisées
par deux souches de *Pseudomonas* spp Fluorescents

Présenté par : CHAOU LYES

Soutenu le: 18/10/2017 devant la commission
d'examen :

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

MAA

Président de jury : M^r AIT SAID S.

MCA

Examinatrice : M^{elle} BOUTEBTOUB W.

MCB

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

MAA

2016-2017

Remerciements :

En premier lieu, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour réaliser ce travail

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères à Mme DAHOUMANE ma promotrice, pour la confiance qu'elle m'a accordée en me proposant ce thème de recherche. Ses grandes qualités scientifiques et ses compétences ont contribué largement dans l'élaboration de ce manuscrit et dans mon enrichissement personnel et professionnel. Je le remercie également de m'avoir enseigné dans la bonne humeur, la pratique des sciences et la rigueur au travail. Je garderai toujours le souvenir de votre enseignement et de votre humanité.

C'est avec beaucoup de reconnaissance que j'adresse mes sincères remerciements à monsieur AIT SAID d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à mademoiselle BOUTEBTOUB et à madame TAIBI de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.

Permettez-moi aussi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant ce temps de travail, m'ont dirigés, soutenus, aidés et encouragés.

Dédicace:

.

A mes parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A mes chères sœurs Narimane Lynda et Dania en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur. Que Dieu vous protège et vous garde. Merci pour tout.

A mes ami (ies): Yamina D, Mokhtar D, Amirouche H, Imane D, Rafika B, Amine O
En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Liste des abréviations

- **AAC** : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
- **ABA** : l'Acide abscissique
- **AHL**: N-acyl homoserines lactones.
- **AIA** : l'acide indole-3-acétique
- **AIA** : l'acide indole-3-acétique
- **ASTM** : American society for testing and material.
- **CLPs** : lipopeptides cycliques.
- **DAPG** : 2,4-diacétyl phloroglucinol
- **HCN** : cyanure d'hydrogène.
- **ISR** : (Induced systemic resistance) induction de la résistance systémique.
- **KB** : milieu king B.
- **Mevag** : Mise en évidence de la voie d'attaque du glucose.
- **NRPS** : non-ribosomal peptides synthetase mécanisme fondé sur des enzymes appelées synthétases. pour constituer un peptide.
- **PCA** : phénazine-1-carboxylate.
- **PCN** : phénazine-1-carboxamide
- **PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria
- **PLT** : Pyolutéorine
- **PRN** : Pyrrolnitrine
- **PRN** : Pyrrolnitrine , 3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl
- **PVDs** : Pyovérdirines
- **PVK** : milieu Pikovskaya.
- **QS** : Quorum Sensing.
- **RM** : le rouge de méthyle
- **Spp** : du latin *species pluralis*, désigne toutes les espèces du genre.
- **TMG** : temps moyen de germination.
- **UFC** : unité formant colonie.
- **UV** : ultra violet.

Liste des abréviations

- **AAC** : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
- **ABA** : l'Acide abscissique
- **AHL**: N-acyl homoserines lactones.
- **AIA** : l'acide indole-3-acétique
- **AIA** : l'acide indole-3-acétique
- **ASTM** : American society for testing and material.
- **CLPs** : lipopeptides cycliques.
- **DAPG** : 2,4-diacétyl phloroglucinol
- **HCN** : cyanure d'hydrogène.
- **ISR** : (Induced systemic resistance) induction de la résistance systémique.
- **KB** : milieu king B.
- **Mevag** : Mise en évidence de la voie d'attaque du glucose.
- **NRPS** : non-ribosomal peptides synthetase mécanisme fondé sur des enzymes appelées synthétases. pour constituer un peptide.
- **PCA** : phénazine-1-carboxylate.
- **PCN** : phénazine-1-carboxamide
- **PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria
- **PLT** : Pyolutéorine
- **PRN** : Pyrrolnitrine
- **PRN** : Pyrrolnitrine , 3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl
- **PVDs** : Pyovérdines
- **PVK** : milieu Pikovskaya.
- **QS** : Quorum Sensing.
- **RM** : le rouge de méthyle
- **Spp** : du latin *species pluralis*, désigne toutes les espèces du genre.
- **TMG** : temps moyen de germination.
- **UFC** : unité formant colonie.
- **UV** : ultra violet.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des espèces végétales utilisées dans l'essai de bio-stimulation.....	28
Tableau 2 : Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2.....	37
Tableau 3: Temps moyen de germination en fonction de la concentration en NaCl.....	40
Tableau 4: Analyse statistique des longueurs des radicules	41
Tableau 5 : Analyse statistique des hauteurs des plumules	43
Tableau 6 : Analyse statistique de l'indice de vigueur des deux Acacias.....	45
Tableau 7 : Analyse statistique du poids frais des plumules.....	47
Tableau 8 : Analyse statistique du poids frais des plumules.....	48
Tableau 9 : Analyse statistique poids frais des radicules	49
Tableau 10 : Analyse statistique du poids sec des radicules	51
Tableau 11 : Analyse statistique du nombre de racines secondaires des deux Acacias....	52

Liste des figures

❖ Fig. 1 : <i>Pseudomonas</i> SPP fluorescens souches de 24 heures (Ninjatacoshell, 2010)	4
❖ Fig.2 : Schéma simplifié représentant les interactions des <i>P.fluoresens</i> dans la rhizosphère (Haas et Défago 2005.)	6
❖ Fig.3 : Structure chimique de la pyovérdrine de <i>P. fluorescens</i> (Ravel et Cornelis, 2003)	10
❖ Fig.4 : Structure chimique de la phénazine-1-carboxylate (PCA) (Paciaroni et al, 2015).....	11
❖ Fig.5 : Structure chimique du 2,4-diacétyl phloroglucinol (Thomashow et al, 1999)	12
❖ Fig.6 : Structure chimique du 3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl).(Laurentis et al, 2006)	13
❖ Fig.7:Arbre adulte d' <i>Acacia tortilis subsp. raddiana</i> 'sud ouest Maroc' (René Baud, 2016)	19
❖ Fig.8 : Arbre adulte d' <i>Acacia nilotica</i> « Australian National Botanic Garden » (Fagg, M.2017)	23
❖ Fig.9 : Graines d' <i>A.raddiana</i> après scarification et désinfection	29
❖ Fig.10 : Graines d' <i>A.nilotica</i> après scarification et désinfection	30
❖ Fig.11 : mise en germination des graines après bactérisation	31
❖ Fig.12 : Les souches bactériennes B1 et B2 sous microscope optique au grossissement 10X100	35
❖ Fig.13. Galerie biochimique	36
❖ Fig.14 : Test catalase des deux souches bactériennes B1 et B2	36
❖ Fig.15 : Résultats du test oxydase des deux souches B1 et B2	37
❖ Fig.16 : Test sur milieu Citrate de Simmons des deux souches B1 et B2.....	37
❖ Fig. 17: Taux de germination d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i> à différentes concentrations de NaCl.....	40
❖ Fig.18 : Effet de la salinité sur le temps moyen de germination des graines d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	41
❖ Fig.19 : Effet de la salinité sur Longueur de la racine <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i> ..	42
❖ Fig.20 : Effet de la salinité sur la hauteur des plumules d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	43
❖ Fig.21: Développement d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i> aux concentrations C0 et C3.	44
❖ Fig.22 : Indice de vigueur d' <i>A.nilotica</i> et <i>A.raddiana</i> en fonction de la concentration de NaCl.....	46

❖ Fig.23 : Effet de la salinité sur le poids frais des plumules <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	47
❖ Fig.24 : Effet de la salinité sur le poids sec des plumules d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	48
❖ Fig.25 : Effet de la salinité sur le poids frais des racicules d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	50
❖ Fig.26 : Effet de la salinité sur le poids sec des racicules d' <i>A.raddiana</i> et <i>A.nilotica</i>	51
❖ Fig.27 : Effet de la salinité sur le nombre moyen de racines secondaires.	52
❖ Fig.28. : Racines secondaires d' <i>Anilotica</i> et <i>A.raddiana</i> en concentration C0.....	53

Sommaire

Introduction

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Importance des *Pseudomonas* spp Fluorescents

1. Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp Fluorescents	3
2. Effets bénéfiques	5
2.1 Stimulation de la croissance des végétaux	6
2.1.1 Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)	7
2.1.2 Les cytokinines et les gibbérellines	7
2.1.3 Inhibition de la production de l'éthylène	7
2.1.4 Solubilisation du phosphore.....	8
2.1.5 La dénitrification par les <i>P. spp.</i> fluorescents.....	8
2.2. Biocontrôles et induction de la résistance des végétaux	9
3. Mécanisme d'action.....	9
3.1. Production des sidérophores.....	9
3.2. Production d'antibiotiques (antibiose).....	11
3.2.1. Les phénazines.....	11
3.2.2. Phloroglucinol (DAPG).....	12
3.2.3. Pyrrolnitrine (PRN).....	12
3.2.4. Pyolutéorine (PLT).....	13
3.2.5. Antibiotiques peptidiques.....	13
3.2.6. L'Oomycin A	14
3.3. Enzymes dégradant les parois fongiques.....	14
3.4. Production du Cyanure d'hydrogène (HCN)	15
3.5. La communication cellulaire « Quorum Sensing »(QS)	15

Chapitre II : Généralités sur l'Acacia17

1. Répartition des Acacias dans le monde	17
2. L'espèce <i>Acacia tortilis subsp. raddiana</i>	18
2.1 Taxonomie et position systématique	18
2.2 Répartition d' <i>A. tortilis subsp. Raddiana</i>	19
2.3 Utilisation de l'espèce et son intérêt phyto-thérapeutique	20
2.4 Impact écologique de l'espèce sur l'environnement	21
3. L'espèce <i>Acacia nilotica</i> (L.) Delile	22
3.1 Taxonomie et position systématique	22
3.2 Repartition d' <i>Acacia nilotica</i> (L.) Delile.....	23
3.3 Importance de l' <i>A. nilotica</i>	23

3.4 Intérêt et Utilisation thérapeutique	24
3.5 Impact écologique de l'espèce sur l'environnement	25

Partie II : Matériels et méthodes.

1. Caractérisation des souches bactériennes.....	26
1.1. caractérisation morphologique.....	26
1.1.1. Caractérisation macroscopique.....	26
1.1.2. Caractérisation microscopique.....	26
1.2. Caractérisation biochimique.....	27
1.2.1. Test de mobilité.....	27
1.2.2. Test catalase.....	27
1.2.3. Test oxydase.....	27
1.2.4. Utilisation du Citrate de Simmons	27
1.2.5. Test oxydation / fermentation.....	28
1.2.6. Étude des dérivés de l'acide pyruvique.....	28
2. Essai de la stimulation de la germination « <i>in vitro</i> »	28
2.1. Matériel végétal	28
2.2. Préparation des graines.....	29
2.2.1 Levée de la dormance.....	29
2.2.2 Désinfection superficielle des semences.....	29
2.2.3 Bactérisation des graines	30
2.2.4 Préparation des solutions de NaCl.....	30
2.2.5 Mise en germination	31
3. Paramètres étudiés	31
3.1 Taux de germination	31
3.2 Temps moyen de germination (TMG).....	32
3.3 Hauteur de la plumule	32
3.4 Longueur de la radicule.....	32
3.5 Indice de vigueur	33
3.6 Poids frais et sec de la plumule	33
3.7 Poids frais et sec de la radicule	33
4. Analyse statistique.....	33

Partie III : Résultats et discussion

1. Caractérisation des souches bactériennes.....	35
1.1 Caractérisation morphologique	35
1.2 Caractérisation biochimique	36
2. Effet de la salinité sur la stimulation germinative des graines	39
2.1. Résultats	39
2.1.1. Taux de germination	39
2.1.2. Vitesse moyenne de germination.....	40
2.1.3. Longueur de la radicule	41

2.1.4. Hauteur de la plumule	42
2.1.5. Indice de vigueur	45
2.1.6. Poids frais de la plumule	44
2.1.7. Poids sec de la plumule	45
2.1.8. Poids frais de la radicule	46
2.1.9. Poids sec de la radicule.....	47
2.1.10. Nombre de racines secondaires	48
2.2. Interprétation.....	49
Conclusion.....	51

Introduction

L'anthropisation croissante et l'expansion de l'agriculture intensive au dépend du secteur forestier ont conduit à une forte dégradation des systèmes écologiques dans les zones arides et semi arides (Richard, 1990 ; Pontie et Gaud, 1992), et à une salinisation des sols (Sadio, 1989; Szabolcs, 1992). Les écosystèmes de ces zones couvrent plus de 40 % du globe et affectent près de 20 % de la population mondiale (Calem, 2003). Les stress abiotiques qui caractérisent ces régions arides et semi- arides sont représentés essentiellement par la sécheresse, les hautes températures et la salinité. (Baenziger et *al.*, 2006). La salinité des sols et des eaux d'irrigation est un des facteurs limitatifs du développement et des productions agricoles. Cette dernière affecte les sols des régions arides et semi arides, et en constante progression (Djerroudi et *al.*, 2010). Faisant partie de cette aire, l'Algérie est constituée d'environ 87% de Sahara, représentant le plus grand mais également le plus sévère désert du globe (FAO, 2005).

En effet, ces facteurs climatiques combinés n'ont pas empêché le maintien en place d'une flore adaptée, voire endémique. En revanche, on rencontre très rarement des formations d'arbres se développant naturellement dans les zones arides (Chopra et *al.*, 1960). Parmi ceux là, les Acacias, qui jouent un rôle sur le plan écologique (aménagement, lutte contre la désertification et reboisement) et économique (ressources agroforestières et production de substances naturelles). (Grouzis et Le Floch, 2003). Les espèces *Acacia raddiana*, et *Acacia nilotica*, présentent des stratégies morphologiques qui leurs permettent de faire face au déficit hydrique et au stress salin (Dommergues et *al.*, 1999). Elles sont un excellent agent de fixation et d'amélioration des sols dégradés (Grouzis, 1993), et susceptibles d'être utiles pour la réhabilitation des milieux dégradés (Grouzis et Le Floch, 2003).

La compréhension des interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs. La rhizosphère est définie comme étant la zone de sol entourant la racine qui est directement ou indirectement influencée par cette dernière et qui présente une forte activité bactérienne (van Loon, 2007).

Le terme PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) désignant ces bactéries a été introduit par Kloepper et Schroth (1978). Leur utilisation est devenue une alternative écologique pour améliorer la production agricole (Vega et *al.*, 2007).

Les *Pseudomonas* Spp Fluorescents sont très largement représentés parmi les bactéries à effet PGPR qui stimulent la croissance des plantes. Ces bactéries sont aussi des agents

potentiels de lutte biologique qui ont pour effet d'améliorer la santé des plantes et sont notamment connues pour leur effet antagoniste avec les phytopathogènes (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Whipps, 2001; van Loon, 2007; Weller et *al.*, 2007).

L'objectif de ce travail consiste à mettre en évidence l'effet bénéfique de deux souches de *Pseudomonas fluorescens*, en réalisant des essais de promotion de croissance de deux espèces d'Acacia *Acacia raddiana*, et *Acacia nilotica* sous l'effet de différentes concentrations de chlorure de sodium.

L'expérimentation s'est déroulée selon les étapes suivantes :

- Caractérisation physiologique et biochimique du matériel biologique microbien appliqué.
- Essais de stimulation de la germination des graines d'*Acacia raddiana*, et *Acacia nilotica* après leur bactéristion avec deux souches B1+B2 de *Pseudomonas fluorescens*.

Le présent travail s'articule en trois parties dont la première présente une synthèse bibliographique sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents, sur *Acacia raddiana*, et *Acacia nilotica* la seconde présente le matériel et méthodes, le troisième est consacré à la présentation des résultats et leurs discussions. Le manuscrit est achevé par une conclusion.

Partie I :
Etude
bibliographique

Chapitre I : importance des *Pseudomonas* spp Fluorescents

Une partie significative des photo-synthétats de la plante est directement libérée dans le sol sous forme de molécules organiques appelées « rhizodépôts ». Ces rhizodépôts représentent de 5 à 40% des produits de la photosynthèse (Nguyen, 2009). La plante modifie donc l'environnement rhizosphérique en exsudant divers composés organiques qui activent différents groupes de microorganismes et augmentent leur prolifération (Bais et *al.*, 2006). Ainsi ces rhizodépôts constituent donc un élément majeur de perturbation de la microflore tellurique qui en retour, influence la croissance et la santé des plantes et donc, à nouveau, l'émission des rhizodépôts (Cardon et Gage, 2006). Parmi ces microorganismes, les *Pseudomonas* spp. Fluorescents, qui présentent un intérêt scientifique majeur, car ils se caractérisent par une diversité génétique et phénotypique en relation avec leur impact positif sur le fonctionnement de la rhizosphère, en exerçant des actions directes et/ou indirectes sur le développement de la plante (Couillerot et *al.*, 2009).

1. Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Palleroni, 1984 ; Moore et *al.*, 1996). Ce genre fut découvert par Migula en 1894. Il appartient au phylum des proteobacteria, l'analyse de la séquence du gène codant l'acide ribonucléique ribosomique 16S permet de diviser les protéobactéries en 5 catégories, allant de α à ε (Emerson, 2007).

Depuis la découverte du genre *Pseudomonas* beaucoup de noms d'espèces lui ont été assignés. Le nombre d'espèces a subi de nombreuses variations principalement dues à la description de nouvelles espèces et à divers changements de la définition du genre. Néanmoins, 188 espèces sont actuellement répertoriées sur (<http://www.bacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html>).

Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S fût entreprise par Anzai et *al.* (2000). En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient aux groupes des *Pseudomonas* sensu stricto; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 groupes:

- -Le groupe des *P. syringae*.
- -Le groupe des *P. chlororaphis*.
- -Le groupe des *P. fluorescens*.

- -Le groupe des *P. putida*.
- -Le groupe des *P. stutzeri*.
- -Le groupe des *P. aeruginosa*.
- -Et le groupe des *P. pertucinogena*.

Ainsi les *Pseudomonas* spp Fluorescents appartiennent à la classe des Gammaproteobacteria, famille des Pseudomonaceae, ordre des Pseudomonales (Moor et al., 2006). Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux et souvent pathogènes des animaux et des végétaux (Haas et keel, 2003).Elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne du sol (Digat et Gardan, 1987).

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).

Ce sont des bacilles à Gram négatif typiques de 0.5 µm à 1µm de diamètre sur 1.5 µm à 5µm de long, chimio hétérotrophe mobiles avec un flagelle et sont regroupés au sein d'un même groupe d'homologie asporulé, mais aussi des aérobies obligatoires à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO comme accepteur d'électrons (Bell Perkins et lynch, 2002).(annexe 1)

Ils forment un groupe diversifié de bactéries qui peuvent être généralement distinguées des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire des pigments jaunes verts solubles dans l'eau qui sont les pyoverdines (sidérophores) produites dans des milieux pauvres en fer (palleroni, 1984) et fluorescents sous l'irradiation UV (Leong, 1986) (fig. 1).

De plus, elles sont connues pour leurs aptitudes d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan (Weller et *al*, 1994) produisent des antibiotiques (Garbay, 1994; Natsch et *al*, 1994) et des enzymes hydrolytiques (Lim et *al*, 1991 ; Neilsen et Sorensens, 1999).

Les sidérophores sont sécrétés dans le milieu externe pour chélater et piéger le fer et le ramener à l'intérieur de la cellule (Guerinot, 1994), de plus, un nombre important d'espèces de plantes peut assimiler les complexes (Fe^{3+} -sidérophores) bactériens (Becker et Cook, 1988 ; Ioper, 1988 ; Bitter et *al.*, 1991).

Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, et la cellulose (Palleroni., 1984). De nombreux isolats de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* ont été cités comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes (Campbel et *al.*, 1997; Latour et *al.*, 1997).

2. Effets bénéfiques

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique, elles sont responsables de la suppression des maladies fongiques dans les cultures et stimulent la croissance des plantes (Haas et Keel, 2003). Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003)

Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant des infections phytopathogènes (Kloepper et Schroth, 1978).

De plus, elles peuvent induire une résistance systémique qui porte le nom d'ISR (**Induced Systemic Resistance**) contre un pathogène donné (Matiru et Dakora, 2004) il est également reconnu que des bactéries de la mycorrhizosphère encore appelées bactéries auxiliaires de la mycorhization stimulent sélectivement l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne (Garbaye, 1994).

Deux catégories d'effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes peuvent être distinguées (Van der heijden et *al.*, 2008) (Fig.2) :

- (I) Les effets directs via les organismes microbiens associés à la racine qui mettent en place des relations mutualistes avec les plantes.
- (II) Les effets indirects via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère qui modifient les taux d'approvisionnement en éléments nutritifs et la répartition des ressources.

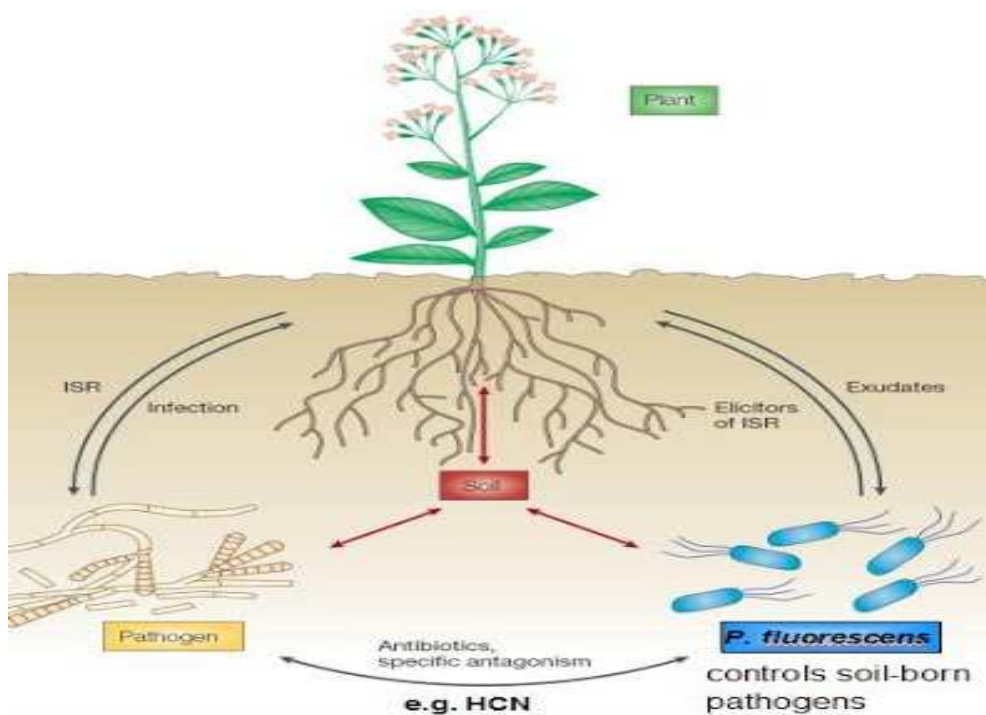


Fig.2 : Schéma simplifié représentant les interactions des *P.fluorescens* dans la rhizosphère (Haas et Défago 2005).

2.1. Stimulation de la croissance des végétaux

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents stimulent et améliorent la germination des graines et la levée des plantes particulièrement dans des conditions environnementales défavorables à la germination (Compant et al., 2005 ; Haas et Defago, 2005). Chez plusieurs espèces végétales particulièrement les espèces herbacées après leur bactérisation, la vitesse de levée a été accrue (Digat et al., 1990 ; Biswas et al, 2000 ;Matiru et Dakora, 2004 ;Sharma et al., 2007 ;Wang et al., 2012).

Ainsi, Biswas et al., (2000) ont montré que le taux de germination des graines de colza semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation de

certaines souches bactériennes. La stimulation de la croissance des plantes bactériées peut être dû à la synthèse microbienne de substance de croissance analogue aux phytohormones.

Il existe cinq catégories de régulateurs de cette croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir et *al.*, 2004).

2.1.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Cette phytohormone est reconnue comme étant une auxine impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994). Elle joue un rôle très important dans l'élongation des racines, et dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen, 2007), mais aussi dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges, et de nombreux processus mettant en jeu la différenciation cellulaire (Patten et Glick, 2002). Les *Pseudomonas* spp Fluorescents peuvent aussi stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acide indole 3-acétique (AIA) (Patten et Glick, 2002), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes et l'une des principales raisons de l'augmentation du rendement (Khakipour et *al.*, 2008).

2.1.2. Les cytokinines et les gibbérellines

Ils sont impliqués dans la modification de la morphologie des plantes et de la stimulation du développement de la partie aérienne (Van, Loon, 2008). Ces régulateurs élicitent les réactions de défense des espèces végétales de par leur forte affinité pour le fer, elles limitent la croissance saprophyte de certains microorganismes phytopathogènes (Lemanceau et *al.*, 2009). Ce sont des signaux impliqués dans la médiation du stress environnemental des racines vers les parties supérieures de la plante. La production de cytokinines a été rapportée chez *P. fluorescens* (Garcia et *al.*, 2001).

2.1.3. Inhibition de la production de l'éthylène

L'éthylène est la seule phytohormone gazeuse. Il est connu pour être l'hormone des blessures, parce que sa production dans la plante peut être induite par n'importe quelle perturbation physique ou chimique des tissus (Salisbury, 1994). Parmi ses nombreux effets sur la croissance et le développement de la plante, la production d'éthylène peut causer l'inhibition de la croissance des racines. Glick et *al* (1999) ont émis une théorie selon laquelle le mode d'action de certains PGPR serait par l'intermédiaire de (1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase). Cette enzyme

hydrolyse l'AAC précurseur immédiat de l'éthylène. L'AAC-désaminase diminuerait la production d'éthylène au niveau des racines de la plante hôte et résulterait en leurs allongements.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont des producteurs d'AAC-désaminase (Glick et al., 1994). La transformation des *Pseudomonas* spp Fluorescents par des gènes codant cette enzyme, permet à celles-ci de croître sur un milieu dont la seule source de carbone et d'azote est l'AAC, et de stimuler l'élongation des racines (Shah et al., 1998). Cette stimulation de la croissance est aussi exprimée dans des situations de stress, tels que les inondations (Grichko et Glick, 2001), ou encore dans les sols contaminés par les métaux lourds (Burd et al., 1998; Belimov et al., 2001).

2.1.4. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est comme l'un des minéraux nutritifs le plus souvent limitant la croissance des plantes (Vessey, 2003). Dans le sol, il existe deux sortes de phosphates, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles ce qui réduit sa disponibilité pour les plantes (Dehdah et al., 2015). La quantité de phosphore contenue dans la solution du sol se situe entre 0,1 et 3,7 kg/ha. Les plantes absorbent principalement les ions phosphates sous la forme de H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} . (Achat, 2009)

Les *P. spp* fluorescents peuvent solubiliser le phosphore (Rosas et al., 2006 ; Park et al., 2009). La solubilisation du phosphore par ces rhizobactéries fluorescentes peut être due à l'excrétion de protons (en assimilant l'ammonium) et la production d'acides organiques (Park et al., 2009). Il a été constaté une absorption significative du phosphore et de l'azote par les plants du poivron noir bactérisés par les *Pseudomonas* Fluorescents (Diby et al., 2005). Ces effets stimulent la croissance (Jacques et al., 1993 ; Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et al., 2004) et augmente le rendement des cultures (Rodríguez et Fraga, 1999).

2.1.5. La dénitrification par les *P. spp. Fluorescents*

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. La dénitrification est composée de quatre réactions par lesquelles les nitrates sont réduits en di nitrogène (N_2), par des métallo-enzymes comme la nitrate réductase, nitrite réductase, oxyde nitrique réductase, et l'oxyde nitreux réductase. Les *Pseudomonas spp. fluorescens* sont les dénitrifiants les plus communs des sols des régions tempérées (Gamble et al., 1977). Ils sont

capables de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988). La respiration sur nitrate et la réduction des nitrites sont impliquées dans la compétition des souches modèles de *Pseudomonas fluorescens* dans le sol (Philippot et al., 1995; Ghiglione, 2000).

2.2. Biocontrôles et induction de la résistance des végétaux

La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines (Zahir et al., 2004). Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter (Schroth et Hildenbrand, 1992). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes (Loper et Schroth, 1986).

Les *pseudomonas* peuvent renforcer la résistance des plantes, en induisant une capacité défensive naturelle. Ce qui confère à l'hôte une meilleure tolérance vis-à-vis des attaques ultérieures par les agents pathogènes (Bakker et al., 2007). Les *Pseudomonas fluorescens* sont capables de synthétiser différents métabolites secondaires, qui peuvent influencer positivement la croissance des plantes, et sont impliqués également dans les relations de reconnaissance entre ces bactéries et les plantes (Sturz et Christie, 2003; Zahir et al., 2004).

3. Mécanisme d'action

3.1. Production des sidérophores

Le terme sidérophore désigne les molécules qui transportent le fer (En grec, sidéro: fer ; phore: porteur). Les sidérophores sont des molécules extra cellulaires de faible poids moléculaire de 500 à 1000 daltons (Leong, 1986 ; Weller, 1988) qui possèdent une grande affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}), ce dernier est présent dans le sol à faible concentration sous forme de $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Les sidérophores des deux espèces *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent jaunes-vert nommé **pyoverdines** (PVDs) ou **pseudobactines** (Budzikiewicz, 1993, 1997), qui forment avec le fer (Fe^{3+}) un complexe : ferripyoverdine ou ferripseudobactine, dont la constante de stabilité est égale à environ 10 à 32 (Teinze et al., 1981)(Fig.3). Ce dernier est reconnu de façon plus ou moins spécifique par des protéines membranaires réceptrices (Marugg et al., 1989 ; Bitter et al., 1991 ; Hofte, 1993). Un nombre important d'espèces de plantes peuvent assimiler les complexes (Fe^{3+} - sidérophore) bactériens (Becker et Cook, 1988; Loper, 1988; Bitter et al., 1991).

A côté des *Pseudomonas* spp Fluorescents, certains champignons produisent des sidérophores fongiques tel que les **fusarinines** synthétisés par *Fusarium oxysporum* (Emery, 1965 ;Lemanceau et al., 1986 ;Loper et Henkels, 1999) et qui ont une affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}) dont la constante de stabilité est de 10 à 29 donc inférieure aux pyovérédines (Lemanceau, 1988). De ce fait, les *Pseudomonas fluorescens* sont plus aptes à mobiliser le fer que le *Fusarium* (Lemanceau, 1988) par conséquent le fer disponible sera limité au *fusarium* (Kloepper et al., 1980; Bakker et al., 1986; Mayer et al., 1987; Loper et Buyer, 1991).

L'importance des sidérophores est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crossa et Walsh, 2002) et assure un biocontrôle des agents phytopathogènes et une forme assimilable du fer pour les plantes Dahdah et al., 2015).

Ainsi, cette compétition pour le fer a été proposée comme un mécanisme de suppression de plusieurs champignons tel que le *fusarium oxysporum* (agent de la fusariose vasculaire) par la production de sidérophores par les *pseudomonas* spp Fluorescents (Elad, Leong, 1987).

3.2. Production d'antibiotiques (antibiose)

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et al., 1987).

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action sur des agents fongiques telluriques (Keel et *al.*, 1991). Parmi ces antibiotiques :

3.2.1. Les phénazines

Les phénazines sont des pigments hétérocycliques azotés intensément colorés, produits par différentes souches bactériennes (Leisinger et Margraff 1979; Budzikiewicz, 1993; Stevans et *al.*, 1994)(Fig.4). Ces hétérocycles expriment un large spectre d'activité sur les bactéries et les champignons (Smirnov et Kiprianova, 1990). Les phénazines jouent aussi un rôle dans la compétition rhizosphérique, incluant la survie et la compétence des bactéries productrices (Mazzola et *al.*, 1992).

La phénazine-1-carboxylate (PCA), a été rapporté chez les *Pseudomonas spp. fluorescens*, comme *P. fluorescens* (Gurusiddaiah et *al.*, 1986), *P. chlororaphis* (Pierson et Thomashow, 1992) et *P. aeruginosa* (Anjaiah et *al.*, 1998).

L'efficacité de la PCA a été démontrée contre un nombre de champignons phytopathogènes comme *Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Pythium sp.*, *Polyporus sp.*, *Rhizoctonia solani*, et les bactéries pathogènes comme *Actinomyces viscosus*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia amylovora* (Gurusiddaiah et *al.*, 1986; Thomashow et *al.*, 1990).

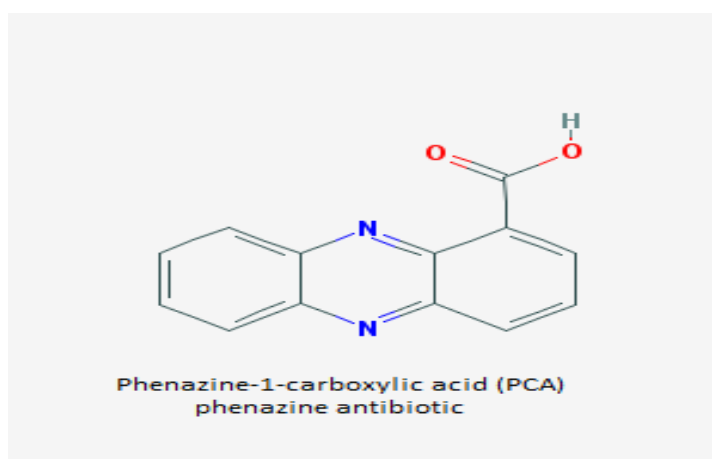


Fig.4 : Structure chimique de la phénazine-1-carboxylate (PCA) (Paciaroni et *al.*, 2015).

3.2.2. Phloroglucinol (DAPG)

Les phloroglucinols sont des antibiotiques à large spectre, produits par une large variété de souches bactériennes. Le 2,4-diacétyl phloroglucinol (DAPG) (Fig.5) est aussi un antibiotique phénolique à large spectre d'action produit par *P. fluorescens* Pf-5 (Howell et Stipanovic, 1979), *P. fluorescens* F113 (Fenton et al., 1992), *P. fluorescens* CHAO (Keel et al., 1992) et *P. fluorescens* Q2-87 (Banger et Thomashow, 1996).

Cet antibiotique possède aussi une activité herbicide, ressemblant à l'acide 2, 4dichlorophénoxyacétique (2, 4-D) un herbicide de post-émergence, pour le contrôle des mauvaises herbes des céréales, de la canne à sucre et d'autres plantations. Le DAPG induit aussi la résistance systémique chez les plantes, et joue donc le rôle d'un éliciteur des phytoalexines (Dwivedi et Johri 2003). Ainsi L'ISR peut être déclenchée en réponse à la perception de 2,4-diacetylphloroglucinol (Iavicoli et al., 2003).

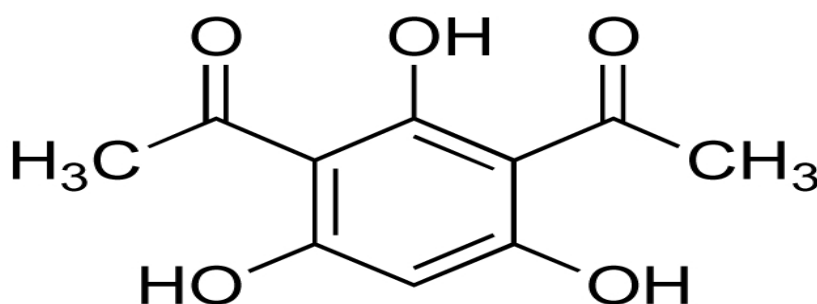


Fig.5 : Structure chimique du 2,4-diacétyl phloroglucinol (Thomashow et al., 1999).

3.2.3. Pyrrolnitrine (PRN)

La pyrrolnitrine (PRN) (3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl) (Fig6) est un composé pyrrole qui est produit par les *Pseudomonas* spp. Fluorescents comme *P. fluorescens* (Kirner et al., 1998) et *P. chlororaphis* (Elander et al., 1968). La pyrrolnitrine a trouvé son application comme composé à usage clinique pour le traitement des mycoses cutanées plutôt que fongicide agricole (Hammer et al., 1997; Mc-Spadden Gardener et Fravel, 2002).

La production de ce composé par *P. fluorescens* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes racinaires comme *Rhizoctonia solani*, *Verticilium dahliae*,

Gaeumannomyces graminis et *Fusarium oxysporum* (Howell et Stipatovic1979, Homma et *al.*, 1989).

3.2.4. Pyolutéorine (PLT)

La pyolutéorine, un autre antibiotique produit par les différents *Pseudomonas*. Les souches produisant la PLT sont à l'origine de la suppression de nombreuses maladies telluriques (Howell et Stipanovic 1980; Défago et *al.*, 1990; Maurhofer et *al.*, 1994). Cette molécule, isolée pour la première fois chez *P. aeruginosa*, possédant un pouvoir fongitoxique efficace contre les oomycètes, notamment *Pythium ultimum* (Maurhofer et *al.*, 1992).

Son rôle dans la suppression d'agents phytopathogènes a été étudié surtout chez les souches de *P. fluorescens* CHAO et Pf-5 qui produisent également le DAPG et la pyrrolnitrine (Sarniguet et *al.*, 1995). Une quantité de 10µg appliquée à la surface des graines de coton permet de les prémunir contre la fonte des semis (Bender et *al.*, 1999).

3.2.5. Antibiotiques peptidiques

Les antibiotiques peptidiques sont aussi bien produits par les bactéries à Gram positif (Katz et Demain, 1977) que par celles à Gram-négatif (Dowling et O'Gara, 1994), par une synthèse multienzymatique non-ribosomique NRPS (non-ribosomal peptides synthétase) (Kleinkauf et Dohren, 1996). Récemment, il a été démontré que des *Pseudomonas spp Fluorescents* produisent des lipopeptides cycliques (CLPs). La tensine produite par *P. fluorescens* 96.578, a montré un effet

potentiel sur le basidiomycète *Rhizoctonia solani* (Nielsen et al., 2000). La Viscosinamide un autre lipopeptide cyclique produit par *P. fluorescens* DR54 (Nielsen et al., 1999), est aussi actif sur *R.solani* par la réduction de la biomasse mycélienne et donc la formation de sclérotés (Thane et al., 2000).

3.2.6. L'Oomycin A

L'Oomycin A est un antibiotique produit par *P. fluorescens* HV37a, est à l'origine de la suppression du damping-off du coton causé par *Pythium ultimum* (Gutterson et al., 1988).

Ces composés démontrent tous une activité antagoniste contre *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani* (Nielsen et al., 1999). En plus de leur rôle antimicrobien, les antibiotiques favorisent le déclenchement de la résistance systémique (ISR) (Maurhofer et al., 1992; Fernando et al., 2005).

3.3. Enzymes dégradant les parois fongiques

L'excrétion d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques est fréquemment impliquée dans les attaques des champignons phytopathogènes (Martin et Loper 1999; Nielsen et Sorensen, 1998; Picard et al., 2000).

La lyse des parois cellulaires, par les enzymes dégradantes excrétées par les microorganismes est une fonction bien connue du mycoparasitisme. La Chitinase, la β -1,3 glucanase et la cellulase sont d'importantes enzymes spécialement dans le contrôle fongique, par leurs activités dégradantes des composés des parois cellulaires tels que : la chitine, le β 1-6 glucane et les ponts glucosidiques (Schroth et Hancock, 1981; Chet, 1987; Lorito et al., 1996). Les microorganismes excrétant la chitinase ont été rapportés comme des agents de biocontrôle efficaces (Ordentlich et al., 1988; Inbar et Chet, 1991). Le contrôle biologique de *Fusarium solani*, se fait essentiellement via les activités des laminarinase et chitinase chez *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 (Lim et al., 1991). *P.cepacia* produisant la β -1,3 glucanase, réduit l'incidence des maladies causées par *R. solani*, *Pythium. ultimum* et *Sclerotium rolfsii* (Fridlender et al, 1993). Nielson et al., (1998) ont rapporté que dans la rhizosphère de la betterave à sucre, les *Pseudomonas spp. fluorescens* inhibaient *Rhizoctonia solani* par production d'endochitinase.

3.4. Production du Cyanure d'hydrogène (HCN) :

Le Cyanure d'hydrogène est un métabolite secondaire produit par les protéobactéries impliqué dans la suppression d'agents pathogènes (Laville et al., 1998).

En effet La production d' HCN a été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas spp. fluorescens* (Askeland et Moeisson ,1983) qui jouent un rôle important dans la limitation du développement des pathogènes telluriques (O'sullivan et O'gana, 1992)

La production d' 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 production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments. Par exemple, le HCN cause une augmentation de l'exsudation de nutriments par les tissus de la plante (Ellis et al., 2000).

Il peut aussi contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer 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).

La HCN synthase est une protéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de CO₂ à partir de la glycine. Cette enzyme est codée par trois gènes structuraux (*hcnA*, *hcnB*, *hcnC*) séquencés chez *P. aeruginosa* PAO1 et chez *P. fluorescens* CHAO (Ramette et al., 2003)

3.5. La communication cellulaire « Quorum Sensing »(QS) :

Dans leurs actions phytostimulatrice et de biocontrôle, les *P. fluorescens* forment des microcolonies qui constituent un biofilm sur les sites préférés des exsudats racinaires (Choudhary et Johria, 2009). Ces microcolonies communiquent les unes avec les autres selon le processus biologique : Quorum Sensing (QS) et agissent de manière coordonnée (Choudhary et Johria, 2009 ; Babalola, 2010). Le QS est un mécanisme de communication entre les cellules, il est utilisé par de nombreuses bactéries afin de surveiller leur densité de population et pour réguler l'expression des gènes (Miller et Bassler, 2001; Keller et Surette, 2006). Chez les bactéries à Gram négatif, le QS implique la production des N-acyl homoserines lactones (AHL) (Steindler et al., 2008). Les AHL sont des molécules auto inductrices qui s'accumulent dans le milieu extracellulaire, lorsque le nombre de ces molécules atteint un seuil de concentration critique (le quorum), la réponse se déclenche en menant à l'expression des gènes (Sharma et al., 2003). La régulation par le QS joue un rôle primordial dans la physiologie et le développement des bactéries (Miller et Bassler, 2001). Ce phénomène contrôle plusieurs phénotypes dans l'interaction plantes-bactéries pathogènes (Von Bodman et al., 2003), il contrôle également les phénotypes liés aux PGPR : la production des composés antimicrobiens,

l'induction de résistance systémique chez les plantes (Liu et *al.*, 2008 ; Girard et *al.*, 2006) et la production des sidérophores (Cornelis, 2008).

Chapitre I : importance des *Pseudomonas* spp Fluorescents

Une partie significative des photo-synthétats de la plante est directement libérée dans le sol sous forme de molécules organiques appelées « rhizodépôts ». Ces rhizodépôts représentent de 5 à 40% des produits de la photosynthèse (Nguyen, 2009). La plante modifie donc l'environnement rhizosphérique en exsudant divers composés organiques qui activent différents groupes de microorganismes et augmentent leur prolifération (Bais et *al.*, 2006). Ainsi ces rhizodépôts constituent donc un élément majeur de perturbation de la microflore tellurique qui en retour, influence la croissance et la santé des plantes et donc, à nouveau, l'émission des rhizodépôts (Cardon et Gage, 2006). Parmi ces microorganismes, les *Pseudomonas* spp. Fluorescents, qui présentent un intérêt scientifique majeur, car ils se caractérisent par une diversité génétique et phénotypique en relation avec leur impact positif sur le fonctionnement de la rhizosphère, en exerçant des actions directes et/ou indirectes sur le développement de la plante (Couillerot et *al.*, 2009).

1. Généralités sur les *Pseudomonas* spp Fluorescents

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Palleroni, 1984 ; Moore et *al.*, 1996). Ce genre fut découvert par Migula en 1894. Il appartient au phylum des proteobacteria, l'analyse de la séquence du gène codant l'acide ribonucléique ribosomique 16S permet de diviser les protéobactéries en 5 catégories, allant de α à ϵ (Emerson, 2007).

Depuis la découverte du genre *Pseudomonas* beaucoup de noms d'espèces lui ont été assignés. Le nombre d'espèces a subi de nombreuses variations principalement dues à la description de nouvelles espèces et à divers changements de la définition du genre. Néanmoins, 188 espèces sont actuellement répertoriées sur (<http://www.bacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html>).

Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S fût entreprise par Anzai et *al.* (2000). En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient aux groupes des *Pseudomonas* sensu stricto; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 groupes:

- -Le groupe des *P. syringae*.
- -Le groupe des *P. chlororaphis*.
- -Le groupe des *P. fluorescens*.

- -Le groupe des *P. putida*.
- -Le groupe des *P. stutzeri*.
- -Le groupe des *P. aeruginosa*.
- -Et le groupe des *P. pertucinogena*.

Ainsi les *Pseudomonas* spp Fluorescents appartiennent à la classe des Gammaproteobacteria, famille des Pseudomonaceae, ordre des Pseudomonales (Moor et al., 2006). Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux et souvent pathogènes des animaux et des végétaux (Haas et keel, 2003). Elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne du sol (Digat et Gardan, 1987).

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-diaïne (Lelliot et al., 1966).

Ce sont des bacilles à Gram négatif typiques de 0.5 µm à 1µm de diamètre sur 1.5 µm à 5µm de long, chimio hétérotrophe mobiles avec un flagelle et sont regroupés au sein d'un même groupe d'homologie asporulé, mais aussi des aérobies obligatoires à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO comme accepteur d'électrons (Bell Perkins et lynch, 2002).(annexe 1)

Ils forment un groupe diversifié de bactéries qui peuvent être généralement distinguées des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire des pigments jaunes verts solubles dans l'eau qui sont les pyoverdines (sidérophores) produites dans des milieux pauvres en fer (palleroni, 1984) et fluorescents sous l'irradiation UV (Leong, 1986) (fig. 1).



Fig. 1 : *Pseudomonas spp fluorescens* souches de 24 heures (Ninjatacoshell, 2010).

De plus, elles sont connues pour leurs aptitudes d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan (Weller et *al*, 1994) produisent des antibiotiques (Garbay, 1994; Natsch et *al*, 1994) et des enzymes hydrolytiques (Lim et *al*, 1991 ; Neilsen et Sorensens, 1999).

Les sidérophores sont sécrétés dans le milieu externe pour chélater et piéger le fer et le ramener à l'intérieur de la cellule (Guerinot, 1994), de plus, un nombre important d'espèces de plantes peut assimiler les complexes (Fe^{3+} -sidérophores) bactériens (Becker et Cook, 1988 ; Ioper, 1988 ; Bitter et *al*,. 1991).

Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, et la cellulose (Palleroni., 1984). De nombreux isolats de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* ont été cités comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes (Campbel et *al*, 1997; Latour et *al*,.1997).

2. Effets bénéfiques

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique, elles sont responsables de la suppression des maladies fongiques dans les cultures et stimulent la croissance des plantes (Haas et Keel, 2003). Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003)

Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant des infections phytopathogènes (Kloepper et Schroth, 1978).

De plus, elles peuvent induire une résistance systémique qui porte le nom d'ISR (**Induced Systemic Resistance**) contre un pathogène donné (Matiru et Dakora, 2004) il est également reconnu que des bactéries de la mycorrhizosphère encore appelées bactéries auxiliaires de la mycorrhization stimulent sélectivement l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne (Garbaye, 1994).

Deux catégories d'effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes peuvent être distinguées (Van der heijden et *al*,. 2008) (Fig.2) :

- (I) Les effets directs via les organismes microbiens associés à la racine qui mettent en place des relations mutualistes avec les plantes.
- (II) Les effets indirects via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère qui modifient les taux d'approvisionnement en éléments nutritifs et la répartition des ressources.

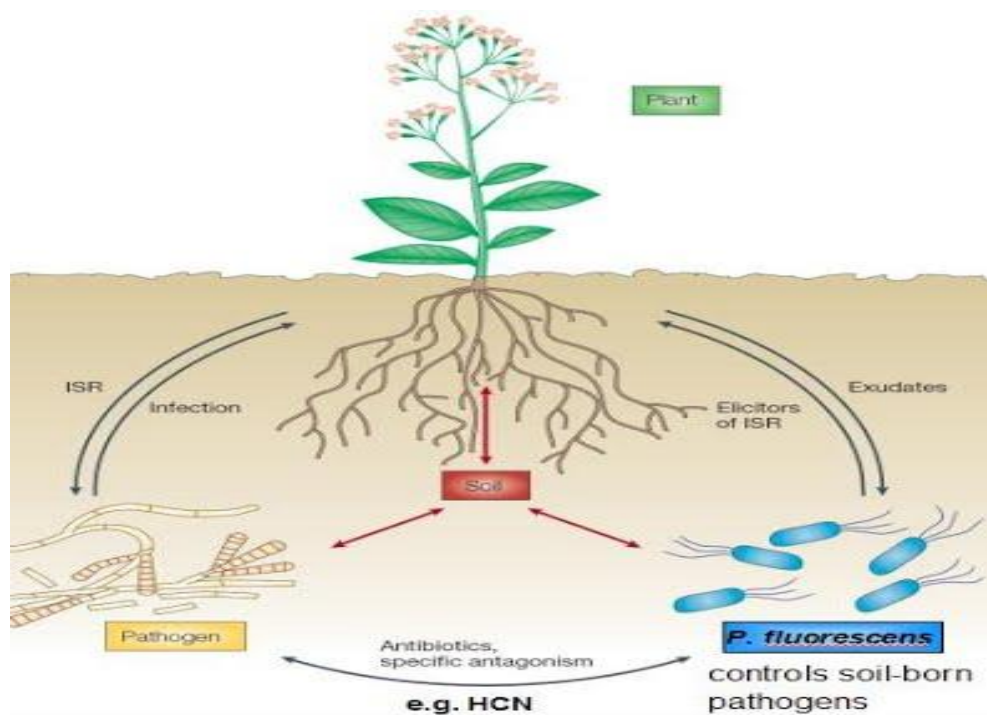


Fig.2 : Schéma simplifié représentant les interactions des *P. fluorescens* dans la rhizosphère (Haas et Défago 2005).

2.1. Stimulation de la croissance des végétaux

Les *Pseudomonas* spp Fluorescents stimulent et améliorent la germination des graines et la levée des plantes particulièrement dans des conditions environnementales défavorables à la germination (Compant et *al.*, 2005 ; Haas et Defago, 2005). Chez plusieurs espèces végétales particulièrement les espèces herbacées après leur bactérisation, la vitesse de levée a été accrue (Digat et *al.*, 1990 ; Biswas et *al.*, 2000 ; Matiru et Dakora, 2004 ; Sharma et *al.*, 2007 ; Wang et *al.*, 2012).

Ainsi, Biswas et *al.*, (2000) ont montré que le taux de germination des graines de colza semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation de

certaines souches bactériennes. La stimulation de la croissance des plantes bactérisées peut être dû à la synthèse microbienne de substance de croissance analogue aux phytohormones.

Il existe cinq catégories de régulateurs de cette croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir et *al.*, 2004).

2.1.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Cette phytohormone est reconnue comme étant une auxine impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994). Elle joue un rôle très important dans l'élongation des racines, et dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen, 2007), mais aussi dans le contrôle de la croissance des fruits, de la dominance apicale, de l'élongation des tiges, et de nombreux processus mettant en jeu la différenciation cellulaire (Patten et Glick, 2002). Les *Pseudomonas* spp Fluorescents peuvent aussi stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acide indole 3-acétique (AIA) (Patten et Glick, 2002), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes et l'une des principales raisons de l'augmentation du rendement (Khakipour et *al.*, 2008).

2.1.2. Les cytokinines et les gibbérellines

Ils sont impliqués dans la modification de la morphologie des plantes et de la stimulation du développement de la partie aérienne (Van, Loon, 2008). Ces régulateurs élicitent les réactions de défense des espèces végétales de par leur forte affinité pour le fer, elles limitent la croissance saprophyte de certains microorganismes phytopathogènes (Lemanceau et *al.*, 2009). Ce sont des signaux impliqués dans la médiation du stress environnemental des racines vers les parties supérieures de la plante. La production de cytokinines a été rapportée chez *P. fluorescens* (Garcia et *al.*, 2001).

2.1.3. Inhibition de la production de l'éthylène

L'éthylène est la seule phytohormone gazeuse. Il est connu pour être l'hormone des blessures, parce que sa production dans la plante peut être induite par n'importe quelle perturbation physique ou chimique des tissus (Salisbury, 1994). Parmi ses nombreux effets sur la croissance et le développement de la plante, la production d'éthylène peut causer l'inhibition de la croissance des racines. Glick et *al* (1999) ont émis une théorie selon laquelle le mode d'action de certains PGPR serait par l'intermédiaire de (1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase). Cette enzyme

hydrolyse l'AAC précurseur immédiat de l'éthylène. L'AAC-désaminase diminuerait la production d'éthylène au niveau des racines de la plante hôte et résulterait en leurs allongements.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont des producteurs d'AAC-désaminase (Glick et al., 1994). La transformation des *Pseudomonas* spp Fluorescents par des gènes codant cette enzyme, permet à celles-ci de croître sur un milieu dont la seule source de carbone et d'azote est l'AAC, et de stimuler l'élongation des racines (Shah et al., 1998). Cette stimulation de la croissance est aussi exprimée dans des situations de stress, tels que les inondations (Grichko et Glick, 2001), ou encore dans les sols contaminés par les métaux lourds (Burd et al., 1998; Belimov et al., 2001).

2.1.4. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est comme l'un des minéraux nutritifs le plus souvent limitant la croissance des plantes (Vessey, 2003). Dans le sol, il existe deux sortes de phosphates, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles ce qui réduit sa disponibilité pour les plantes (Dehdah et al., 2015). La quantité de phosphore contenue dans la solution du sol se situe entre 0,1 et 3,7 kg/ha. Les plantes absorbent principalement les ions phosphates sous la forme de H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} . (Achat, 2009)

Les *P. spp* fluorescents peuvent solubiliser le phosphore (Rosas et al., 2006 ; Park et al., 2009). La solubilisation du phosphore par ces rhizobactéries fluorescentes peut être due à l'excrétion de protons (en assimilant l'ammonium) et la production d'acides organiques (Park et al., 2009). Il a été constaté une absorption significative du phosphore et de l'azote par les plants du poivron noir bactérisés par les *Pseudomonas* Fluorescents (Diby et al., 2005). Ces effets stimulent la croissance (Jacques et al., 1993 ; Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et al., 2004) et augmente le rendement des cultures (Rodríguez et Fraga, 1999).

2.1.5. La dénitrification par les *P. spp. Fluorescents*

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. La dénitrification est composée de quatre réactions par lesquelles les nitrates sont réduits en di nitrogène (N_2), par des métallos-enzymes comme la nitrate réductase, nitrite réductase, oxyde nitrique réductase, et l'oxyde nitreux réductase. Les *Pseudomonas spp. fluorescens* sont les dénitrifiants les plus communs des sols des régions tempérées (Gamble et al., 1977). Ils sont

capables de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988). La respiration sur nitrate et la réduction des nitrites sont impliquées dans la compétition des souches modèles de *Pseudomonas fluorescens* dans le sol (Philippot et al., 1995; Ghiglione, 2000).

2.2. Biocontrôles et induction de la résistance des végétaux

La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines (Zahir et al., 2004). Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter (Schroth et Hildenbrand, 1992). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes (Loper et Schroth, 1986).

Les *pseudomonas* peuvent renforcer la résistance des plantes, en induisant une capacité défensive naturelle. Ce qui confère à l'hôte une meilleure tolérance vis-à-vis des attaques ultérieures par les agents pathogènes (Bakker et al., 2007). Les *Pseudomonas fluorescens* sont capables de synthétiser différents métabolites secondaires, qui peuvent influencer positivement la croissance des plantes, et sont impliqués également dans les relations de reconnaissance entre ces bactéries et les plantes (Sturz et Christie, 2003; Zahir et al., 2004).

3. Mécanisme d'action

3.1. Production des sidérophores

Le terme sidérophore désigne les molécules qui transportent le fer (En grec, sidéro: fer ; phore: porteur). Les sidérophores sont des molécules extra cellulaires de faible poids moléculaire de 500 à 1000 daltons (Leong, 1986 ; Weller, 1988) qui possèdent une grande affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}), ce dernier est présent dans le sol à faible concentration sous forme de $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Les sidérophores des deux espèces *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent jaunes-vert nommé **pyoverdines** (PVDs) ou **pseudobactines** (Budzikiewicz, 1993, 1997), qui forment avec le fer (Fe^{3+}) un complexe : ferripyoverdine ou ferripseudobactine, dont la constante de stabilité est égale à environ 10 à 32 (Teinze et al., 1981)(Fig.3). Ce dernier est reconnu de façon plus ou moins spécifique par des protéines membranaires réceptrices (Marugg et al., 1989 ; Bitter et al., 1991 ; Hofte, 1993). Un nombre important d'espèces de plantes peuvent assimiler les complexes (Fe^{3+} - sidérophore) bactériens (Becker et Cook, 1988; Loper, 1988; Bitter et al., 1991).

A côté des *Pseudomonas* spp Fluorescents, certains champignons produisent des sidérophores fongiques tel que les **fusarinines** synthétisés par *Fusarium oxysporum* (Emery, 1965 ;Lemanceau et *al.*, 1986 ;Loper et Henkels, 1999) et qui ont une affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}) dont la constante de stabilité est de 10 à 29 donc inférieure aux pyovérdirines (Lemanceau, 1988). De ce fait, les *Pseudomonas fluorescens* sont plus aptes à mobiliser le fer que le *Fusarium* (Lemanceau, 1988) par conséquent le fer disponible sera limité au *fusarium* (Kloepper et *al.*, 1980; Bakker et *al.*, 1986; Mayer et *al.*, 1987; Loper et Buyer, 1991).

L'importance des sidérophores est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crossa et Walsh, 2002) et assure un biocontrôle des agents phytopathogènes et une forme assimilable du fer pour les plantes Dahdah et *al.*, 2015).

Ainsi, cette compétition pour le fer a été proposée comme un mécanisme de suppression de plusieurs champignons tel que le *fusarium oxysporum* (agent de la fusariose vasculaire) par la production de sidérophores par les *pseudomonas* spp Fluorescents (Elad, Leong, 1987).

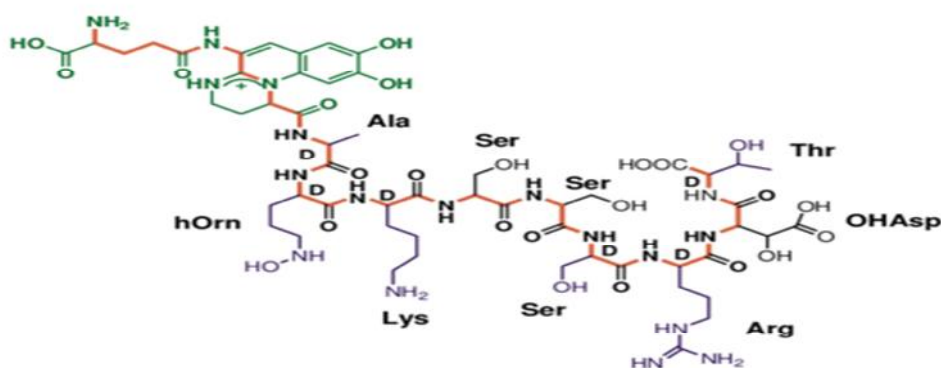


Fig.3 : Structure chimique de la pyovérdirine de *P. fluorescens* (Ravel et Cornelis, 2003).

3.2. Production d'antibiotiques (antibiose)

L'antibiose est défini comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et *al.*, 1987).

Les *Pseudomonas* fluorescents sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action sur des agents fongiques telluriques (Keel et al., 1991). Parmi ces antibiotiques :

3.2.1. Les phénazines

Les phénazines sont des pigments hétérocycliques azotés intensément colorés, produits par différentes souches bactériennes (Leisinger et Margraff 1979; Budzikiewicz, 1993; Stevans et al., 1994)(Fig.4). Ces hétérocycles expriment un large spectre d'activité sur les bactéries et les champignons (Smirnov et Kiprianova, 1990). Les phénazines jouent aussi un rôle dans la compétition rhizosphérique, incluant la survie et la compétence des bactéries productrices (Mazzola et al., 1992).

La phénazine-1-carboxylate (PCA), a été rapporté chez les *Pseudomonas spp. fluorescens*, comme *P. fluorescens* (Gurusiddaiah et al., 1986), *P. chlororaphis* (Pierson et Thomashow, 1992) et *P. aeruginosa* (Anjaiah et al., 1998).

L'efficacité de la PCA a été démontrée contre un nombre de champignons phytopathogènes comme *Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Pythium sp.*, *Polyporus sp.*, *Rhizoctonia solani*, et les bactéries pathogènes comme *Actinomyces viscosus*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia amylovora* (Gurusiddaiah et al., 1986; Thomashow et al., 1990).

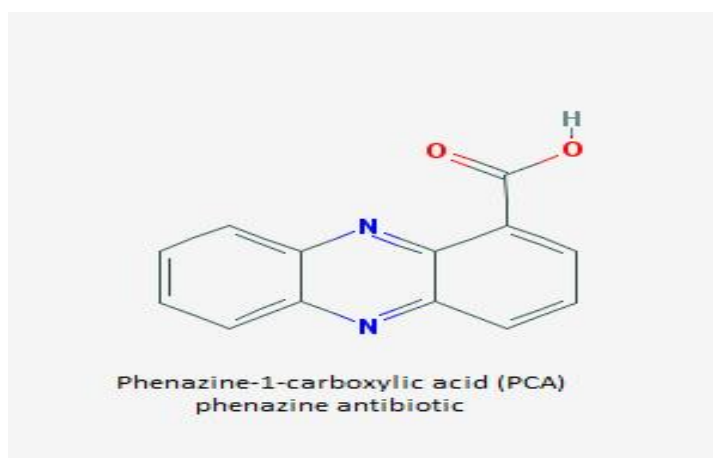


Fig.4 : Structure chimique de la phénazine-1-carboxylate (PCA) (Paciaroni et al., 2015).

3.2.2. Phloroglucinol (DAPG)

Les phloroglucinols sont des antibiotiques à large spectre, produits par une large variété de souches bactériennes. Le 2,4-diacétyl phloroglucinol (DAPG) (Fig.5) est aussi un antibiotique phénolique à large spectre d'action produit par *P. fluorescens* Pf-5 (Howell et Stipanovic, 1979), *P. fluorescens* F113 (Fenton et al., 1992), *P. fluorescens* CHAO (Keel et al., 1992) et *P. fluorescens* Q2-87 (Bangera et Thomashow, 1996).

Cet antibiotique possède aussi une activité herbicide, ressemblant à l'acide 2, 4dichlorophénoxyacétique (2, 4-D) un herbicide de post-émergence, pour le contrôle des mauvaises herbes des céréales, de la canne à sucre et d'autres plantations. Le DAPG induit aussi la résistance systémique chez les plantes, et joue donc le rôle d'un éliciteur des phytoalexines (Dwivedi et Johri 2003). Ainsi L'ISR peut être déclenchée en réponse à la perception de 2,4-diacetylphloroglucinol (Iavicoli et al., 2003).

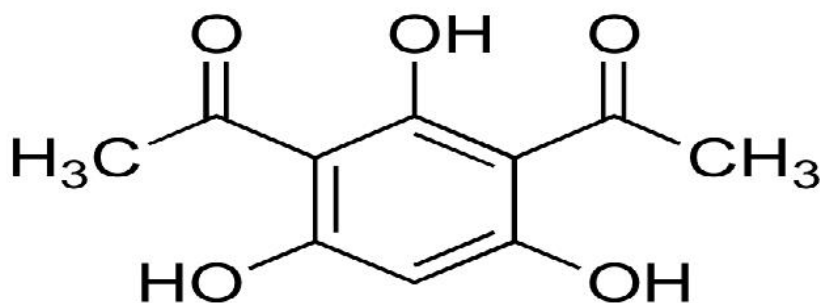


Fig.5 : Structure chimique du 2,4-diacétyl phloroglucinol (Thomashow et al., 1999).

3.2.3. Pyrrolnitrine (PRN)

La pyrrolnitrine (PRN) (3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl) (Fig6) est un composé pyrrole qui est produit par les *Pseudomonas* spp. Fluorescents comme *P. fluorescens* (Kirner et al., 1998) et *P. chlororaphis* (Elander et al., 1968). La pyrrolnitrine a trouvé son application comme composé à usage clinique pour le traitement des mycoses cutanées plutôt que fongicide agricole (Hammer et al., 1997; Mc-Spadden Gardener et Fravel, 2002).

La production de ce composé par *P. fluorescens* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes racinaires comme *Rhizoctonia solani*, *Verticilium dahliae*,

Gaeumannomyces graminis et *Fusarium oxysporum* (Howell et Stipatovic1979, Homma et *al.*, 1989).

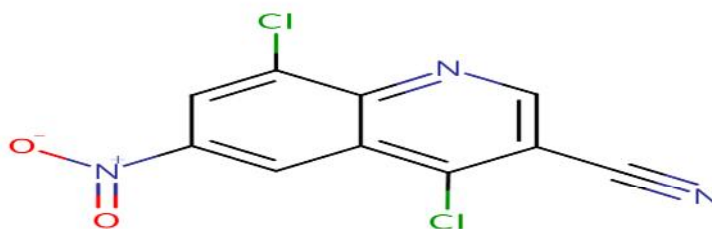


Fig.6 : Structure chimique du 3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl)
(Laurentis et *al.*, 2006).

3.2.4. Pyolutéorine (PLT)

La pyolutéorine, un autre antibiotique produit par les différents *Pseudomonas*. Les souches produisant la PLT sont à l'origine de la suppression de nombreuses maladies telluriques (Howell et Stipanovic 1980; Défago et *al.*, 1990; Maurhofer et *al.*, 1994). Cette molécule, isolée pour la première fois chez *P. aeruginosa*, possédant un pouvoir fongitoxique efficace contre les oomycètes, notamment *Pythium ultimum* (Maurhofer et *al.*, 1992).

Son rôle dans la suppression d'agents phytopathogènes a été étudié surtout chez les souches de *P. fluorescens* CHAO et Pf-5 qui produisent également le DAPG et la pyrrolnitrine (Sarniguet et *al.*, 1995). Une quantité de 10µg appliquée à la surface des graines de coton permet de les prémunir contre la fonte des semis (Bender et *al.*, 1999).

3.2.5. Antibiotiques peptidiques

Les antibiotiques peptidiques sont aussi bien produits par les bactéries à Gram positif (Katz et Demain, 1977) que par celles à Gram-négatif (Dowling et O'Gara, 1994), par une synthèse multienzymatique non-ribosomique NRPS (non-ribosomal peptides synthétase) (Kleinkauf et Dohren, 1996). Récemment, il a été démontré que des *Pseudomonas spp Fluorescents* produisent des lipopeptides cycliques (CLPs). La tensine produite par *P. fluorescens* 96.578, a montré un effet

potentiel sur le basidiomycète *Rhizoctonia solani* (Nielsen et al., 2000). La Viscosinamide un autre lipopeptide cyclique produit par *P. fluorescens* DR54 (Nielsen et al., 1999), est aussi actif sur *R. solani* par la réduction de la biomasse mycélienne et donc la formation de sclérotés (Thane et al., 2000).

3.2.6. L'Oomycin A

L'Oomycin A est un antibiotique produit par *P. fluorescens* HV37a, est à l'origine de la suppression du damping-off du coton causé par *Pythium ultimum* (Gutterson et al., 1988).

Ces composés démontrent tous une activité antagoniste contre *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani* (Nielsen et al., 1999). En plus de leur rôle antimicrobien, les antibiotiques favorisent le déclenchement de la résistance systémique (ISR) (Maurhofer et al., 1992; Fernando et al., 2005).

3.3. Enzymes dégradant les parois fongiques

L'excrétion d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques est fréquemment impliquée dans les attaques des champignons phytopathogènes (Martin et Loper 1999; Nielsen et Sorensen, 1998; Picard et al., 2000).

La lyse des parois cellulaires, par les enzymes dégradantes excrétées par les microorganismes est une fonction bien connue du mycoparasitisme. La Chitinase, la β -1,3 glucanase et la cellulase sont d'importantes enzymes spécialement dans le contrôle fongique, par leurs activités dégradantes des composés des parois cellulaires tels que : la chitine, le β 1-6 glucane et les ponts glucosidiques (Schroth et Hancock, 1981; Chet, 1987; Lorito et al., 1996). Les microorganismes excrétant la chitinase ont été rapportés comme des agents de biocontrôle efficaces (Ordentlich et al., 1988; Inbar et Chet, 1991). Le contrôle biologique de *Fusarium solani*, se fait essentiellement via les activités des laminarinase et chitinase chez *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 (Lim et al., 1991). *P. cepacia* produisant la β -1,3 glucanase, réduit l'incidence des maladies causées par *R. solani*, *Pythium. ultimum* et *Sclerotium rolfsii* (Fridlender et al, 1993). Nielson et al., (1998) ont rapporté que dans la rhizosphère de la betterave à sucre, les *Pseudomonas spp. fluorescens* inhibaient *Rhizoctonia solani* par production d'endochitinase.

3.4. Production du Cyanure d'hydrogène (HCN) :

Le Cyanure d'hydrogène est un métabolite secondaire produit par les protéobactéries impliqué dans la suppression d'agents pathogènes (Laville et al., 1998).

En effet La production d' HCN a été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas spp. fluorescens* (Askeland et Moeisson ,1983) qui jouent un rôle important dans la limitation du développement des pathogènes telluriques (O'sullivan et O'gara, 1992)

La production d' 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 production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments. Par exemple, le HCN cause une augmentation de l'exsudation de nutriments par les tissus de la plante (Ellis et al., 2000).

Il peut aussi contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer 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).

La HCN synthase est une protéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de CO₂ à partir de la glycine. Cette enzyme est codée par trois gènes structuraux (*hcnA*, *hcnB*, *hcnC*) séquencés chez *P. aeruginosa* PAO1 et chez *P. fluorescens* CHAO (Ramette et al., 2003)

3.5. La communication cellulaire « Quorum Sensing »(QS) :

Dans leurs actions phytostimulatrice et de biocontrôle, les *P. fluorescens* forment des microcolonies qui constituent un biofilm sur les sites préférés des exsudats racinaires (Choudhary et Johria, 2009). Ces microcolonies communiquent les unes avec les autres selon le processus biologique : Quorum Sensing (QS) et agissent de manière coordonnée (Choudhary et Johria, 2009 ; Babalola, 2010). Le QS est un mécanisme de communication entre les cellules, il est utilisé par de nombreuses bactéries afin de surveiller leur densité de population et pour réguler l'expression des gènes (Miller et Bassler, 2001; Keller et Surette, 2006). Chez les bactéries à Gram négatif, le QS implique la production des N-acyl homoserines lactones (AHL) (Steindler et al., 2008). Les AHL sont des molécules auto inductrices qui s'accumulent dans le milieu extracellulaire, lorsque le nombre de ces molécules atteint un seuil de concentration critique (le quorum), la réponse se déclenche en menant à l'expression des gènes (Sharma et al., 2003). La régulation par le QS joue un rôle primordial dans la physiologie et le développement des bactéries (Miller et Bassler, 2001). Ce phénomène contrôle plusieurs phénotypes dans l'interaction plantes-bactéries pathogènes (Von Bodman et al., 2003), il contrôle également les phénotypes liés aux PGPR : la production des composés antimicrobiens,

l'induction de résistance systémique chez les plantes (Liu et *al.*, 2008 ; Girard et *al.*, 2006) et la production des sidérophores (Cornelis, 2008).

Chapitre II : Généralités sur l'Acacia

Acacia est un genre de la sous famille des Mimosoidae, cosmopolite et très riche en espèces. Les espèces du genre Acacia couvrent des aires géographiques très diversifiées comprenant l'Afrique, l'Australie, l'Asie et l'Amérique (Guinet et *al.* 1978). En effet, 1350 espèces ont été identifiées dont la majorité sont originaires d'Australie et seules 144 espèces sont africaines (Wickens, 1996). Ainsi, les écosystèmes semi-arides de l'Afrique tropicale sont constitués, par des broussailles épineuses et des savanes où les espèces d'acacia sont dominantes (Wickens, 1996).

Le nom Acacia proviendrait du grec akazein (aiguiser), par allusion aux stipules épineuses de nombreuses espèces africaines et asiatiques (Ross, 1973). Le genre a été décrit pour la première fois par Philippe Miller en 1754.

Les caractéristiques des feuilles et du feuillage des acacias sont diverses ; de nombreux acacias africains à l'exception de *Faidherbia albida* (Delile, A.Chevalier) (Roupsard et *al.* 1999) perdent leurs feuilles durant la saison sèche, tandis que la plupart des acacias australiens ont un feuillage persistant. Ces plantes, inermes ou épineuses, ont des feuilles bipennées ou réduites à des phyllodes (Fennane et *al.* 2007). La régénération naturelle se fait principalement par semis, mais certaines espèces peuvent se régénérer par drageons et par rejets de souche (FAO, 1980). Le système de reproduction des acacias est préférentiellement allogame (Moffett, 1956 ; Sherry, 1971).

1. Répartition des Acacias dans le monde

L'aire naturelle des acacias s'étend sur tous les continents sauf l'Europe et l'Antarctique (FAO, 1980). Les 1350 espèces d'Acacia dans le monde se répartissent comme suit : 144 en Afrique, 89 en Asie, 185 en Amérique, et 993 en Australie et dans les régions du Pacifique (Konate, 2010).

Parmi les 144 Acacias originaires d'Afrique *Acacia tortilis subsp. Raddiana* et *Acacia nilotica var. tomentosa* (Conservatoire & Jardin Botaniques, 2012). (Annexe 1)

En Algérie, le genre Acacia constitue une chaîne de forêts reliant les hauts plateaux et les steppes dont la formation de Pistachier et de Jujubier (Nongonierma, 1977). Les espèces d'Acacia constituent ce que Maire (1940) nommait la savane désertique épineuse.

2. L'espèce *Acacia tortilis subsp. raddiana*

2.1. Taxonomie et position systématique

Selon Dommergues et al., (1999), le nom de l'arbre *Acacia Raddiana* a pris son origine du nom du botaniste Florentin Giuseppe Radd (1770-1829). Dès 1775, Forsskal avait distingué le *Mimosa tortilis*, mais il fallut attendre 1830 pour que Savi propose de distinguer une espèce qu'il nomme *Acacia raddiana* et que Brenan établira au rang de sous-espèce d'*Acacia tortilis* en 1957.

De son vrai nom *Acacia tortilis (Forsk.) Hayne sub-sp. raddiana (Savi) Brenan*, fait parti des Mimosacées, ayant comme synonyme *Acacia raddiana Savi*, *Acacia fasciculata*, (Arbonnier, 2002), dont Forsk est l'abréviation de Forskal. Avant d'être classée comme espèce indépendante, l'*Acacia raddiana* était considérée comme variété ou sous- espèce de l'*Acacia tortilis* appelée « umbrella tree » à cause de la forme de sa couronne (Hannani, 2011) (Fig.8). Par conséquent, l'espèce est classée comme suit :

- Règne : Plante
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicotylédones
- Sous classe : Résidées
- Ordre : Rosales
- Famille : Fabaceae
- Sous famille : Mimosaceae
- Genre : *Acacia*
- Espèce : *tortilis* (Forsk.) Hayne
- Subsp : *raddiana* (Savi) Brenan

(Le Floc'h et Grouzis, 2003).

- Nom français : *Acacia saharien*. (El ayadi, 2013)
- Nom Arabe : السنط الملتوي, المظلة الشانكة (khlif, 2016).
- Nom Berbère : Amrad, tifizza, tifizit (Bellakhdar, 1978).



Fig. 7: Arbre adulte d'*Acacia tortilis subsp. Raddiana* "sud ouest Maroc" (René Baud, 2016).

2.2. Répartition d'*A.tortilis subsp. raddiana*

Considérée comme étant la plus xérophile des angiospermes arborescentes (Bensaid, 1996), cette espèce forme des steppes désertiques qui sont, les plus diversifiées et les plus répandues des acacias car elles occupent des sols limono-argileux ou limono-sableux en bioclimats saharien et aride chaud à tempéré (Benabid, 2000) elle est présente de l'Arabie méridionale à l'Afrique orientale allant jusqu'au Sénégal (Batanouny et Baeshin, 1982). Par ailleurs, le taxon est absent, de façon quasi absolue, de la zone «extrêmement aride», où elle n'occupe que les lits d'oueds et quelques dépressions. En effet, elle ne fait donc défaut que dans les zones hyperarides et dans les grands ergs du Sahara septentrional du Sud algérien et Sud tunisien, Sa limite vers le nord se situe, exception faite du peuplement de Bled Talah, en Tunisie aride sur le revers septentrional du Tademaït et de la Hammada de Tihert (Le Floch et Grouzis, 2003),. (Annexe 1).

2.3. Utilisation d'*A.tortilis subsp. raddiana* et son intérêt phyto-thérapeutique

L'étude pharmacologique et les tests biologiques de l'espèce ont mis en évidence des métabolites secondaires (polyphénols), (Belhadjadj et al. 2008), qui jouent un rôle important à la fois dans la protection contre le cancer et les maladies cardio-vasculaires (Habauzit et Morand, 2012).

Selon Le Floc'h et Grouzis (2003), Les gousses et les feuilles sont utilisées spécialement dans l'alimentation du bétail (Richard, 1989), (Kiema et al, 2008). L'ingestion des gousses, graines, rejets, stipules et jeunes épines constituerait un remède efficace contre la « colique de sables » qui affecte les dromadaires (Bellakhdar, 1978), mais aussi dans l'alimentation humaine de façon occasionnelle en cas de disette, les graines des gousses sèches, collectées puis pilées au mortier de bois, sont transformées en une farine qui est consommée telle quelle.

Mais aussi, elles sont utilisées dans les soins traditionnels (S.I.FOR, 2009).

En effet, Les feuilles, pilées avec du haricot, sont employées dans le traitement des dermatoses allergiques, des œdèmes et dans certaines affections de la peau. Elles sont également utilisées dans les soins des cheveux, le traitement de la teigne. Les fruits sont utilisés contre les inflammations et les maux de dents. (Alexandre, 2002).

La gomme dissoute dans l'eau est utilisée pour traiter les affections oculaires, la jaunisse et les maladies pulmonaires, l'écorce desséchée et réduite en poudre est un désinfectant des blessures, les graines, entières ou réduites en poudre, sont anti-diarrhéiques (Boulos, 1983).

L'intérêt de l'arbre est beaucoup plus étendu. En effet, Vassal (1996) révèle dans son article sur les Acacias au Sénégal, des propriétés, en plus de celles citées en dessus, celles émulsifiantes, stabilisantes et épaississantes liées à la gomme exsudée suite à des blessures naturelles ou artificielles. L'écorce de l'*Acacia Raddiana* a des propriétés vermifuges et guérissent les maladies de la peau, elle est utilisée efficacement pour cicatriser les plaies. Elle est également utilisée en médecine traditionnelle comme antitussif et antirhumatismal. Le bois est utilisé comme bois de chauffe, charbon, de service, d'œuvre, d'artisanat, tannerie, et dans la fabrication des enclos pour les animaux (Hmamouchi, 1999).

Traditionnellement, toutes les cordes et cordages des Touaregs nomades sont en fibre de l'écorce de l'*Acacia Raddiana* (Alexandre, 2002). L'écorce et les gousses sont connues comme source de tanin (Siegler, 1986). Des exsudats polysaccharides (gomme) produits par

cette espèce ont plusieurs usages domestiques; on s'en sert notamment pour faire de l'encre et des adhésifs, en artisanat, dans la préparation de produits cosmétiques, en confiserie et dans l'alimentation. (Annexe 1).

Les graines de cette espèce sont utilisées pour produire une huile végétale riche en acides gras ayant des vertus thérapeutiques et nutritives riches en protéines (6.18%). Cette huile est composée de 44.3 % acide gras saturés, et 55 % non saturés (Talhi et al, 2010).

2.4. Impacte écologique de l'espèce sur l'environnement

Acacia tortilis subsp raddiana est une espèce clé de voûte des zones arides et sahariennes de l'Afrique (Munzbergova et al, 2002 ; Andersen et al, 2007 ; Andersen et al, 2007 ; Noumi et al, 2012). Elle joue un rôle important dans l'amélioration des facteurs microclimatiques de son écosystème (Weltzin et al, 1990; Khanna 1997 ; Abdallah et al. 2008) ce qui assure un développement de la diversité et de la production de la strate herbacée (Abdallah et al. 2008). Par ailleurs, comme toutes les légumineuses fixatrices d'azote, cette espèce peut assurer :

- L'enrichissement et la restauration écologique du sol en azote via la décomposition de leurs racines et leurs différentes parties.
- La dépollution azotée par leur utilisation comme substituant aux engrais chimiques (Dreyfus, 2000).

Actuellement en Algérie, ou dans le monde, des recherches s'orientent vers l'utilisation des graines d'*A.Raddiana* pour la production du biocarburant. Ce nouveau produit peut être utilisé, selon cet axe de recherche, comme alternative dans l'industrie du fuel pour diminuer l'exploitation massive des énergies fossiles.

Les propriétés physicochimiques de l'huile des graines d'*A.Raddiana* et ses esters d'acides gras méthylés (le biodiesel) ont une valeur énergétique conformément aux procédures standards de l'*American society for testing and material* (ASTM) de 32.78 MJ/kg, elle est considérablement plus élevée que celle trouvée dans la graine d'*A.nilotica*, ce qui constitue une alternative prometteuse pour l'utilisation des énergies fossiles, permettant ainsi la possibilité d'exploitation écologique de cette espèce (Talhi et al.2010).

3. L'espèce *Acacia nilotica* (L.) Delile

3.1. Taxonomie et position systématique

Acacia nilotica (L.) Delile (1813). Synonyme : *Acacia arabica* est une plante polyvalente (Kauret *al.*, 2005) originaire d'Egypte (le Nil) d'où son nom nilotica (Orwa et *al.*, 2009). C'est une espèce qui abonde le long du fleuve du Nil, et très représentée dans la mythologie égyptienne. Qu'on appelait « l'arbre de la vie » (Ben Christie, 2014), C'est un arbre de 5 à 20 m de haut avec une couronne sphérique épaisse, mais peut rester un arbuste dans de mauvaises conditions de croissance (Ecocrop, 2012; Orwa et *al.*, . 2009, Fagg et *al.*, 2005), les tiges et les branches sont habituellement de couleur noire, l'écorce est fissurée, exsudant une gomme rougeâtre.(Ali et *al.*,2011).

L'espèce est devenue largement naturalisée en dehors de son aire de répartition naturelle (Singh et *al.*, 2009) , et largement dispersée dans les pays tropicaux et subtropicaux, elle est assez tolérante à la battance, l'alcalinité jusqu'à pH= 9, la salinité, la chaleur (> 50 ° C) et à la sécheresse de l'air, (Abrol, 1986; Singh, 1998; Singh & *al.*, 1993).Cependant elle est sensible au gel, (Dougall & Bogdan, 1958, cité par Baumer, 1983). Elle pousse sur une gamme variée de sols, des sols sableux côtiers aux terres plus sombres, enrichies d'humus. Toutefois, elle affectionne les sols argileux inondables, lourds et mal drainés (Matig, 2006).

- Règne : Plantae.
- Embranchement : Spermatophytes.
- Sous-embranchement : Angiospermes.
- Classe : Eudicotylédones.
- Sous classe : Résidées.
- Ordre : Rosales.
- Famille : Fabaceae.
- Sous famille : Mimosaceae.
- Genre : *Acacia*.
- Espèce *Acacia nilotica* (L.) Delile (1813).

(Vassal, 1978).

❖ Nom Arabe : السنط النيلي.

❖ Nom Français : gommier rouge,Acacia de Cayenne,Acacia d'Arabie,acacia a gomme;

Nom Anglais: prickly acacia, Egyptian thorn, babul acacia, Arabic gum tree (Malviya et *al.*, 2011).

C'est un arbre épineux de taille moyenne, à feuilles persistantes avec un petit tronc, et une couronne étalée (Bargali. 2009)

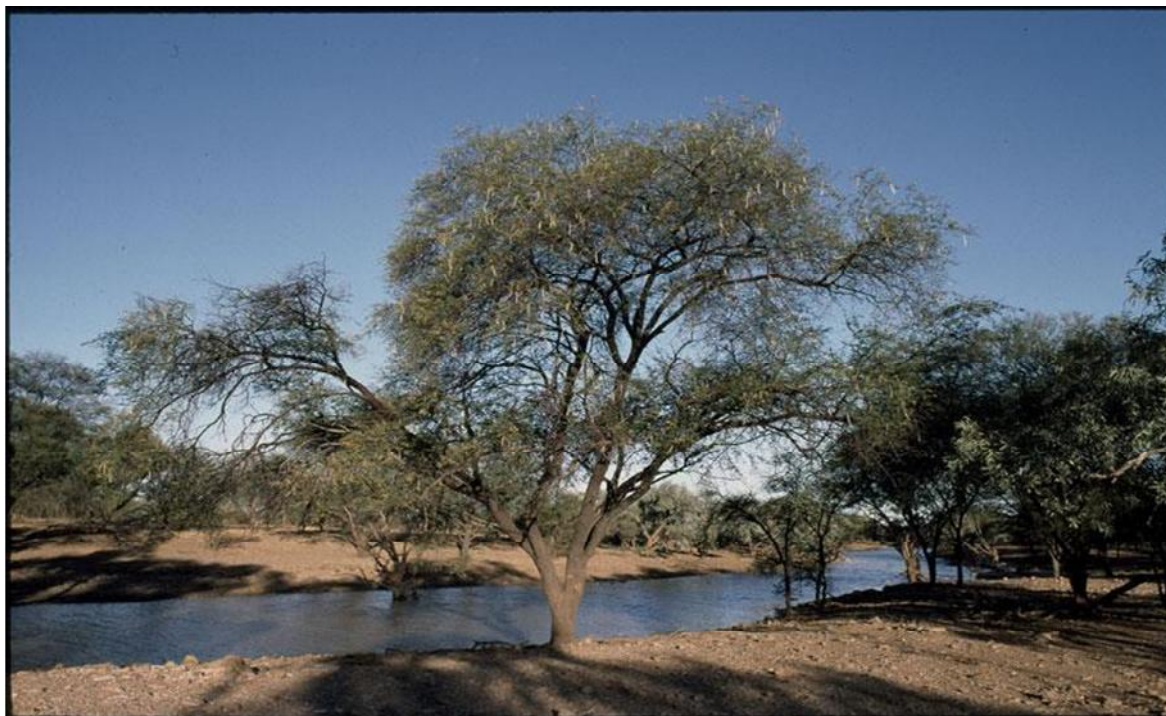


Fig.8 : Arbre adulte d'*Acacia nilotica* « Australian National Botanic Garden » (Fagg, M.2017).

3.2. Répartition d'*Acacia nilotica* (L.) Delile

A.nilotica est répartie dans un arc du nord au sud de l'est d'Afrique, et de la péninsule arabique jusqu'en Inde orientale (Hill 1940). en Gambie, au Soudan, au Togo, au Ghana et au Nigeria. Elle est largement cultivée dans le sous-continent indien, et a été également trouvée dans les contreforts de l'Himalaya en Inde (Malviya et al, . 2011). Elle a été introduite en Australie dans les années 1890 pour l'ombre, le fourrage et le bois (Bolton 1989).

3.3. Importance de l'*A. nilotica*

A.nilotica est une espèce pionnière, relativement élevée en composé secondaire bioactif et importante pour diverses fonctions. Elle est économiquement utilisée comme source de tanins, de gommes, de bois, de carburant et de fourrage (Saini, 2008) .

La teneur en protéines brutes des feuilles est de 14 à 20% et de 11 à 16% pour les gousses qui sont utilisées comme fourrage pour les chameaux, les moutons et les chèvres, (Matig, 2006). En apiculture, les fleurs parfumées sont des fourrages d'abeilles produisant des miels de qualité supérieure. L'écorce interne contient 18 à 23% de tanin, qui est utilisé pour teindre du cuir noir et le coton. L'extrait aqueux du fruit, riche en tanin a montré une activité algicide. Elle est une source de gomme arabique qui est tirée de l'écorce, et utilisée dans les encres, les peintures et la confiserie (Orwa et al. 2009). Les fruits ont par ailleurs un pouvoir molluscicide et tuent les crustacés vecteurs de la bilharziose, On utilise pour cela une décoction de fruits pulvérisés que l'on jette dans les eaux susceptibles d'être contaminées (Matig, 2006).

Bien que difficile à scier, le bois, dur et lourd, est utilisé comme matériau de construction : maisons, chemins de fer, pirogues etc. Il est un excellent bois de feu et produit du charbon de très bonne qualité (Nouvellet, 1987 Malgras, 1992 ; Arbonnier, 2000).

3.4. Intérêt et utilisation thérapeutique

La plante possède une large gamme de vertus thérapeutique, en effet elle est utilisée comme anti-cancer, anti-tumeurs, antioxydant, antispasmodique, mais aussi en traitement de la fièvre, hémorragies, leucorrhée, ophtalmie et sclérose (Saini, 2008).

L'espèce peut être considérée comme une ressource prometteuse pour les médicaments antibactériens en raison de sa nature très active. Mahesh et al (2008), ont montré une activité antifongique d'extraits méthanoliques et d'extraits aqueux d'*A. nilotica* avec un pourcentage d'inhibition allant de jusqu'à 93,35 %. Banso (2009) a étudié l'activité antimicrobienne des extraits éthanolés de l'écorce de la tige de l'espèce contre *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Shigella sonnei* en utilisant la méthode de diffusion en gélose et a trouvé une concentration inhibitrice de ces bactéries. Magatte (2001) a réalisé une étude sur l'*Acacia nilotica* et a conclu que le tanin de cette espèce, possède des caractéristiques semblables au Fluconazole, dont l'efficacité sur candidoses bucco œsophagienne a été démontrée

Les racines, mélangées aux écorces et prises en infusion, soignent l'anémie (Ruffo et al., 2002). elles sont généralement utilisées en bain de bouche pour soigner les caries dentaires, les affections de la bouche et de la gorge. La conjonctivite, le scorbut (Malgras, 1992). L'extrait de l'*A. nilotica* aurait même des propriétés anti oxydantes identiques à celles

de la vitamine C (Matig, 2006). Utilisées en fumigation, elles entrent également dans le traitement de la cataracte (Malgras, 1992).

3.5.Impacte écologique de l'espèce sur l'environnement :

A. nilotica est une légumineuse fixatrice d'azote qui peut être cultivée avec des graminées ou des céréales afin d'améliorer leur apport en azote. elle est utilisée comme espèce pionnière dans la valorisation des sols et dans les zones où la dégradation et l'érosion se sont produites (Fagg et *al.*, 2005; Carter, 1994).

Selon Fanuel Lampiao (2013). *Acacia nilotica* affecte sévèrement la fertilité des rats (Wistar rats) de manière irréversible ce qui régule leurs populations.

Partie II :
Matériels et méthodes

1. Caractérisation des souches bactériennes

Sur la base des travaux précédant (; Gazou, 2016 ; Imekhlef et Leghima, 2017), nous avons sélectionné deux souches bactériennes de *P.fluorescens* ayant montré des activités de biostimulation et de biocontrôle très appréciées.

Les souches bactériennes B1 et B2 sont isolées à partir de la rhizosphère de l'abricotier et du pêcher de la région de Mitidja

La pureté des isolats bactériens a été vérifiée sur le milieu B de King (King et al., 1954) (Annexe N°01). Les cultures pures sont conservées à une température de 4°C.

1.1 Caractérisation morphologique

1.1.1. Caractérisation macroscopique

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

Egalement la recherche d'une diffusion d'un pigment fluorescent dans le milieu a été effectuée après 24 à 96 heures d'incubation à $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

1.1.2. Caractérisation microscopique

Coloration de Gram

La coloration de Gram, a été réalisée par selon la technique classique décrite par Hildebrand et al., (1988), ayant pour matériel nécessaire : un microscope optique, une anse de platine, de l'eau distillée stérile, un bec Bunsen, une lame, le violet de gentiane, le lugol, de l'alcool à 90°, la fuchsine et l'huile à immersion.

Préparation du frottis

Nettoyer une lame à l'alcool puis déposer une goutte d'eau sur la lame, ensuite prélever les bactéries d'une colonie âgée de 24 heures avec l'anse stérile puis frotter la pointe dans la goutte d'eau, et en fin passer la lame sur la flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

Coloration

Déposer quelques gouttes de solution du violet de gentiane sur le frottis fixé, et laisser agir 1 minute, puis rincer à l'eau distillée stérile, ensuite étaler le Lugol et laisser agir, le même temps que le violet de gentiane et rincer à l'eau distillée stérile, puis décolorer rapidement avec l'alcool à 90° et rincer avec de l'eau distillée stérile. Recolorer avec la Fuchsine et laisser agir 1 minute. Rincer à l'eau et faire sécher la lame. En fin déposer une goutte d'huile à immersion et observer au microscope optique au grossissement 10X100.

1.2. Caractérisation biochimique :

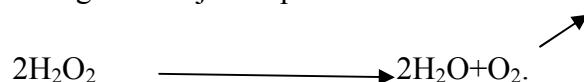
La mise en évidence de l'activité biochimique des deux souches bactériennes est basée uniquement sur quelques tests afin de vérifier la stabilité des caractères des souches étudiées

1.2.1. Test de mobilité :

Les souches bactériennes de 24 heures sont ensemencées par piqûre centrale dans le milieu mannitol-mobilité (Gardan et Luisitti, 1981) (Annexe 2). Ce milieu est semi solide permettant de mettre en évidence la mobilité et la dégradation du mannitol. Après 24h d'incubation l'apparition d'une coloration jaune correspond au mannitol positif. Les souches mobiles se disperseront à partir de la piqûre d'ensemencement créant un trouble dans le milieu.

1.2.2. Test catalase :

La technique catalase définit par Steward et *al.*, (1987), consiste à instiller quelques gouttes d'eau oxygénée (2 à 3) à 10 volumes sur une crème bactérienne âgée de 24 heures sur une lame propre et sèche . La présence d'une catalase (catalase positive) se traduit par l'émission de bulles gazeuses juste après contact selon la formule :



1.2.3. Test oxydase

Le test oxydase est à la base de l'identification des bactéries Gram négatives. il permet de mettre en évidence une enzyme la phénylène diamine oxydase. Selon la technique de Kovacs (1956) il est réalisé en déposant un disque pré-imprégné par le réactif N diméthyl paraphénylène diamine, sur une colonie bactérienne âgée de 24 heures. La lecture des résultats se fait immédiatement, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur violette au bout de 10 secondes.

1.2.4. Utilisation du Citrate de Simmons

L'utilisation des Citrates par les bactéries comme seule source de carbone et d'énergie est mise en évidence sur le milieu citrate de Simmons (Gardan et Luisiti, 1981) (Annexe 1). L'ensemencement des souches est effectué sur la pente du milieu de culture. Après 3 jours

d'incubation à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$, l'utilisation des citrates est marquée par le virage de la couleur du milieu vers le bleu.

1.2.5. Test oxydation / fermentation

Le test d'oxydation fermentation est effectué sur le milieu Mevag confectionné en tubes à essai (Marchal et bourdon, 1981) (annexe 2), l'ensemencement d'une culture bactérienne âgée de 24 heures est effectuée par une piqure centrale et l'un des tubes sera recouvert par une couche de vaseline d'environ 1 à 1.5 cm d'épaisseur. L'incubation est réalisée à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Le résultat positif est révélé par le virage de la couleur rouge du milieu au jaune.

1.2.6. Étude des dérivés de l'acide pyruvique

Le milieu Clark et Lubs (Marchal et bourdon, 1982) (Annexe 2) est ensemencé Avec une culture bactérienne âgée de 24 heures et incubée à 25°C pendant 24 heures.

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

Réaction Rouge de méthyle (RM) : au milieu de culture ensemencé, et incubé sont ajoutés 2 à 3 gouttes du réactif rouge de méthyle (RM).

Réaction Voges Proskauer (VP) : pour la recherche de l'acétoïne on ajoute au milieu ensemencé et incubé 0,5 ml de la solution VPI (naphtol) et 0,5 ml de la solution VPII (4N). Si une coloration rouge violacée apparaît en surface, la bactérie a transformé l'acide pyruvique en acétoïne, la réaction VP est positive (VP+).

2. Essai de la stimulation de la germination « *in vitro* »

2.1 Matériel végétal

Notre étude s'est effectuée sur deux espèces forestières légumineuses *Acacia tortilis sub-sp. raddiana* et *Acacia nilotica*.

Les semences des deux espèces proviennent de la collection de l'Institut national de la recherche forestière (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des espèces végétales utilisées dans l'essai de bio-stimulation.

Plante	Nom scientifique	Origine	Caractéristiques des graines	Date de récolte
Acacia	<i>Acacia tortilis sub-sp. raddiana</i>	Tamanrasset	Légumineuse - reboisement	2014
Acacia	<i>Acacia nilotica</i>	Tamanrasset	Légumineuse - reboisement	2014

2.2 Préparation des graines

2.2.1 Levée de la dormance

Les graines utilisées dans notre expérimentation étaient toutes saines, sans traces d'insectes, ou d'autres parasites. La viabilité des graines a été testée en plaçant les semences dans de l'eau ; les graines qui coulent sont supposées viables.

Celles-ci ont subi une scarification mécanique en effectuant un léger frottement des graines par du papier abrasif afin de lever la dormance tégumentaire.

2.2.2 Désinfection superficielle des semences

La désinfection des graines de chaque variétés a été réalisée par trempage des graines dans l'eau javellisée (200 ml d'H₂O + 250 ml d'eau de Javel) pendant 20 min, suivit de trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile pour chaque lot de semences. Les graines sont laissées sécher sur un papier absorbant stérile (fig.10, 11).



Fig.9 : Graines d'*A. raddiana* après scarification et désinfection.



Fig.10 : Graines d'*A.nilotica* après scarification et désinfection.

2.2.3 Bactérisation des graines :

La bactérisation des graines a été réalisée par trempage des graines dans des suspensions bactériennes, préparées à partir d'une culture bactérienne âgée de 24 heures. La concentration des suspensions bactériennes d'environ $10^6 - 10^7$ UFC et ajustée à une longueur d'onde de 620 nm. La bactérisation a été effectuée par trempage des graines dans une suspension contenant les deux souches bactériennes pendant 30 min.

2.2.4 Préparation des solutions de NaCl

Quatre solutions à concentrations différentes de NaCl sont préparées à partir de la solution mère constituée de 4.4g de NaCl dans 500ml d'eau distillée stérile H_2O . Les quatre solutions utilisées sont : **C0** (H_2O stérile) qui constitue la concentration témoin, **C1** (50m mole/l), **C2** (100 m mole/l), **C3** (150 m mole/l).

2.2.5 Mise en germination

Les graines des deux *Acacia* désinfectées et bactérisées avec les souches B1+B2 sont disposées sur deux couches de papier filtre stérile dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre à raison de 10 graines par boîte avec 6 répétitions pour chaque modalité de concentration de NaCl en randomisation totale (Fig12). Chaque boîte recevra quotidiennement 3ml de la solution de NaCl à partir du premier jour de la mise en germination et cela pendant 10 jours. Les boîtes sont maintenues à température ambiante, comprise entre 25°C et 30°C pour la germination.

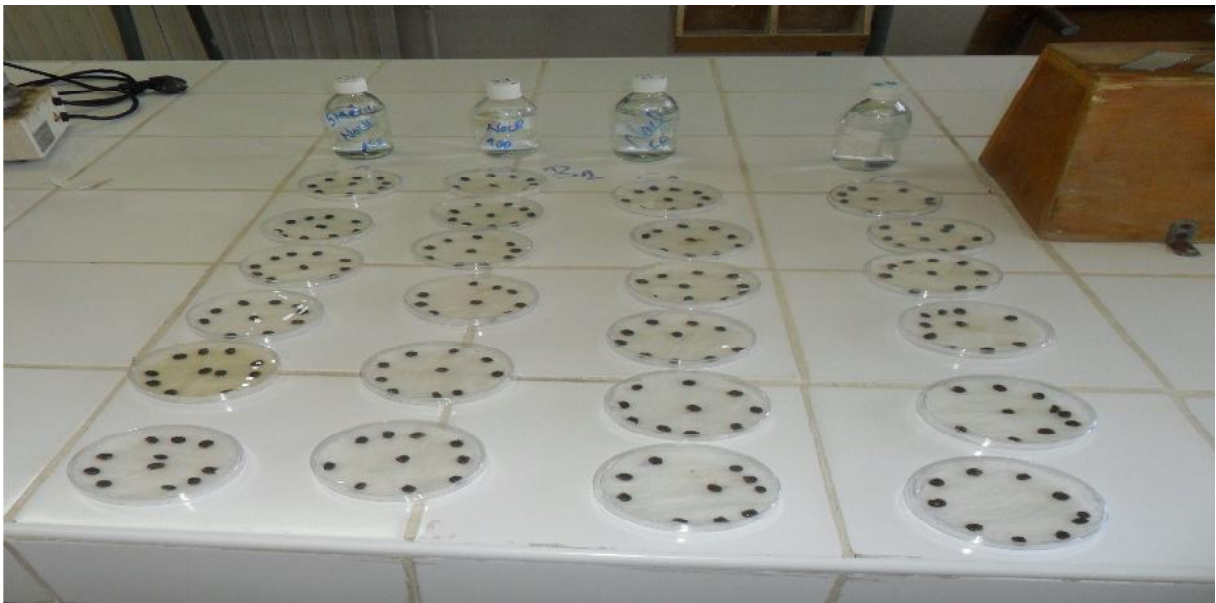


Fig.11 : mise en germination des graines après bactérisation.

3 Paramètres étudiés

L'observation visuelle des graines se fait quotidiennement, pendant toute la période de l'essai. La durée de suivi de germination des graines est de 10 jours à savoir 240 heures.

Les graines sont comptées pour déterminer la capacité et la période de germination.

Une semence est considérée germée lorsque la radicule perce les téguments, l'évaluation de la germination a été effectuée sur les paramètres suivants :

3.1. Taux de germination

Le pourcentage de germination (TG) est le nombre de graines germées, rapporté au nombre total de graines semées

$$\text{TG (taux de germination)} = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre total des graines}} \times 100.$$

3.2. Temps moyen de germination (TMG)

C'est un mode d'expression de la vitesse de germination d'une population de semence mises à germer dans des conditions parfaitement contrôlées. Le temps moyen de germination (TMG) se calcule de la façon suivante. Selon Corbineau et Côme (2006) :

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

- ✓ TMG : Temps moyen de germination (jour).
- ✓ N1 : Nombre des graines germées au temps T1.
- ✓ N2 : Nombre des graines germées entre T1 et T2.
- ✓ Nn : Nombre des graines germées entre temps Tn-1 et Tn.
- ✓ T : Nombre de jours d'observation.

3.3. Hauteur de la plumule

La hauteur de la plumule est mesurée aussi à l'aide d'une règle graduée après étalement sur celle-ci, ou par étalement d'un fil le long de la plumule si elle est trop vrillée puis mesurer le fil.

3.4. Longueur de la radicule

La longueur a été mesurée à l'aide d'une règle graduée après étalement de la radicule jusqu'à l'extrémité de celle-ci. Le nombre de racines secondaires des radicules est comptabilisé pour les deux espèces.

3.5. Indice de vigueur

Ce paramètre constitue un moyen de déterminer l'impact de la salinité sur le développement phréologique et le temps de germination des plants.

L'indice de Vigueur se calcule comme suit :

$$VI = S \times \sum \left(\frac{Gi}{Di} \right) \quad (\text{Zhu et Hong, 2008}).$$

Avec :

- ❖ S : la taille du semis au dernier jour de l'étude de germination soit 10 jours.
- ❖ Gi : est le nombre de graines germées au "i ème" jour.
- ❖ Di : le nombre de jours du premier jour de mise en germination au "i ème" jour.

3.6. Poids frais et sec de la plumule

Les feuilles et les tiges fraîchement coupées à l'aide d'une lame de Bistouri, sont immédiatement pesées à l'aide d'une balance de précision, puis mises en sachet en papier et placées dans l'étuve à 75°C pendant 3 jours pour sécher. Après séchage une deuxième pesée afin de déterminer le poids sec.

3.7. Poids frais et sec de la radicule

Parallèlement aux plumules les racines sont simultanément pesées et mises dans des sachets en papier. Celles-ci sont placées à l'étuve à 75°C pendant 3 jours afin de peser le poids sec.

4. Analyse statistique

Les données obtenues sont soumises à une analyse statistique réalisée avec le logiciel XLSTAT 2016, à savoir :

- ✓ l'analyse de la variance (ANOVA) test de Shapiro–Wilk.

- ✓ test de Kruskal-Wallis selon un niveau de signification $\alpha=0,05$.
- ✓ Une comparaison multiple des modalités, test de Dunnett (test bilatéral) avec un intervalle de confiance à 95%, afin d'interpréter les différences significatives des résultats.

Partie III :
Résultats et discussion

1 Caractérisation des souches bactériennes

1.1. Caractérisation morphologique

Des souches bactériennes de *Pseudomonas* spp fluorescents ensemencées sur un milieu gélosé King B. Après 24h d'incubation à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$, nous avons constaté que les colonies bactériennes des deux souches apparaissent avec un aspect lisse de couleur beige claire de forme régulière, avec un diamètre des colonies qui varient de 2 à 4 mm.

Ces deux souches bactériennes produisent un pigment fluorescent jaune-vert visible à l'œil nu sous lumière naturelle. Sous microscope optique au grossissement 10X100, des formes de bacilles droites isolées ou groupées de couleur rose sont observées (Fig.13). Donc elles sont dites Gram négatives (-).

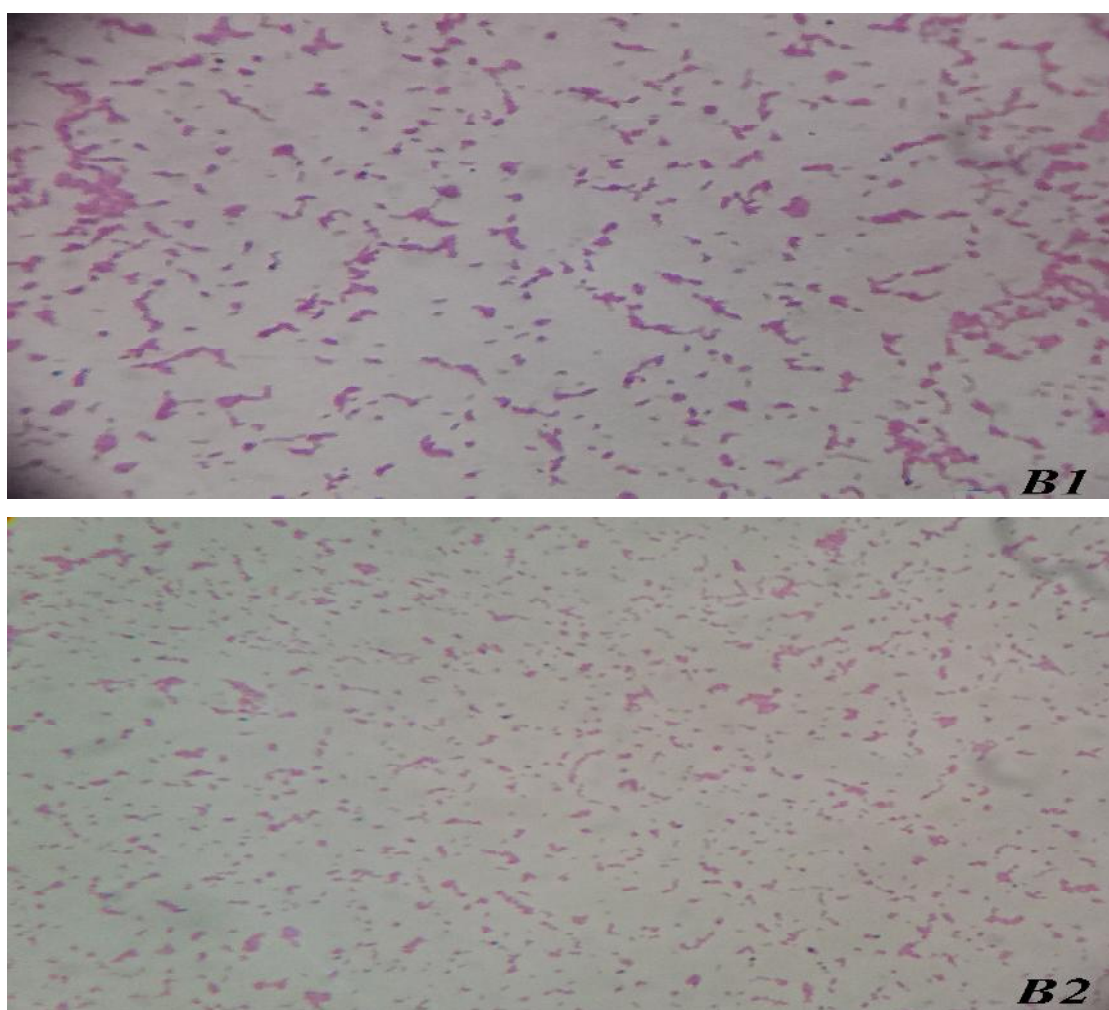


Fig.12 : Les souches bactériennes B1 et B2 sous microscope optique au grossissement 10X100.

1.2. Caractérisation biochimique :

La série des tests biochimiques effectués pour les deux souches bactériennes ont révélés les résultats suivant (Fig14, Tableau 2) :



Fig.13. Galerie biochimique.

- En contact des souches bactériennes avec de l'eau oxygénée des bulles gazeuses sont observées (Fig.15). Ce qui signifie que les bactéries sont catalases positives.

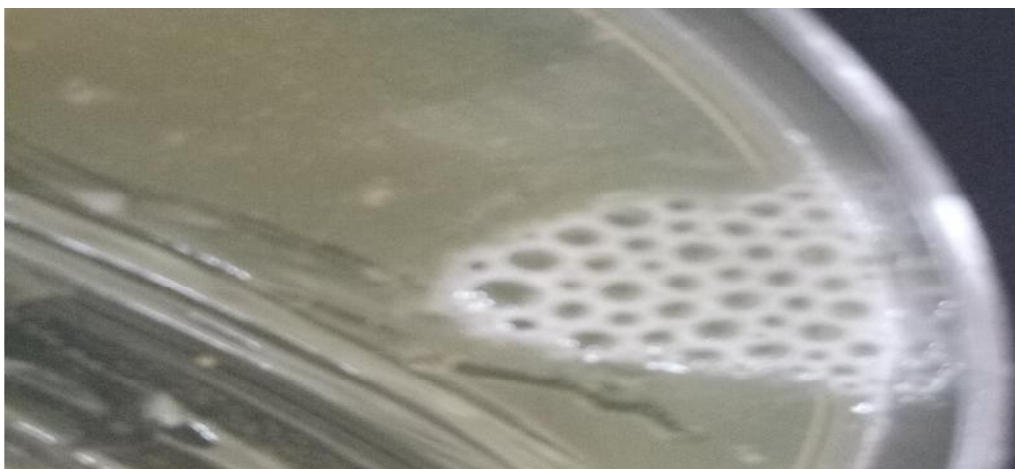


Fig.14 : Test catalase des deux souches bactériennes B1 et B2.

- Les deux souches B1 et B2 déposées sur le disque d'oxydase prennent une teinte violette (Fig.16). Ce qui signifie que les deux souches sont oxydase positives.

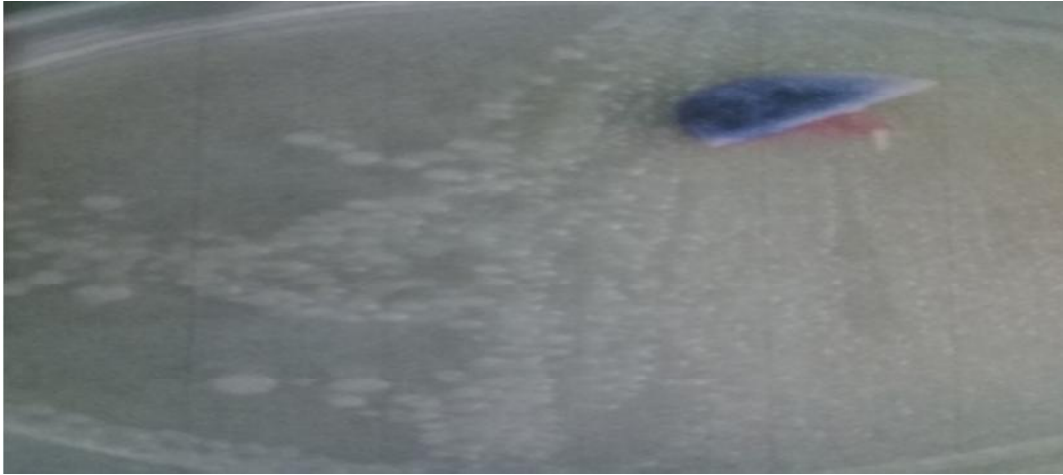


Fig.15 : Résultats du test oxydase des deux souches B1 et B2.

- Sur milieu citrate de Simmons, une coloration bleu est observée (Fig.17), ce qui signifie que les deux souches possèdent la citrate-perméase.

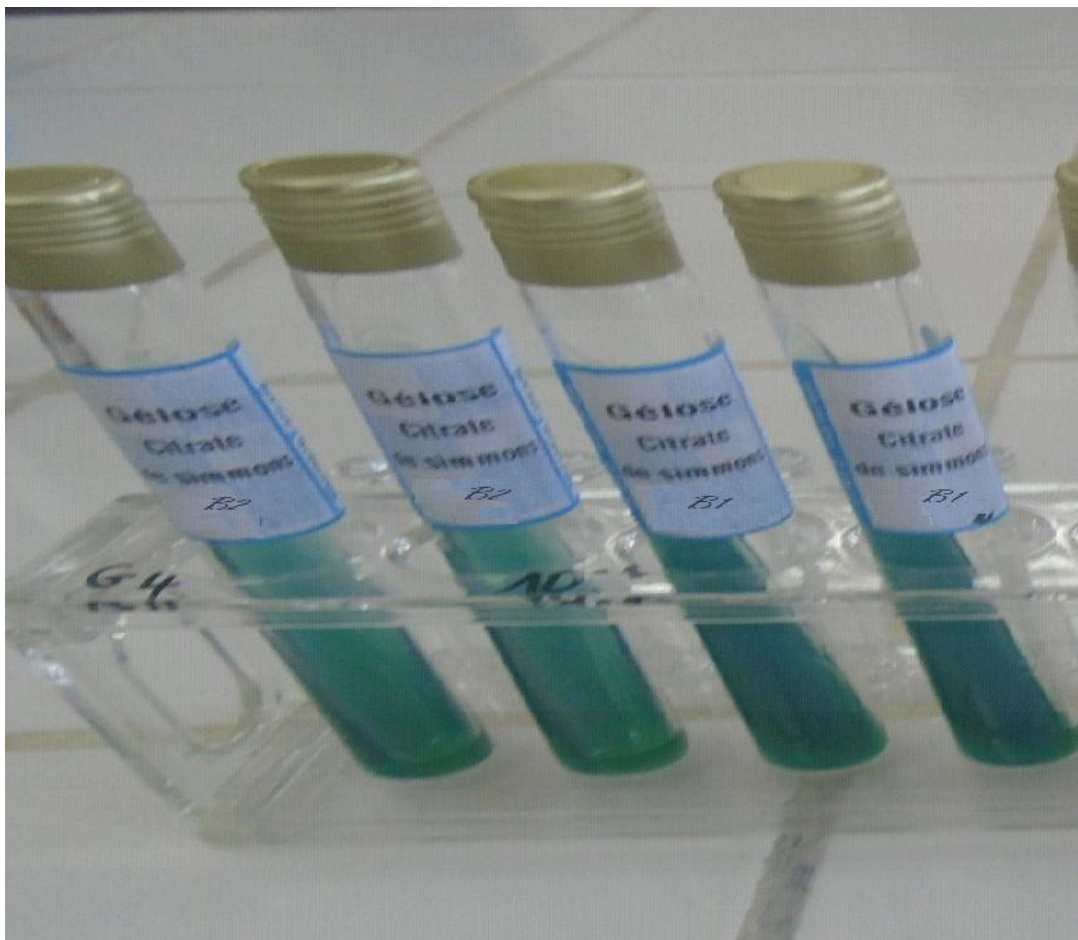


Fig.16 : Test sur milieu Citrate de Simmons des deux souches B1 et B2.

- Sur le mannitol-mobilité, les deux souches sont mobiles mais ne possèdent pas la capacité à utiliser le mannitol.
- Avec le test du milieu Clark et Lubs Les souches présentent une réaction négative pour le rouge de méthyle (RM) et le Voges-Proskauer (VP), donc ces souches ne dégradent pas l'acide pyruvique en acide acétique, acide formique et en acétoïnes.
- Les deux souches bactériennes ont un métabolisme oxydatif en présence de l'oxygène sur le milieu (Mevag) ce qui signifie que ces bactéries sont de type aérobie strict.

Tableau 2 : Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2.

		B1	B2
Pigment fluorescent		+	+
Catalase		+	+
Oxydase		+	+
Citrate de Simmons		+	+
Mannitol mobilité	Mannitol	-	-
	mobilité	+	+
Clark et Lubs	RM	+	+
	VP	-	-
Mevag		Aérobiose stricte	Aérobiose stricte

(-) réaction négative

(+) réaction

D'après les résultats obtenus les souches ont montré une certaine stabilité des caractères cultureux et biochimiques ce qui confirme la pureté des deux souches, et leur appartenance au genre *Pseudomonas*.

La production de pigments fluorescents a été observée chez les deux souches, cette production est une spécificité des *Pseudomonas* Fluorescents qui se distinguent visuellement des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire un pigment jaune-vert soluble dans l'eau (Palleroni, 1984).

Ces souches testées sont Gram négatives, utilisent le citrate, sont catalase positive, et possèdent un cytochrome oxydase, par ailleurs elles ne dégradent pas le mannitol.

Les résultats obtenus correspondent à la définition de Palleroni(1984), qui rapporte que les *Pseudomonas* spp Fluorescents sont des microorganismes aérobies qui utilisent l'oxygène comme récepteur final d'électrons.

2. Effet de la salinité sur la stimulation germinative des graines d'Acacia bactérisées

2.1. Résultats

2.1.1. Taux de germination

Après Selon les résultats obtenus nous avons constaté que les graines bactérisées des deux Acacias ont montré une certaine tolérance au sel (Fig.18)

Les meilleurs taux de germination sont obtenus chez *A. raddiana* en présence des différentes concentrations de sel.

A.raddiana semble être très tolérante à la salinité en enregistrant des taux de germination de 86,66 à 90% respectivement avec les concentrations C3, C2 et C1, alors que le taux de germination obtenu par le témoin est de 91,66% (Fig.18).

A. nilotica s'est montrée très sensible à la salinité. Nous avons remarqué une nette diminution du taux de germination avec l'augmentation de la concentration du NaCl avec la concentration C1 et C2, *A.nilotica* a enregistré un taux de germination de 40% et de 15% pour la concentration C3, le témoin (absence de sel) a enregistré un taux de germination de 66,66%.

L'analyse statistique des taux de germination révèle que la salinité affecte significativement les taux de germination d'*A.raddiana*, alors qu'*A.nilotica* est sensible à la salinité aux concentrations d'inhibition C1, C2, C3 ($p=0,0016$).

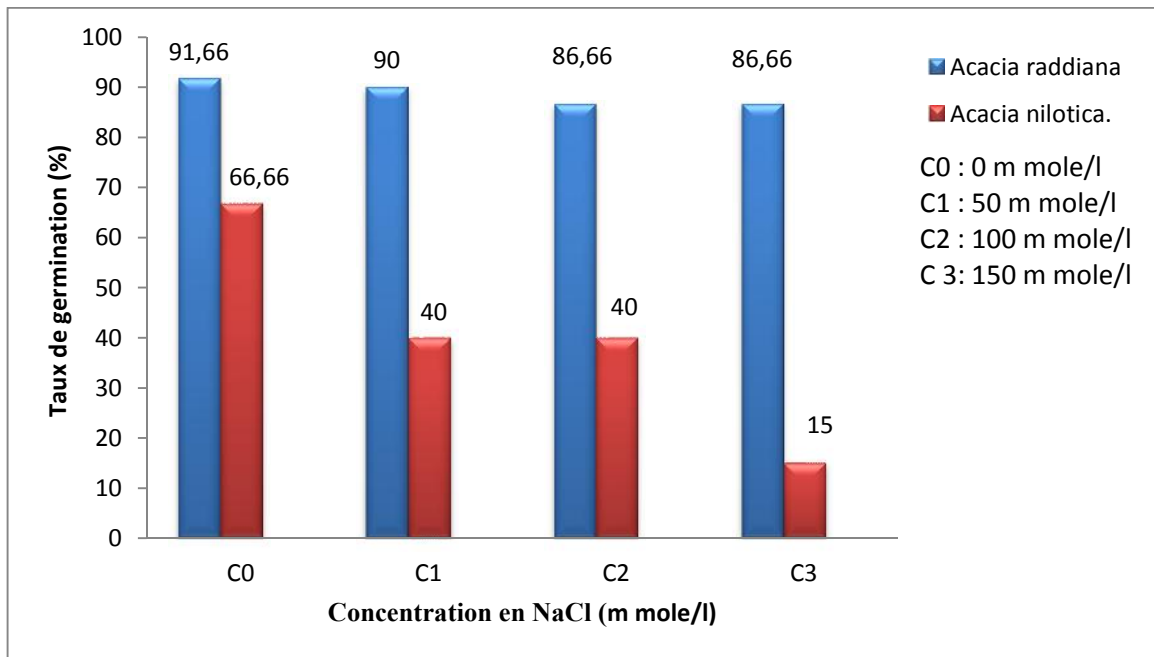


Fig. 17: Taux de germination d'*A.raddiana* et *A.nilotica* à différentes concentrations de NaCl.

2.1.2. Vitesse moyenne de germination

La figure 19 représentant l'effet de la salinité sur la vitesse de germination des graines des deux espèces d'*Acacia* montre que indépendamment de la solution d'inhibition (NaCl), les graines bactérisées d'*A.raddiana* germent plus rapidement que les graines d'*A.nilotica* (Fig.19 ; Tableau 3).

Egalement, nous avons remarqué que le temps moyen de germination devient plus élevé lorsque la concentration en NaCl augmente. Aussi nous avons constaté que la solution d'inhibition C3 ralentit significativement la germination des graines en enregistrant des périodes de germination de 46,8h pour *A.raddiana* et 126 h pour *A.nilotica*.

Les graines des témoins C0 des deux espèces ont enregistré respectivement des périodes de 28,5 h et 95,7 h pour *A.raddiana* et *A.nilotica*.

Tableau 3 : Temps moyen de germination en fonction de la concentration en NaCl .

TMG (jours)	Concentrations			
	C0 (0m mole/l)	C1 (50m mole/l)	C2 (100m mole/l)	C3 (150m mole/l)
<i>Acacia raddiana</i>	1,19	1,28	1,74	1,95
<i>Acacia nilotica</i> .	3,99	4,38	4,85	5,25

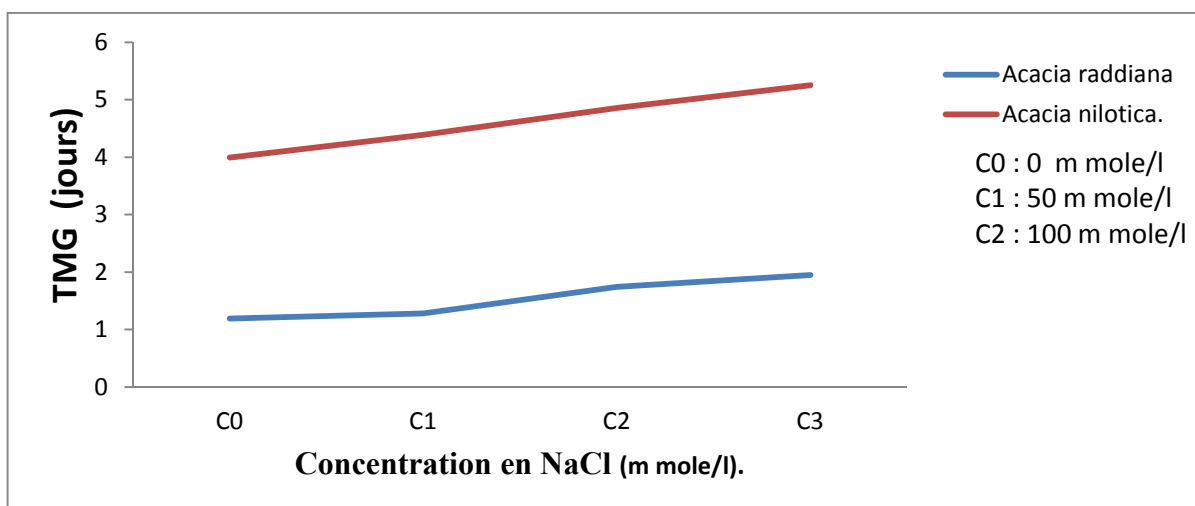


Fig.18 : Effet de la salinité sur le temps moyen de germination des graines d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.

2.1.3. Longueur de la racicule

Les résultats de la mesure de la longueur des racicules ont montré d'une part que la croissance de la racicule est nettement plus élevée chez *A.nilotica* que chez *A.raddiana*, d'autre part la concentration C1 et C2 n'ont pas affecté la croissance de la racicule du moment qu'elles ont enregistré des longueurs presque similaires aux témoins (Fig.20).

Toutefois avec la concentration C3, *A.raddiana* présente un développement racinaire diminué alors que chez *A.nilotica* nous avons assisté à l'annulation de la croissance. A l'exception de trois plantules chétives ayant une racicule ne dépassant pas 1 cm, toutes les plantules d'*A.nilotica* en cette concentration (C3) ont commencé à subir un dépérissement à partir du septième jour de la mise en germination (Fig.22).

L'analyse statistique des résultats obtenus (Tableau 4) indique que l'effet de la salinité est significatif, aux concentrations C1 et C2, et hautement significatif à la concentration C3 chez *A.raddiana* ($p < 0,0001$) et a engendré une diminution significative du développement racinaire. Pour *A.nilotica*, pas de sensibilité aux concentrations d'inhibition C0, C1, et C2 ($p=0,18$).

Tableau 4 : Analyse statistique des longueurs des racicules

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	3	1,227	A
	C1 (50 m mole/l)	2,6	0,773	B
	C2 (100 m mole/l)	2,2	0,824	B C
	C3 (150 m mole/l)	1,5	0,443	C
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	3,8	1,291	A
	C1 (50 m mole/l)	3,4	1,023	A
	C2 (100 m mole/l)	2,8	1,532	A

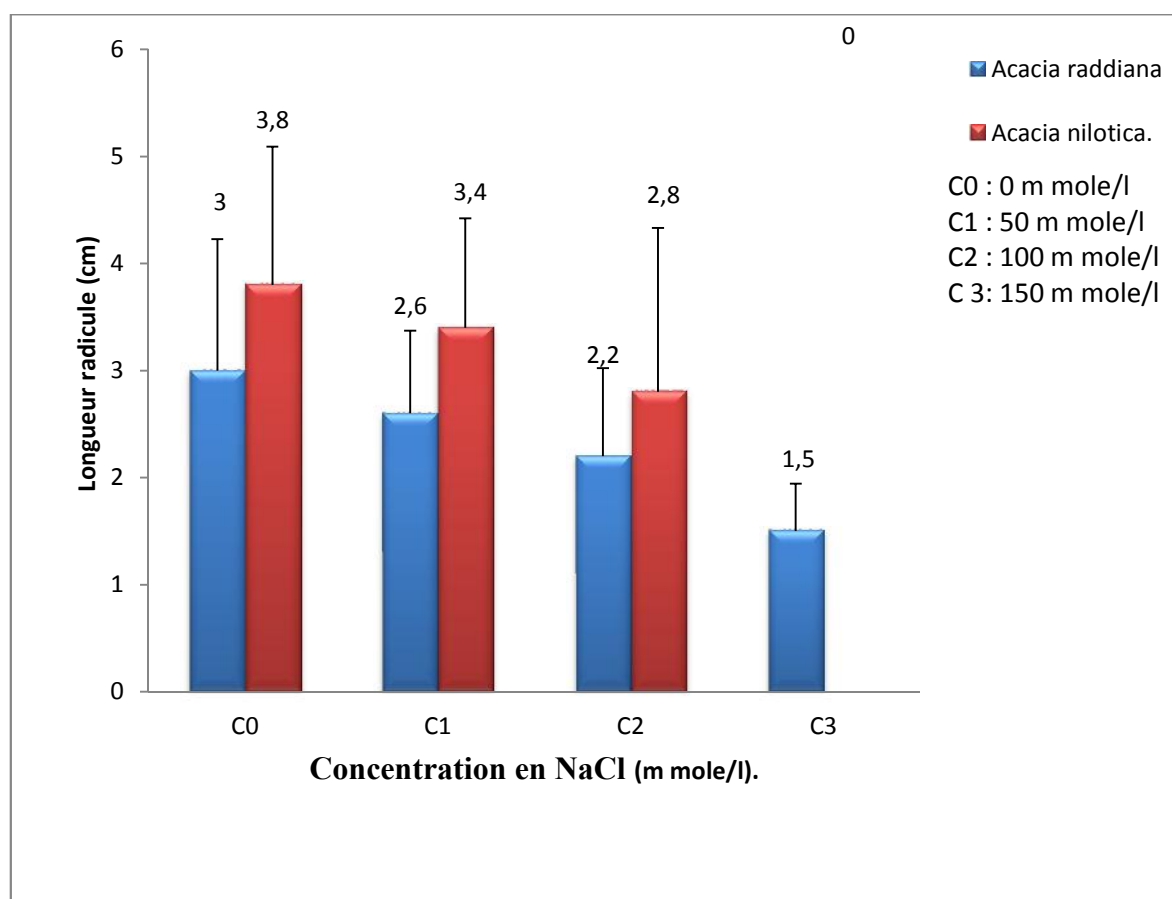


Fig.19 : Effet de la salinité sur Longueur de la racicule *A.raddiana* et *A.nilotica*

2.1.4. Hauteur de la plumule

La mesure de la longueur des plumules indique que la croissance de la tige est nettement plus élevée chez *A.nilotica* que chez *A.raddiana* dans les concentrations C0, C1 et C2 de la solution d'inhibition (Fig.22).

Cependant en C3, *A.raddiana* a enregistré un développement aérien réduit, de 3,2 cm alors que chez *Acacia nilotica* il est nul,

L'analyse statistique des résultats obtenus (Tableau 5) indique que l'effet de la salinité est significatif aux concentrations C1 et C2, et hautement significatif à la concentration C3 chez *A.raddiana* ($p < 0,0001$) la salinité a engendré une diminution significative du développement de la plumule. Alors que pour *A.nilotica* nous avons constaté une certaine stabilité aux concentrations C0, C1, C2 ($p = 0,056$).

Selon la figure 21 *A.raddiana* présente une stabilité des valeurs par rapport à *A.nilotica*. Cette dernière est plus sensible à la salinité concernant la croissance aérienne.

Tableau 5 : Analyse statistique des hauteurs des plumules

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes	
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	4,283	0,686	A	
	C1 (50 m mole/l)	4,198	0,839	A	B
	C2 (100 m mole/l)	3,773	0,605		B C
	C3 (150 m mole/l)	3,198	0,596		C
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	5,973	0,956	A	
	C1 (50 m mole/l)	5,273	1,325	A	
	C2 (100 m mole/l)	4,555	1,506	A	

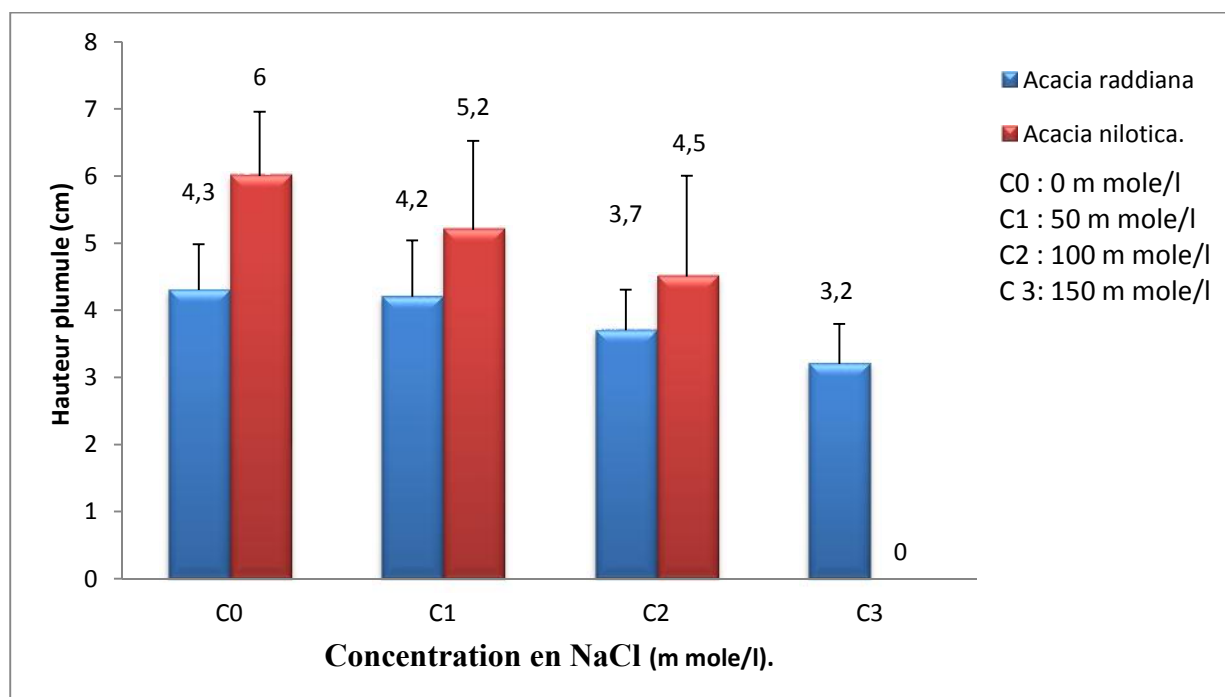


Fig.20 : Effet de la salinité sur la hauteur des plumules d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.



Fig.21: Développement d'*A.raddiana* et *A.nilotica* aux concentrations C0 et C3.

2.1.5. Indice de vigueur

A travers les valeurs obtenues du calcul de l'index vigor nous avons constaté que les plants ayant la vigueur la plus élevée sont ceux *A raddiana* indépendamment de la concentration de salinité. Egalement nous avons remarqué aussi que la salinité affecte et diminue significativement la vigueur des plantules chez les deux espèces d'Acacia (Tableau 6).

La diminution de la vigueur des plantules est plus importante pour *A nilotica*, et *A raddiana* à partir de la concentration C1. La concentration C3 a sensiblement affecté la vigueur de d'*A.nilotica* en enregistrant un indice de vigueur de 2,69 (Fig.23).

L'analyse statistique de l'indice de vigueur des deux Acacias révèle que la salinité affecte la vigueur des plants d'*A.raddiana* ($p=0,0009$) avec une baisse significative de la vigueur en C3 ($P=0,937$). Alors qu'*A.nilotica* a eu une diminution significative ($p=0,414$) de la vigueur dans les solutions d'inhibition C1, C2, et C3 (Tableau 6).

Tableau 6 : Analyse statistique de l'indice de vigueur des deux Acacias

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes	
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	159,855	27,686	A	
	C1 (50 m mole/l)	144,148	18,178	A	
	C2 (100 m mole/l)	109,726	12,869	A	B
	C3 (150 m mole/l)	88,200	15,918		B
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	56,727	17,717	A	
	C1 (50 m mole/l)	29,863	18,362		B
	C2 (100 m mole/l)	18,463	13,363		C
	C3 (150 m mole/l)	2,690	2,219		D

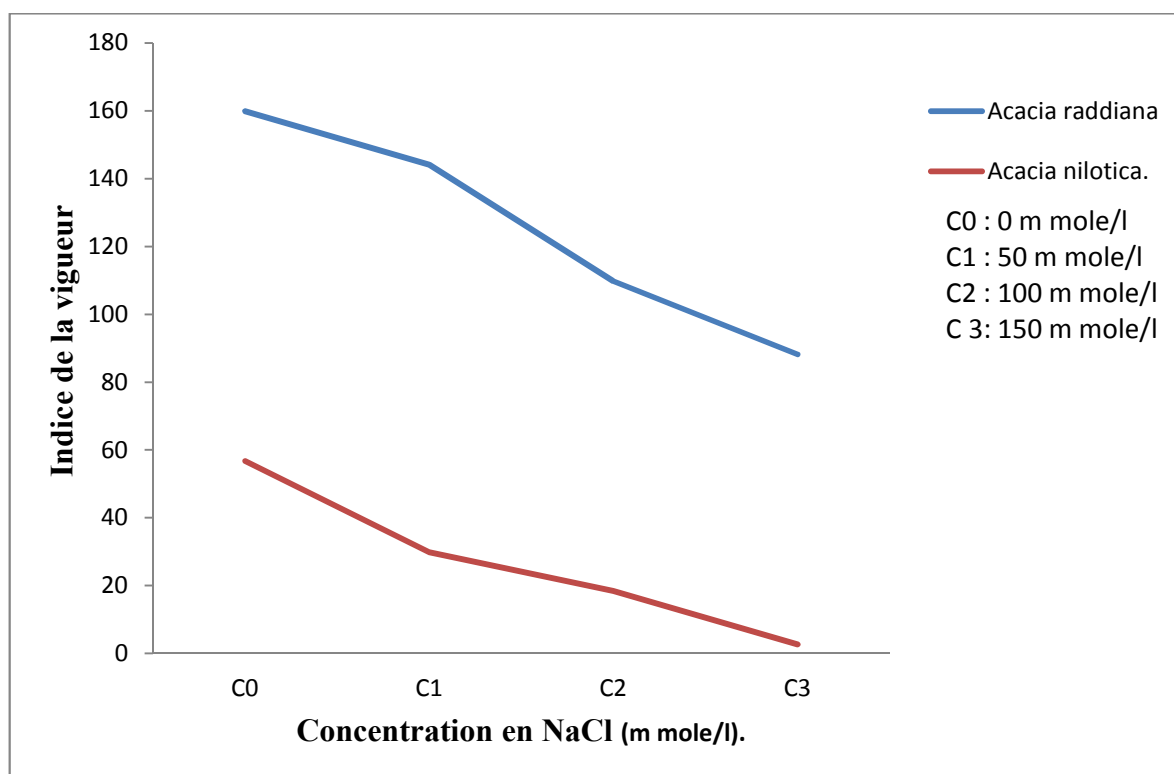


Fig.22 : Indice de vigueur d'*A.nilotica* et *A.raddiana* en fonction de la concentration de NaCl.

2.1.6. Poids frais de la plumule

La mesure pondérale des plumules indique le poids frais de la tige est nettement plus élevé chez *A.nilotica* que chez *A.raddiana* dans les concentrations C0, C1 et C2 en NaCl (Fig.24).

L'interprétions statistique des résultats (test de Dunett) (Tableau 7) indique que l'effet de la salinité est significatif, les concentrations C1, C2, et C3 chez *Acacia raddiana* ($p < 0,0001$) présentent une diminution significative du poids radiculaire par rapport à la concentration témoin. Nous avons constaté aussi une stabilité du poids frais des plumules d'*A.nilotica* aux concentrations C0, C1, C2 ($p=0,93$).

Selon la figure 24 le poids frais des plumules des deux espèces *A.raddiana* et *A.nilotica* présente une certaine stabilité aux concentrations C0, C1 et C2 de NaCl alors que dans la concentration C3 il diminue pour *A.raddiana* avec 0,072g et pour *A.nilotica* la mesure des trois plants est inférieurs à 0.07g

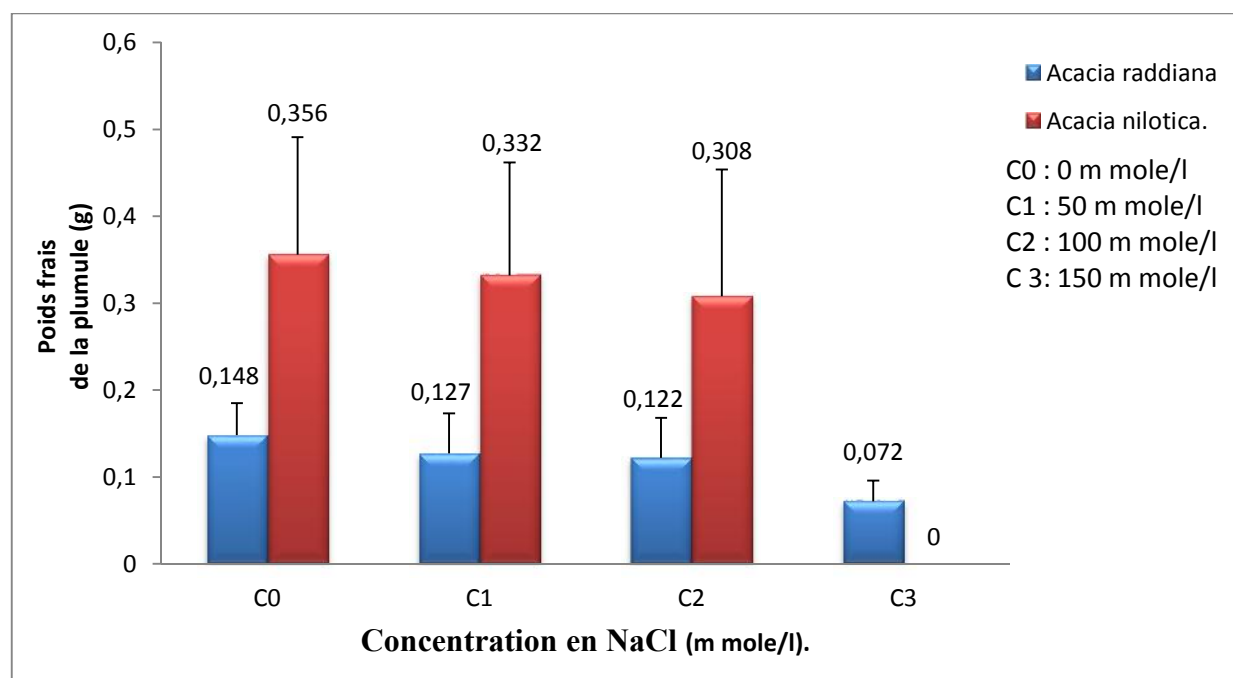


Fig.23 : Effet de la salinité sur le poids frais des plumules d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.

Tableau 7 : Analyse statistique du poids frais des plumules

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	0,148	0,037	A
	C1 (50 m mole/l)	0,127	0,046	A
	C2 (100 m mole/l)	0,122	0,046	A
	C3 (150 m mole/l)	0,072	0,024	B
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	0,356	0,135	A
	C1 (50 m mole/l)	0,332	0,130	A
	C2 (100 m mole/l)	0,308	0,146	A

2.1.7. Poids sec de la plumule

L'effet de la salinité sur le développement des deux Acacias peut être apprécié par la mesure du poids des plumules après séchage, ainsi la mesure du poids sec des plumules a montré qu'indépendamment de la salinité *A.nilotica* avec un poids de 0.052 g dans la concentration C0 est nettement plus élevé que *A.raddiana* ayant enregistré un poids de 0.016g dans la concentration témoin C0 (Fig.25).

L'interprétions statistique des valeurs (comparaison multiple de Dunett) révèle une différence significative du poids sec de la plumule pour *A. raddiana* aux concentrations C2 et

C3 ($p < 0,0001$). Par ailleurs, pour *A.nilotica* les valeurs obtenus aux concentrations C0, C1 et C2 ne présentent pas de différences significatives ($p = 0,76$) (Tableau 8).

Tableau 8 : Analyse statistique du poids frais des plumules.

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	0,016	0,003	A
	C1 (50 m mole/l)	0,015	0,002	A B
	C2 (100 m mole/l)	0,014	0,003	B
	C3 (150 m mole/l)	0,011	0,002	C
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	0,052	0,008	A
	C1 (50 m mole/l)	0,050	0,009	A
	C2 (100 m mole/l)	0,049	0,009	A

Selon la figure 25 le poids sec des plumules des deux espèces *A.raddiana* et *A.nilotica* présente un poids presque similaire aux concentrations C1 et C2 de NaCl alors que dans la concentration C3 il diminue pour *A.raddiana* avec 0,011g et pour *A.nilotica* la mesure du poids frais des plumules des trois plants est inférieure à 0.01g

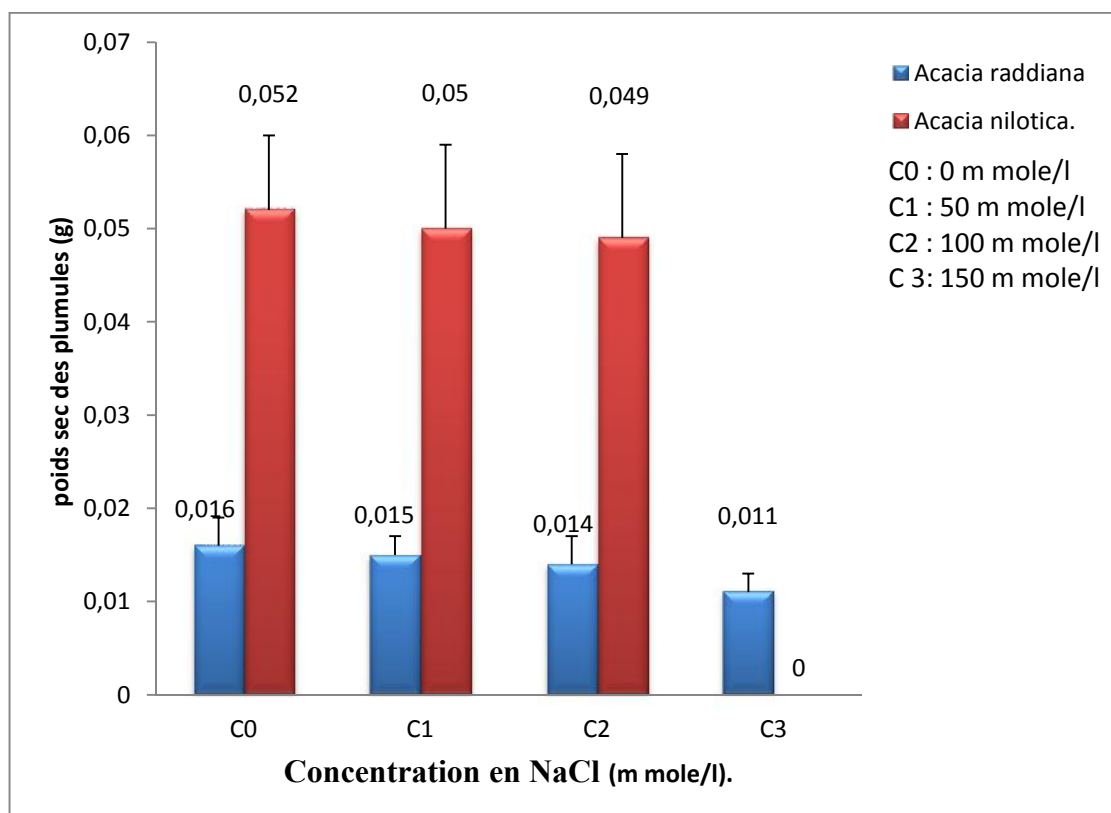


Fig.24 : Effet de la salinité sur le poids sec des plumules d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.

2.1.8. Poids frais de la racicule

La pesée du poids frais des racicules a enregistré des résultats nettement plus élevés chez *Acacia nilotica* avec un poids frais de 0,037 g alors qu'avec *Acacia raddiana* le poids frais des racicules témoin est de 0,016 g en absence de la salinité C0 témoin (Fig.26).

L'interprétation statistique des données (comparaisons multiples de Dunett) révèle une différence hautement significative du poids frais des racicules d'*A. raddiana* qui est de 0,009 g en C3 ($p < 0,0001$). Mais aussi une certaine stabilité du poids frais des racicules aux concentrations d'inhibition C0, C1, C2, pour *A. nilotica* ($P=0,26$) (Tableau 9).

Tableau 9 : Analyse statistique poids frais des racicules.

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	0,016	0,015	A
	C1 (50 m mole/l)	0,015	0,004	A
	C2 (100 m mole/l)	0,014	0,005	A
	C3 (150 m mole/l)	0,009	0,003	B
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	0,037	0,020	A
	C1 (50 m mole/l)	0,033	0,024	A
	C2 (100 m mole/l)	0,028	0,018	A

Pour *A. nilotica* la salinité affecte et diminue le poids des racines pour les concentrations C0, C1 et C2 avec respectivement 0,037g, 0,033g, 0,028g. La mesure du poids frais des plumules des trois plants en concentration C3 est inférieure à 0,01g. Par ailleurs *A. raddiana* présente un poids presque similaire aux concentrations C0, C1 et C2 de NaCl alors qu'en C3 l'effet de la salinité est significatif avec une valeur de 0,009g, et pour *A. nilotica*

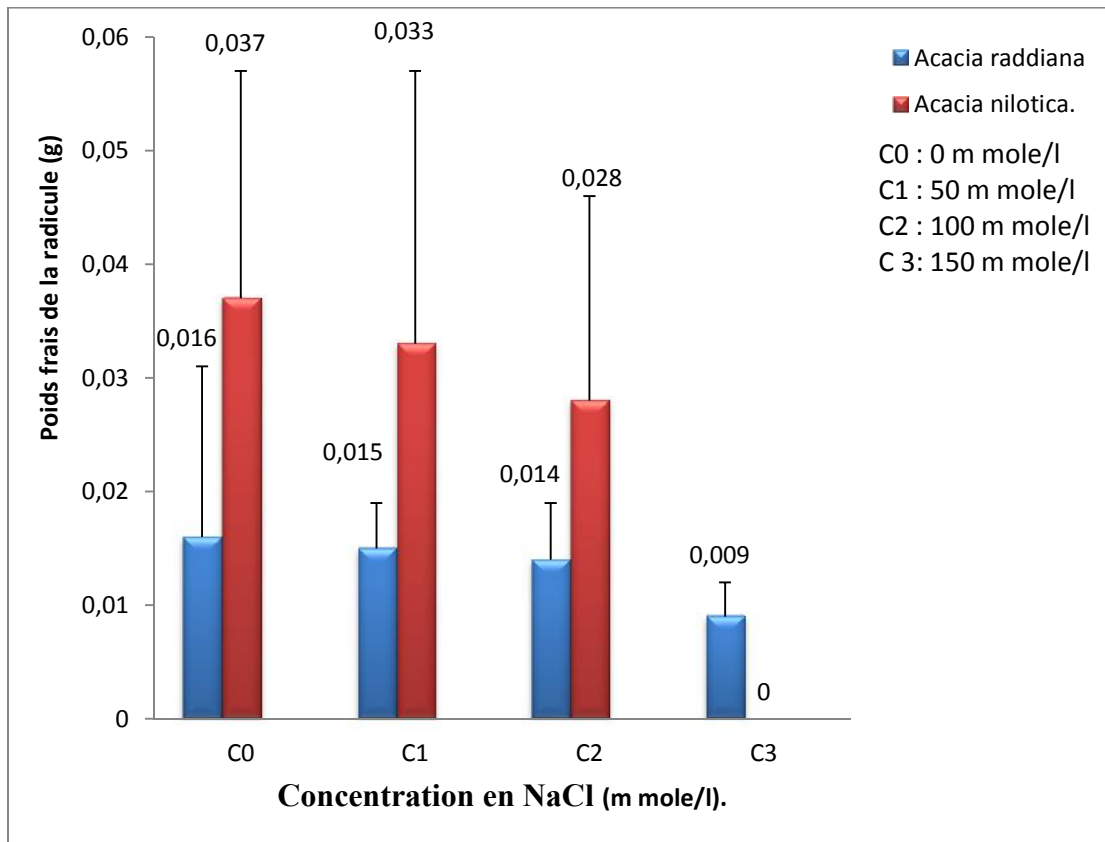


Fig.25 : effet de la salinité sur le poids frais des racicules d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.

2.1.9. Poids sec de la racicule

La mesure du poids sec des racicules des deux Acacias a montré qu'indépendamment de la salinité *A.nilotica* a enregistré une valeur pondérale plus élevée qu'*A. raddiana* dans la concentration C0 non saline (Fig.27).

Les valeurs du poids sec des racicules des deux espèces *A.raddiana* et *A.nilotica* présente un poids presque similaire aux concentrations C1 et C2 de NaCl.

L'effet de la salinité sur le poids sec des racicules est significatif pour *A.raddiana* aux concentrations C2 et C3 ($p = 0,002$, comparaison multiple de Dunett) et pour *A.nilotica* pas de différence significative aux concentrations C0, C1 et C2 ($p=0,093$). Cependant, la mesure du poids sec des plumules des trois plants ne dépasse pas 0.0005 g.

Tableau 10 : Analyse statistique du poids sec des racicules.

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes	
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	0,0016	0,001	A	
	C1 (50 m mole/l)	0,0014	0,000	A	B
	C2 (100 m mole/l)	0,0013	0,001		B
	C3 (150 m mole/l)	0,0007	0,0004		C
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	0,0041	0,001	A	
	C1 (50 m mole/l)	0,0034	0,002	A	
	C2 (100 m mole/l)	0,0031	0,001	A	

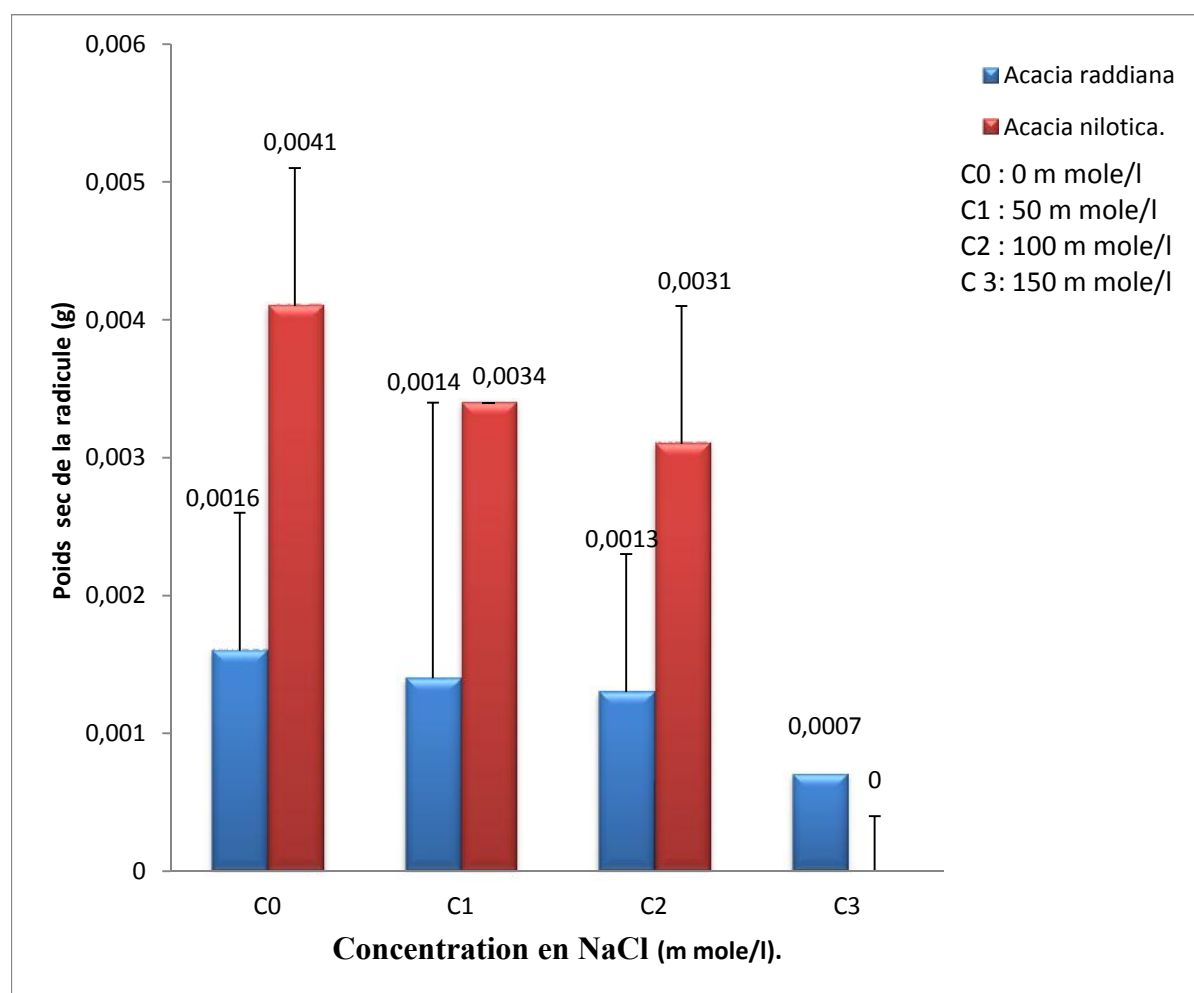


Fig.26 : Effet de la salinité sur le poids sec des racicules d'*A.raddiana* et *A.nilotica*.

2.1.10. Nombre de racines secondaires

Après dénombrement des racines secondaires des deux Acacias nous avons constaté qu'*A.nilotica* présente un nombre plus important de racines secondaires 13 alors qu'*A.raddiana* 6 racines secondaires dans les échantillons non stressés en C0 (Fig.28).

L'analyse statistique révèle que pour *A.raddiana* un l'effet de la salinité est significatif à la concentration C3 ($p < 0,0001$). Alors que pour *A.nilotica* aucune sensibilité significative aux solutions d'inhibitions C0, C1 et C2 ($p = 0,92$).

Tableau 11 : Analyse statistique du nombre de racines secondaires des deux Acacias.

Espèce	Concentrations	Moyenne	Ecart-type	Groupes
<i>Acacia raddiana</i>	C0 (0 m mole/l)	6,025	4,086	A
	C1 (50 m mole/l)	5,350	2,413	A
	C2 (100 m mole/l)	4,225	2,337	A
	C3 (150 m mole/l)	2,950	2,726	B
<i>Acacia nilotica</i>	C0 (0 m mole/l)	13,636	6,961	A
	C1 (50 m mole/l)	9,364	7,839	A
	C2 (100 m mole/l)	7,636	7,632	A

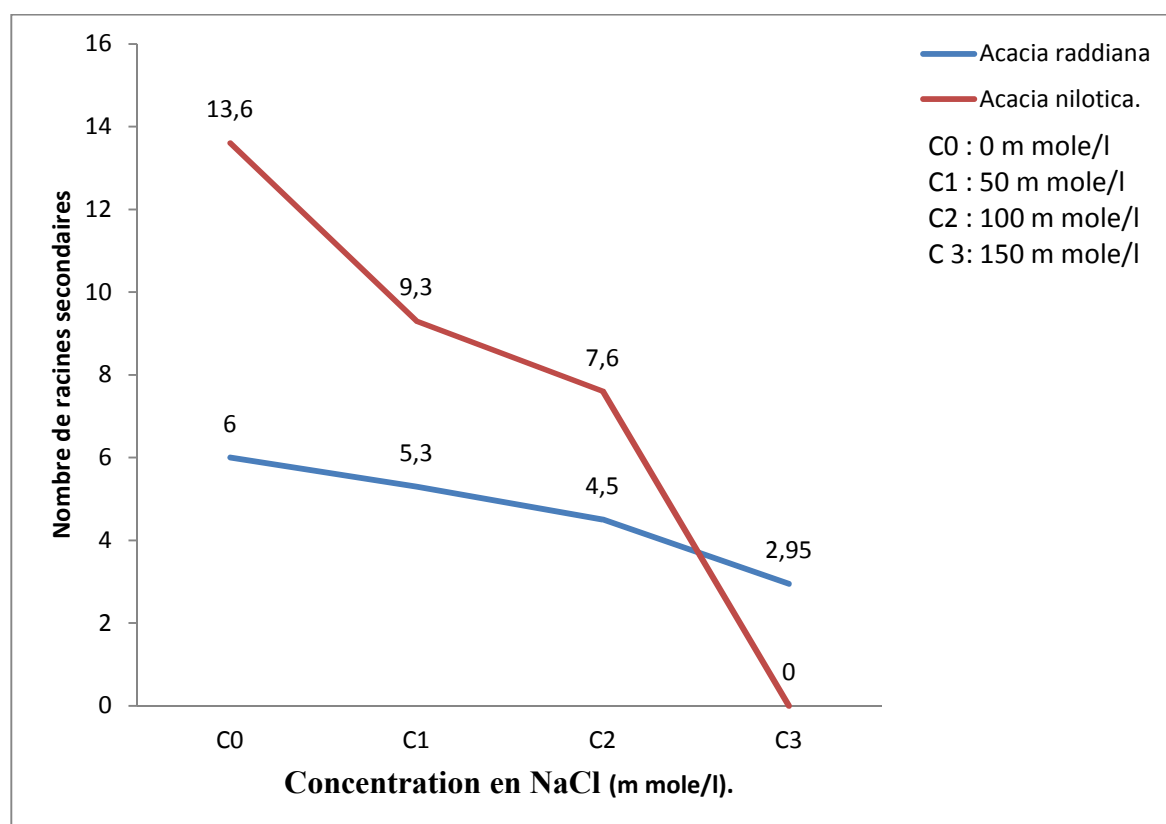


Fig.27 : Effet de la salinité sur le nombre moyen de racines secondaires.



Fig.28 : Racines secondaires d'*A. nilotica* et *A. raddiana* en concentration C0.

2.2. Interprétation

D'après les résultats obtenus au cours de cette expérimentation et en comparaison avec les résultats des travaux précédents (Gazou, 2016 ; Imekhlef et Leghima, 2017), on constate que les *Pseudomonas* spp Fluorescents augmentent significativement le taux et la vitesse de germination d'*A. nilotica* et *A. raddiana*. Ainsi que les paramètres morphologiques et la vigueur en général.

L'analyse de ces résultats met en évidence l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp fluorescents pour la tolérance au sel (NaCl) à des concentrations stressantes, ce qui a été rapporté dans les travaux de (Egamberdieva et al., 2015) et (Bohn et Hanes, 2011).

D'après nos résultats nous avons remarqué qu'indépendamment de l'effet de la bactérisation que l'espèce *A.raddiana* est plus tolérante à la salinité. Selon Ndour et al.,(1998), les taux et les vitesses de germination en condition de stress salin sont plus élevés pour *A raddiana* que *Acacia nilotica* dont la tolérance est limitée, et que la germination de l'espèce *A raddiana* ne s'annule que pour des concentrations en sel proches de celles de l'eau de mer (35 g/l).

Egalement nous avons constaté que la bactérisation a permis une tolérance au sel uniquement aux concentrations C1 et C2.

Il a été signalé que la salinité affecte négativement la croissance et le rendement des plantes en augmentant la production d'éthylène chez ces deux Acacias (Madhaiyan et al., 2007). Il est considéré comme une hormone de stress car l'augmentation de sa synthèse est induite par plusieurs signaux de stress (Glick, 2004). Selon plusieurs auteurs, la tolérance au stress salin induite par les *Pseudomonas* spp fluorescents peut être dû à la synthèse de métabolites impliqués dans la stimulation et la régulation métabolique de la plante (K Gopal Mukerji et al., 2006; Giri B et al., 2007).

L'enzyme ACC-désaminase (1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase) synthétisée par *Pseudomonas* spp fluorescents évaluée dans les travaux de (Omid Younesi et al., 2013), est bien connue pour améliorer la croissance de la racine des plantes en raison de son inhibition de la synthèse de l'éthylène par les plantes (Penrose et Glick, 2001; Glick, 2004; Shaharoon et al., 2007). Ceci pourra expliquer les résultats obtenus au cours de notre expérimentation où nous avons remarqué que le nombre de racines devient plus faible à partir de C2.

Les ions de sodium et de chlorure sont considérés comme des ions biologiquement agressifs (Zhu, 2002).

La tolérance des deux légumineuses à la salinité peut être expliquée par l'augmentation du phosphore assimilable. Par ailleurs la solubilisation du phosphore par les deux souches B1 et B2 a été constatée dans les travaux de Gazou (2016) et Bentaleb (2017).

Conformément aux conclusions de Giri et Mukerji (2004) qui ont constaté que dans le sol salé, une absorption plus élevée de Phosphore par les plantes inoculées peut améliorer leur taux de croissance et leur tolérance au sel et limiter l'effet néfaste du stress salin.

Conclusion

A partir des résultats de cette étude, nous constatons que la bactérisation des graines des deux espèces d'acacia a provoqué une tolérance significative au stress salin. Ainsi que les *Pseudomonas* spp Fluorescents de manière générale augmentent significativement les paramètres morphologiques, la vigueur, le taux et la vitesse de germination d'*A. nilotica* et *A. raddiana*.

A travers les caractéristiques décrites précédemment, les deux espèces d'Acacia ont montré une tolérance au sel, avec *A. raddiana* ayant obtenus des résultats meilleurs en termes de vitesse et de taux de germination et la tolérance au sel. Toutefois *A. nilotica* possède une meilleure croissance en termes de longueur et poids des tiges et racines et cela à un certain seuil de salinité.

En comparaison avec les travaux précédents nous avons remarqué que les souches bactériennes testées B1 et B2 ont un effet de biostimulation de la croissance des espèces cultivées tel que la tomate (Imekhlef et Leghima, 2017), et sur des espèces forestières tel que le cèdre (Gazou, 2016)

Les avantages acquis par cette association entre plante légumineuse et microorganisme PGPR, constitue une voie indispensable pour leur exploitation dans des pratiques agronomiques et forestières, dans la réhabilitation des sols et le maintien des écosystèmes des zones arides et semi arides.

L'introduction des deux espèces *A. raddiana* et *A. nilotica* dans les programmes de reboisement offre une solution de reforestation durable dans les zones arides et semi-arides mais aussi dans celles affectées par la salinité (Hachicha, 2007) et permettrait par conséquent des exploitations diversifiées. Néanmoins, la réussite des phases de germination et de croissance de ces espèces passe inéluctablement par une bonne connaissance de leurs caractéristiques de germination et de développement, ainsi que de leur comportement vis-à-vis des conditions du milieu et ses contraintes, notamment la salinité (Le Floc'h et Grouzis, 2003).

Afin de contribuer à cette initiative cette étude a permis de valoriser l'effet très favorable des microorganismes rhizosphériques et le rôle des *Pseudomonas* spp fluorescents dans la bio stimulation et la tolérance au stress salin.

Egalement il est souhaitable de poursuivre l'expérimentation, par la réalisation des essais de biostimulation « *in situ* » et d'étudier l'effet de la bactérisation en conditions de salinité sur les paramètres morphologiques et biochimiques des espèces végétales (stade plantule)

L'évolution de la biomasse d'*A. raddiana* et *A. nilotica*, traduit une avancée économique prometteuse, et une potentialité phytogénétique en vue de l'amélioration des espèces. (Le Floc'h et Grouzis, 2003). Il est souhaitable que ces deux Acacias soit aussi bien apprécié pour leur intérêt agronomique que phyto thérapeutique, notamment l'utilisation de

ces espèces pour leur pouvoir antioxydant dans la prévention du cancer (Kalaivani et al, 2010).

Références bibliographiques

1. Achat David 2009, Biodisponibilité du phosphore dans les sols landais pour les peuplements forestiers de pin maritime ; université de Bordeaux 1 Ecole doctorale Sciences et Environnements
2. Alexandre (D. Y.), Ouedraogo (J. S.), 1992 - (c Variations in roots morphology of *Faidherbia albida* in relation to soil and agronomic effects.). In *Faidherbia albida* in the West African semi arid tropics, Proceedings of a Workshop, Niamey, April 1991, Vandenbeldt éd, ICRISAT-ICRAF : 107-110
3. Anjaiah, V., Koedam, N., Nowak-Thompson, B., Loper, J. E., Hofte, M., Tambong, J. T. and Cornelis, P., 1998. Involvement of phenazines and anthranilate in the antagonism of *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 and Tn5 derivatives toward *Fusarium* spp. and *Pythium* spp. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11:847–854.
4. Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., 2000. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1563–1589.
5. Baenziger M., PS. Setimela, D. Hodson, B. Vivek. 2006. Breeding for improved abiotic stress tolerance in maize adapted to southern Africa. *Agric. Water Manage.* 80: 212–224.
6. Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S. and Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 233-66.
7. Bakhoun, Niokhor; Odee, David W.; Fall, Dioumacor; Ndoeye, Fatou; Kane, Aboubacry; Kimiti, Jacinta M.; Zoubeirou, Alzouma M.; Sylla, Samba Nd.; Noba, Kandioura; Diouf, Diégane. 2016. Senegalia Senegal response to inoculation with rhizobial strains vary in relation to seed provenance and soil type. *Plant and Soil*, 398 (1). 181-193. 10.1007/s11104-015-2655-6.
8. Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., and Van Loon L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 (2), 239-243.
9. Bangera, M. G. and Thomashow, L. S., 1996. Characterization of a genomic locus required for synthesis of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87. *Mol. PlantMicrobe Interact.* 9:83–90.
10. Bansa A (2009) Phytochemical and antibacterial investigation of bark extracts of *Acacia nilotica*. *J. Med. Plants Res.*, 3(2): 082-085
11. Bargal Kiran, Bargali SS. *Acacia nilotica*: a multipurpose leguminous plant. *Nature and Science*. 2009; 7(4):11-19. 2. Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. *Glossary of Indian*.
12. Batanouny K.H., Baeshin N.A., 1982-Studies on the flora of Arabia. *Bull.Fac.Sci., K.A.U.,Jeddah*, (6):1-26.
13. Becker, J.O. and Cook, R.J., 1988. Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathol.* 78:778–782.
14. Belhadjadi Y., Melekmi N., Belboukhari N., Chériti A., 2008 Une approche environnementale par phytoextraction assistée par micro-ondes (MAE) d'*Acacia raddiana*. Colloque National sur la Chimie et l'Environnement CNCE. Saïda.
15. Belimov, A.A., Safronova, V.I., Sergeyeva, T.A., Egorova, T.N., Matveyeva, V.A., Tsyganov, V.E., Borisov, A.Y., Tikhonovich, I.A., Kluge, C., Preisfeld, A., Dietz, K. J.

- and Stepanok, V.V., 2001. Characterisation of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.* 47: 642–652.
16. Bell-Perkins, L. J. and Lynch J.M. (2002). Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. In G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*, A Wiley-Interscience Publication, Canada.
17. Ben Christie 2014 The egyptians had their own version of ayahuasca they called “the tree of life may 31, 2014
18. Benabid, A. (2000). *Flore et écosystèmes du Maroc*, Evaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press, Paris. Birouk.
19. Bender, C. L., V. Rangaswamy, and J. Loper. 1999. Polyketide production by plant-associated pseudomonads. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37:175-196.
20. Biswas JC, J.K. Ladha and F.B. Dazzo ; Rhizobia Inoculation Improves Nutrient Uptake and Growth of Lowland Rice 2000 ;Vol. 64 No. 5, p. 1644-1650
21. Bitter, W., Marugg, J.D., de Weger, L.A., Tommassen, J. and Weisbeek, M. P. J., 1991. The ferric-pseudobactin receptor PUPA of *Pseudomonas putida* WCS358 : homology to TonB-dependent Escherichia coli receptors and specificity of the protein. *Mol. Microbiol.* 5: 647-655.
22. Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J.J., 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, pp 343-350.
23. Bonner (F. T.), 1992 - Seed technology : a challenge for tropical forestry. *Tree Planters' Notes*, 43 : 42-145.
24. BOUIOS L., 1983 - *Medecinal plants of North Africa*. Michigan, Reference Publications Inc. Algonac. 286 p.
25. Brenan, J.P.M. 1957 ; Notes on Mimosoideae III. *Kew Bull.* 12: 86–89
26. Brittan Starr Scales et al., 2014 Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans, ; *Clin. Microbiol. Rev.* 2014, 27(4):927. DOI:10.1128/CMR.00044-14.
27. Budzikiewicz, H., 1993. Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiol. Rev.* 104: 209–228.
28. Budzikiewicz, H., 1997. Siderophores of fluorescent pseudomonads. *Z. Naturforsch* 52 (C): 713–720.
29. Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R., 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3663-3668.
30. CALEM, 2003-Center for Arid Lands Environmental Managen.file://A:\DESERT.HTM.
31. Campbellec D., Grastons J., Hirst D.J., 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of microbiological methods*, 30 (1), pp 33-41.
32. Cardon et Gage, 2006 Resource Exchange in the Rhizosphere: Molecular Tools and the Microbial Perspective *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2006. 37:459–88.
33. Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R., Keel, C., Bakker, P., Tichy, H., De Bruijn, F.,

- Thomas-Oates, J. and Lugtenberg, B.J., 1998. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11:1069–1077.
34. Chopra I. C., Abrol B. K., Handa K.L., 1960-Les plantes médicinales des zones arides considérées surtout d'un point de vue botanique. Ed. UNESCO, Paris : 1156.
35. Compant S, Brion Duffy, Jerzy Nowak, Christophe Clément, and Essaid Ait Barka Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects ; 2005 vol. 71 no. 94951-4959
36. Cook RJ, Sittou JW, Haglund WA (1987) Increased growth and yield responses of wheat to reductions in the *Pythium* population by soil treatments. *Phytopathology* 77, 1192-1198.
37. Cornelis P., 2008. The 'core' and 'accessory' regulons of *Pseudomonas*-specific extracytoplasmic sigma factors. *Molecular Microbiology*, 68(4), pp 810-812.
38. Couillerot O., Prigent-Combaret C., Caballero-Mellado J., Moënné-Loccoz Y., 2009. *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens *Letters in Applied Microbiology*, 48, (5), pp 505-512.
39. Dahdah K, A. Rai1, Leila Bensidhoum1, M.Schmid, A.hartmann et E.Nabti, 2015 Caractérisation d'une souche d'action bactérienne, *dielia* sp., productrice de métabolites d'intérêt agricole *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 9, N°1, p : 1-19.
40. David Emerson, Jeremy A. Rentz, Timothy G. Lilburn, Richard E. Davis, Henry Aldrich, Clara Chan & Craig L. Moyer, 2007 : « A Novel Lineage of Proteobacteria Involved in Formation of Marine Fe-Oxidizing Microbial Mat Communities » *PLoS ONE* 2(8).
41. Dcarlson 2007 *Acacia nilotica* range map from the Commons, info from ILDIS LegumeWeb and the GIMP.
42. Diby P., Saju K.A., Jisha J.P., Sarma Y.R., Kumar A., Anandaraj M., 2005a. Mycolytic Enzymes Produced by *Trichoderma* and *Pseudomonas fluorescens* spp. Against *Phytophthora capsici*, foot rot pathogen of the black pepper (*Piper nigrum* L.). *Annals of Microbiology*, 55, (2), pp 129-133.
43. Diby P., Sarma Y.R., Srinivasan V. and Anandaraj M., 2005b. *Pseudomonas fluorescens* mediated vigour in Black pepper (*Piper nigrum* L.) under green house cultivation. *Annals of Microbiology*, 55, (3), pp 171-174.
44. Dieter Haas et Geneviève Défago, 2005, Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads *Nature Reviews Microbiology* 3, 307-319 (April 2005)
45. Digat B, Gaudillat M, Labadie JM (1990) Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Symbiosis* 9, 295-303.
46. Djerroudi –Zidane O., M. Belkhouja, S. Bissati, S. Hadjadj. 2010. Effet du Stress Salin sur l'accumulation de Proline Chez Deux Espèces d'*Atriplex Halimus* L. et *Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt. *European Journal of Scientific Research*, 41 : 249-260.
47. Dommergues Yvon, Duhoux Emile, Diem Hoang Gia. 1999. Les arbres fixateurs d'azote : caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulière aux zones subhumides et arides. Montpellier : Espaces 34, 523 p .ISBN 2-907293-57-5.

48. Dowling, D.N. and O’Gara, F, 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends Biotechnol. 12: 133-140.
49. Elad Y, Chet I, Baker R (1987) Increased growth response of plants induced by rhizobacteria antagonistic to soilborne fungi. Plant Soil 98, 325-330.
50. Fanuel Lampiao 2013 The Anti-fertility Effects of *Acacia nilotica* in Male Wistar Rats J Reprod Infertil v.14(1); Jan-Mar 2013
51. FAO (1983). "Manuel Sur La Taxonomie Des Espèces D'acacias." Archives De Documents.
52. Fennane, M. ; Ibn Tattou, M. ; Mathez, J. ; Ouyahya, A. And Oualidi, J. (2007). Flore Pratique Du Maroc.
53. Fenton, A.M., Stephens, P.M., Crowley, J. O’Callaghan, M. and O’Gara, F., 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. Appl. Environ. Microbiol. 58: 3873-3878.
54. Flora Nordica, 2013 Department of botany, Swedish Museum of Natural History, P.O. Box 50007, SE-104 05 Stockholm.
55. Foster RC, Rovira AD (1978) The ultrastructure of the rhizosphere of *Trifolium subterraneum* L. In: Microbial ecology (MW Loutit, JAR Miles, eds) SpringerVerlag, Berlin, 278-290.
56. Gamble, T.N., Betlach, M. R. and Tiedje, J.M., 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. Appl. Environ. Microbiol. 33: 926-939.
57. Garbaye, J. (1994) Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytol. 128, 197 ;210.
58. Garcia, M.G., O’Connor, J.E., Garcia, L.L., Martinez, S.I.,Herrero, E. and del Castillo, A.L., 2001. Isolation of a *Candida albicans* gene, tightly linked to URA3, coding for a putative transcription factor that suppresses a *Saccharomyces cerevisiae* aft1 mutation. Yeast 18: 301–311.
59. Gazou .2016. les effets benefiques des *Pseudomonas* spp Fluorescents dans la biostimulation et le biocontrole des vegetaux
60. Ghiglione, J.F., Gourbiere, F., Potier, P., Philippot, L. and Lensi, R., 2000. Role of respiratory nitrate reductase in ability of *Pseudomonas fluorescens* YT101 to colonize the rhizosphere of maize. Appl. Environ. Microbiol. 66: 4012–4016.
61. Gideon Halevy 1974, Effects of gazelles and seed beetles (bruchidae) on germination and establishment of *acacia* species
62. Giri B, Kapoor R, Mukerji KG .Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by Arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. Microb Ecol. 2007 Nov;54(4):753-60. Epub 2007.
63. Glick B.R., Patten C.L., Holguin G. and Penrose D. M. (Eds.), 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Imperial College Press, London, UK, 270 p.
64. Glick BR, Karaturovic DM and Newell PC (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. Can J Microbiol, 41: 533-536
65. Glick, B.R., Jacobson, C.B., Schwarze, M.M.K. and Pasternak, J.J., 1994. 1-Aminocyclopropane-l-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth

- promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. Can. J. Microbiol. 40: 911-915.
66. Grichko, V.P. and Glick, B.R., 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. Plant Physiol. Biochem. 39: 11-17.
67. Grouzis M., 1993 - « Phénologie de deux espèces ligneuses sahéliennes: aspects méthodologiques et influence des facteurs du milieu ». In Riedacker A., Dreyer E., Pafadman C., Joly H., Bory G., éd.: Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides, Paris, Groupe d'Étude de l'arbre: 145-153.
68. Grouzis M., Akpo L. E., 1997 - Influence of tree cover on herbaceous above- and below-ground phytomass in the Sahelian zone of Senegal. Journal of Arid Environments, 35 : 285-296.
69. Guerinot, M. L., 1994. Microbial iron transport. Annu. Rev. Microbiol. 48: 743-772..
70. Guinet P., Vassal J., 1978 - Hypothesis on the differentiation of the major group in the genus *Acacia* (Leguminosae). Kew Bul. 32 (3) : 509-527
71. Gurusiddaiah, S., Weller, D.M., Sarkar, A. and Cook, R. J., 1986. Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Pythium* spp. Antimicrob. Agents Chemother. 29:488-495.
72. H. Mahdi, K. Palmina & I. Glavtch, 2006, Characterization of *Acacia Nilotica* as an indigenous tanning material of Sudan, Journal of Tropical Forest Science 18(3): 181-187 (2006).
73. Haas, D. and Défago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Nat. Rev. Microbiol. 3: 307-319
74. Haas, D. and Keel, C., 2003. Regulation of antibiotic production in rootcolonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 41:117-153.
75. Hammer P.E., Hill, D.S., Lam, S.T., Van Pee, K.H. and Ligon, J.M., 1997. Four genes from *Pseudomonas fluorescens* that encode the biosynthesis of pyrrolnitrin. Appl. Environ. Microbiol. 63:2147-2154.
76. Heuzé V., Tran G., 2015. Umbrella thorn (*Acacia tortilis*). Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO.
77. Hirsch, A.M., Bauer, W.D., Bird, D.M., Cullimore, J., Tyler, B. and Yoder, J.I. , 2003. Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. Ecol. 84: 858-868.
78. 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.
79. Höfte, M. and de Vos, P., 2006. Plant pathogenic *Pseudomonas* species. In: Plant-associated bacteria. Part. 3, Gnanamanickam, S.S. (Eds). Springer, Netherlands, pp. 507-533.
80. Homma, Y., Kato, Z., Hirayama, F., Konno, K., Shirahama, H. and Suzui, T., 1989. Production of antibiotics by *Pseudomonas cepacia* as an agent for biological control of soilborne plant pathogens. Soil Biol. Biochem. 21:723-728.

81. Howell, C. R. and Stipanovich, R. D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathol.* 69: 480-482.
82. Iavicoli, A., Boutet, E., Buchala, A. and Métraux, J.P., 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to rootinoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 16:851–858.
83. Iman H, Gohary AL, Amaal HM. Seed morphology of *Acacia* in egypt and its taxonomic significance. *Int. J. Agr. & Bio.* 2007; 9(3):435-438
84. Jacobsen C.S., 1997. Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* DBO1 (pRO101) in 2,4-D contaminated soil. *Plant Soil*,189, pp 139-144.
85. Jacques P., Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Thonart P., 1993. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier Agriculture*, 2, pp 301-307.
86. Jamal Bellakhdar 1978 ;___Médecine traditionnelle et toxicologie ouest sahariennes: contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Éditions techniques nord-africaines.
87. Kapulnik Yoram,Hanne Volpin,Hannan Itzhaki,dana Ganon,Shmuel Galili,Rakefet David,Orna Shaul,Yigal Elad,Ilan Chet,Yaacov Okon Suppression of defence responses in mycorrhizal alfalfa and tobacco roots Volume 133, Issue 1May 1996 P 59–64.
88. Keel C, Maurhofer M, Oberlhansli TH, Voisard C, Haas D, Defago G (1991) Role of 2,4diacetylphloroglucinol 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.
89. Khakipour N., Khavazi K., Mojallali H., Pazira and E., Asadirahmani H.,2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4, (6), pp 687-692.
90. Kiema A., Nianogo A.-J., Ouedraogo T., Somba J.,2008 - Use of local feed resources in the farmers ram fattening scheme: technical and economical performance. Étude originale .*Rev.Cahiers Agricultures*,17 (1): 23-27
91. Kirner, S., Hammer, P.E., Hill, D.S., Altmann, A., Fischer, I., Weislo, L.J., Lanahan, M., van Pée, K.H. and Ligon, J.M., 1998. Functions encoded by pyrrolnitrin biosynthetic genes from *Pseudomonas fluorescens*. *J. Bacteriol.* 180(7): 1939-1943.
92. Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. Conf. Plant Pathogen. Bacteria. Angers France, 2: 879-882.
93. Konate, N M. (2010). Diversité interspécifique d'efficience d'utilisation de l'eau des acacias sahéliens et australiens.
94. Krishna Gopal Mukerji, C. Manoharachary, Jagjit Singh Microbial Activity in the Rhizosphere , 2006, vol7 , ISBN 3540294201, 9783540294207
95. Larbaoui A., 2003. Etude des mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de résistance

94. systémique vis à vis des fusarioses vasculaires, Thèse de Magister, Université de Blida, 94 p.
96. Latour X. et Lemanceau P, 1997. Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie*, 17, p 427-423.
97. Laurentis,a Khim Leang,a Katrin Hahn,b Bianca Podemski,b Ariane Adam,b Sonja Kroschwald,b Lester G. Carter,a Karl-Heinz van Peeb James H. Naismitha and Walter De 2006 (Preliminary crystallographic characterization of PrnB, the second enzyme in the pyrrolnitrin biosynthetic pathway)
98. Le Floc'h M. Grouzi, 2003 *Acacia raddiana*, un arbre des zones arides à usages multiples ISBN : 2-7099-1522-7
99. Leisinger T, Margraff R (1979) Secondary metabolites of pseudomonads. *Microbiol Rev*43, 422-442.
100. 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.
101. Lemanceau P, Bauer P, Kraemer S, Briat J.F. 2009. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant Soil*, 321, pp 513-535
102. Leong J (1986) Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 24, 187-208.
103. Lim, H.S., Kim, Y.S. and Kim, S.D., 1991. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 Genetic Transformation and Antifungal Mechanism against *Fusarium solani*, an Agent of Plant Root Rot. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(2): 510-516.
104. Loper JE, Schroth MN (1986) Importance of siderophores in microbial interactions in the rhizosphere. In: *Iron siderophores and plant disease* (TR Swinburne) Plenum Press, New York, 85-98.
105. Loper, J.E., 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathol.* 78:166–172.
106. Lynch, J.M., 1990. The rhizosphere. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 458p.
107. Magatte, 2001 Essai clinique randomise de l'*Acacia Nilotica* versus fluconazole dans le traitement de la candidose bucco-oesophagienne chez les personnes vivant avec le VIH à Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar
108. Mahesh B and Satish S (2008) Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant against Plant and Human Pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences.*, 4 (S): 839843. 39.
109. Malviya et al, 2011, Medicinal attributes of *Acacia nilotica* Linn. - A comprehensive review on ethnopharmacological claims.
110. Mann A, Gbate M, Umar A. Medicinal and economic plants. Jube Evans books and publication, Bida, Nigeria. 2003, 160.
111. Marchal N., Bourdon J. L. 1981 Techniques bactériologiques EAN13 : 9782704003372
112. Marugg JD, Weger LA (de), Neilander HB, Oorthuizen M, Recourt K, Lugtenberg B, Van der Hofstad GAHM, Weisbeek PJ (1989) Cloning and characterization of a gene encoding an outer membrane protein required for siderophore-mediated uptake of Fe³⁺ in *Pseudomonas putida* WCS358. *J Bacteriol* 171, 2819-2826.

- 113.Maslin, B.R., Miller, J.T. and Seigler, D.S. (2003). Overview of the generic status of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Systematic Botany*
- 114.Matig Eyog, O., Ndoeye, O., Kengue, J. et Awono, A., 2006. Les Fruitières Forestières Comestibles du Cameroun. ISBN-13: 978-92-9043-707-9.
- 115.Matiru VN, Dakora FD. The rhizosphere signal molecule lumichrome alters seedling development in both legumes and cereals. *New Phytol.* 2004;166:439–44. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01344.x.
- 116.Maurhofer, M., Hase, C., Meuwly, P., Metraux, J.P. and Défago, G., 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the rootcolonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathol.* 84: 139–146.
- 117.Maurhofer, M., Keel, C., Schnider, U., Voisard, C., Haas, D. and Défago, G., 1992. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity. *Phytopathol.* 82(2): 190–195.
- 118.Mazzola, M., Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M. and Pierson, L.S.III, 1992. Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2616-2624.
- 119.McSpadden Gardener, B.B. and Fravel, D.R., 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.
- 120.Migula W., 1894. Über ein neues System der Bakterien. *Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe*, 1, pp 235-238.
- 121.Moore M., Mau, A. Arnscheidt, E. C . Böttger, R. A . Hutson, M. D . Collins, Y. Van De Peer, R. De Wachter, and K. N. Timmis. 1996. The determination and comparison of the 16S rRNA gene sequences of species of the genus *Pseudomonas* (sensu stricto) and estimation of the natural intrageneric relationships. *Syst. Appl. Microbiol.* 19:478–492.
- 122.Munns R., RA. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: A case study with tetraploid wheat. *Plant Soil.* 253: 201- 218.
- 123.Nadkarni KM. *The Indian Plants and Drugs*. New Delhi: Shrishti Book Distributors 2005; 4:5.
- 124.Natsch, A., Keel, C., Pfirter, H.A., Haas, D. and Défago, G., 1994. Contribution of the global regulator gene *gacA* to persistence and dissemination of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain CHAO introduced into soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2553-2560.
- 125.Nguyen, C., 2009. Rhizodeposition of organic C by plant: mechanisms and controls. In: *Sustainable Agriculture*. Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Souchère, V. and Alberola, C. (Eds). Springer, Netherlands, pp. 375-396.
- 126.Nielsen, M.N. and Sorensen, J., 1999. Citinolytic activity of *Pseudomonas fluorescens* isolates from barley and sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 30: 217-227
- 127.Nielsen, T.H., Christophersen, C., Anthoni, U. and Sorensen, J., 1999. Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *J. Appl. Microbiol.* 87: 80-90.

128. Nongonierma (A.), 1977 - Contribution à l'étude biosystématique du genre *Acacia* Miller en Afrique occidentale. IV. Distribution bioclimatique des différents taxa - V. Caractères biométriques des fruits. Bull. IFAN 39 série A : 318-339 et 695-787 .
129. Orwa et al, 2009. World Agroforestry Centre, Kenya
130. Palleroni, N. J. 1984. Genus I. *Pseudomonas*, p.141–199. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md.
131. Palleroni, N.J., 1984. Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.
132. Park K.H, Lee C.Y , Son H J, 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett Appl Microbiol*, 49 (2), pp 222-228.
133. Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48: 635-642.
134. Philippot, L., Clays-Josserand, A. and Lensi, R., 1995. Use of Tn5 mutants to assess the role of the dissimilatory nitrite reductase in the competitive abilities of two *Pseudomonas* strains in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1426–1430.
135. Pierson, L.S.III and Thomashow, L.S., 1992. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. *Mol. Plant Microbe-Interact.* 5: 330-339
136. Pontie (G.), Gaud (G.), 1992 – L'environnement en Afrique. Afrique contemporaine, Paris, 249 p.
137. Richard (J. F.), 1990 - La dégradation des paysages en Afrique de l'Ouest. Aupelf, UICN, Orstom, Enda, Dakar, 310.
138. Rodriguez H, Fraga R (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances.* 17: 319-339.
139. Rosas S.B., Andrés J.A., Rovera M., Correa N.S., 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis. *Soil biology and biochemistry* , 38, (12), pp 3502-3505.
140. Ross J. H., 1973 - Towards a Classification of the African Acacias. *Bothalia*, 11 (1-2) : 107-113.
141. S.I.FOR, 2009 – « Système d'Information Forestier » Répertoire des espèces forestières ligneuses des régions de Mopti, Tombouctou et Gao. Bamako.
142. Sadio (S.), 1989 - Pédogenèse et potentialités forestières des sols sulfatés acides salés des tannes du Sine Saloum, Sénégal. Landbouwniversiteit, Wageningen, 270 p.
143. Salisbury, F.B., 1994. The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions*. Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA., pp. 39-81.
144. 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.

145. Shah, S., Li, J., Moffatt, B.A. and Glick, B.R., 1998. Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growthpromoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 44: 833-843.
146. Smirnov, V.V. and Kiprianova, E.A., 1990. Bakterii roda *Pseudomonas* (Bacteria of the Genus *Pseudomonas*), Kiev: Naukova Dumka, pp. 100-111.
147. Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *Jul;31(4):425-48. Epub 2007.*
148. Stevans, A.M., Dolan, K.M. and Greenberg, E.P., 1994. Synergistic binding of the *Vibrio fischeri* LuxR transcriptional activator domain and RNA polymerase to the *fax* promoter region. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91:12619-12623.
149. Stewart, M., 1988. Computer image processing of electron micrographs of biological structures with helical symmetry. *J. Electron. Microsc. Tech.* 9(4):325-358. Storz.
150. 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.
151. Szabolcs (I.), 1992 - Salinization of soil and water and its relation to desertification. *Desertification Control Bulletin*, 21 : 32-37.
152. Talhi M. Fouzi , Cheriti Abdelkrim & Belboukhari Nasser ,2010 ; Biodiesel production by Transesterification of *Acacia raddiana* Oils Under Heterogeneous catalysis *Journal of Scientific Research* N° 0 vol. 1 (2010).
153. Teintze M, Hossain MB, Barnes CL, Leong J, Van der Helm D (1981) Structure of ferri-pseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10. *Biochemistry* 20, 6446-6457.
154. van der Heijden MG, Bardgett RD, van Straalen NM. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol Lett.* 2008 Mar;11(3):296-310.
155. Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Van der Heijdt W.H.W, Wendehenne D., and Pugin Alain, 2008. Early Responses of Tobacco Suspension Cells to Rhizobacterial Elicitors of Induced Systemic Resistance. *The American Phytopathological Society*, 21, (12), pp 1609-1621.
156. Vassal 1978. Hypotheses on the differentiation of the major groups in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bulletin.* 32:509-527.
157. Vega N.W.O., 2007. A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellin*, 60, pp 3621-3643.
158. Vèronique Habauzit and Christine Morand, 2012 Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians 87–106.
159. Vessey, K. J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571–586.
160. Weller D.M., 2007. The Nature and Application of Biocontrol Microbes III: *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens:

- Looking Back Over 30 Years. *Phytopathology*, 97, (2), pp, 250-256.
161. Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B Mc Spadden., Thomashow L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, pp 309-348.
162. 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.
163. Whipps J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52, pp 487-511.
164. Wickens G.E., Self el Din A.G., Sita G., Nahal L, 1996 - Rôle des acacias dans l'économie rurale des régions sèches d'Afrique et du Proche-Orient Rome, FAO, Cahier FAO Conservation, nO 27, 152 p.
165. Zahir Z.A., Arshad M. and Frankenberger W.T., Jr. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: perspectives and application in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, pp 96-168.
166. Zhu SY, Hong DL (2008) Comparison between two hybrid cultivars of indica rice (*Oryza sativa* L.) in seed vigor and biochemical traits after aging. *Chinese J. Eco-Agric.* 16(2): 396-400.

Annexes

Annexes

■ **Annexe 1**

■ Annexe 2

Milieu King B « KB » (king et *al.*, 1954)

• Peptone	20g.
• Glycérol	15g.
• K ₂ HPO ₄	1,5g.
• Mg SO ₄	1,5g.
• Agar agar	1,5g.
• Eau distillée q.s.p	1000 ml.

Ajuster à un PH=7,2. Autoclavage à 120° C pendant 20mn.

Milieu Gélatine (Gardan et Luisetti, 1981)

• Extrait de levure	3g
• Peptone	5 g
• Gélatine	120 g
• Eau distillée	1000ml

Ajuster à un PH=7. Autoclavage à 120° C pendant 20 mn.

Milieu mevag (Marchal et bourdon, 1981)

• Tryptone	3g
• Dipotassium phosphate	0,3 g.
• Potassium chlori	5g
• Eau distillée q.s.p	1000ml.

Ajuster à un ph=7,8. Autoclavage à 120° C pendant 120 mn.

Milieu Citrate de Simmons (Gardan et Luisetti, 1981)

• Sulfate de magnésium	0,2 g/l.
• Dihydrogénophosphate d'ammonium	0,2 g/l.
• Citrate trisodique	2,5 g/l.
• Bleu de bromothymol	0,080 g/l.
• Sodium ammonium phosphate	0,8 g/l.
• Chlorure de sodium	5,0 g/l.
• Agar	14,0 g/l.
• PH= 6.9 ± 0,2	

Milieu mannitol mobilité (Gardan et Luisetti, 1981)

• Peptone	20g
• Agar	4g
• Nitrate de potassium	1g
• Rouge de phénol	40g

- Mannitol 2g
- Gélose 4g
- Eau distillée q.s.p 1000ml
- Ajuster à un PH=8.1. Autoclavage à 120° C pendant 20 mn.

Milieu Clark et Lubs (Marchal et bourdon, 1981)

- Peptone tryptique 5 à 7g
 - Glucose 5 g
 - Phosphate bi potassique 5 g
 - Eau distillée q.s.p 1000ml
 - Ajuster à pH = 7,2. Autoclavage à 120° C pendant 20 mn.
-