

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de Master en sciences agronomiques.
Spécialité : Production végétale et agriculture durable

Sujet

Les effets bénéfiques des
Pseudomonas spp. fluorescents
sur les végétaux

Présenté par : M^{elle} Gazou Souad

Devant le jury :

Présidente : M ^{me} Menhouk N.	M.A.C.C (UMMTO)
Promotrice : M ^{me} Dahoumane-Larbaoui K.	M.A.C.C (UMMTO)
Examinatrice : M ^{me} Abdellaoui K.	M.A.C.C (UMMTO)
Examinatrice : M ^{me} KOURABA F.	M.A.C.C (UMMTO)

2015-2016

REMERCIEMENTS

J'adresse Mes Vifs Remerciements Aux Personnes Qui M'ont Aidé Dans La Réalisation De Ce Mémoire.

Au Terme De Ce Travail, Je Tiens A Remercier Et Exprimer Ma Plus Profonde Reconnaissance Ma Promotrice : Mme Dahoumane-Larbaoui Aqila Pour M'Avoir Epaulé Tout Au Long De Ce Travail, Pour M'Avoir Fait Profiter De Ses Connaissances, Pour Ses Encouragements, Sa Disponibilité Et Pour Son Soutien Précieux Lors De La Rédaction De Mon Mémoire.

Mes Gratitudes Vont Aux Membres Du Jury ;

J'Adresse Mes Sincères Remerciements à Mme Mnhouk-Lounis Nacira Pour M'avoir Fait L'honneur De Présider Le Jury.

Mes Remerciements Vont Egalement à Mme Abdellaoui Karima Et Mme KOURABA CHERJFJ Fariza Pour Avoir Accepter D'examiner Mon Travail Et La Disponibilité Dont Elles Ont Fait Preuve.

Je Remercie Tout Les Enseignants Qui Ont Été Derrières Cette Réussite, Spécialement Mme Houchi Pour M'avoir Accordé La Chance De Faire Partie Du Master Production Végétale, Ainsi Que Pour Ses Conseils Judicieux.

Je remercie également Mme Aneur Djamila pour son aide dans l'étude statistique.

Je Tiens A Remercie Egalement Les Personnel Des Laboratoires Pour L'atmosphère De Travaux Et Leurs Disponibilités.

Je Remercie Toute Personne Qui A Contribué De Prêt Ou De Loin A La Réalisation De Ce Travail.

AIA : acide indole acétique.

C° : Degré Celsius

CHAO : *P. fluorescens* CHAO.

DAPG: 2,4-diacetylphloroglucinol

Fecl3 : Le chlorure de fer(III)

FO : *Fusarium oxysporum*.

FOA: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

FOL: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

h : Heure

HCN : Acide cyanidrique

H2O2 : eau oxygénée.

ISR:induced systemic resistance.

KB:milieu B de King.

mg : milligramme

ml : Millilitre

MS: milieu Mineral Salt Medium

Nacl : Le chlorure de sodium

NB : milieu Nutrient Broth

NBRIP : Milieu National Botanical Reseach Institu's Phosphate

P.: *Pseudomonas diminutus*.

Pi : phosphore

PDA: potato dextrose agar.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

Pg : Picogramme

PVK : Milieu Pikovskaya)

RM : le rouge de méthyle

VP : le Voges Proskauer

µg : microgramm

% : pourcentage

Figure 1 : schéma simplifié représentant les effets directes et indirectes rhizoé bactérie exemple illustré des <i>Pseudomonas</i> spp.fluorescents	05
Figure 2 : cèdre de l'atlas	14
Figure 3 : feuilles(a), cônes(b) et fruit du cèdre d'atlas	14
Figure 4 : <i>Acacia raddiana</i>	17
Figure 5 : Feuilles(a), fleurs(b) et fruits d' <i>Acacia radianna</i>	18
Figure 6 : <i>Acacia nilotica</i>	19
Figure 7 : Feuilles et fleurs(a), fruit(b) et graine(c) d' <i>A. nilotica</i>	20
Figure 8 : Culture de tomate	22
Figure 9 : Galerie biochimique classique	29
Figure 10 : Inoculation de plaque API 20 Ne	32
Figure 11 : Tableau de lecture de la plaque API 20 Ne	32
Figure 12 : Mise en germination des graines	35
Figure 13 : Méthode des spots	37
Figure 14 : Méthodes des stries	37
Figure 14 : Méthode de confrontation de boîte	38
Figure 15 : Observation macroscopiques des souches	40
Figure 16 : Pigment fluorescents des <i>Pseudomonas</i> spp.	40
Figure 17 : Observation de la souche B1 et B2 sous microscope optique au G : 10×100	41
Figure 18 : Résultat de galerie biochimique classique après 24 d'incubation des souches bactériennes	42
Figure 19 : Test oxydase (a) et test catalase(b) des deux souches	42
Figure 20 : Tolérance au Na Cl	43
Figure 21 ; Résultats de la Galerie API 20 Ne de la souche B1(a) et de la souche B2(b) après 24heures d'incubation	44
Figure 22 : production d'AIA par les deux souches sur milieu MS	41
Figure 23 : production d'AIA par les deux souches sur milieu NB	47
Figure 24 : solubilisation du phosphore sur milieu NBRIP	47
Figures 25 : Solubilisation du phosphore sur le milieu PVK	49
Figure 26 : Solubilisation du phosphore sur milieu PVK(a) et NBRIP(b) inoculés par la méthode des puits	51
Figure 27 : Effets de la bactérisation sur le taux de germination	52
Figure 28 ; Effet de l'espèce végétale sur la germination	53
Figure 29 Effet de la bactérisation sur la hauteur des tiges	54

Figure 30 ; Effet de l'espèce végétale sur la hauteur des tiges	55
Figure 31 ; Effet de l'espèce végétale sur la longueur racinaire	56
Figure 32 : Effet d'interaction bactérie- espèces végétales sur la longueur racinaire	57
Figure 33 : Stimulation de la croissance du cèdre (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé)	58
Figure 34 : Stimulation de la croissance de la tomate (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé)	58
Figure 35 : Stimulation de la croissance d' <i>Acacia nilotica</i> (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé)	59
Figure 36 : Stimulation de la croissance d' <i>Acacia raddiana</i> (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé)	59
Figure 37 : Cinétique de germination des graines d' <i>Acacia nilotica</i> cultivées pendant six jours en boîte de Pétri	60
Figure 38 : Cinétique de germination des graines d' <i>Acacia raddiana</i> cultivées pendant sept jours en boîte de Pétri	61
Figure 39 : Cinétique de germination des graines de tomate cultivées pendant dix jours en boîte de Pétri	61
Figure 40 : Cinétique de germination des graines de cèdre cultivées pendant dix huit jours en boîte de Pétri	62
Figure 41 : Taux d'inhibitions de F.O.A sur les deux milieux de culture (A la méthode des spots ; B : la méthode des traits)	65
Figure 42 : Taux d'inhibitions de F.O.L sur les deux milieux de culture (A la méthode des spots ; B : la méthode des traits)	66
Figure 43 : Inhibition de <i>Fusarium oxysporum f.sp albidinis</i> (F.O.A) sur milieu KB: méthode des traits (a), méthode des spots (b°)	67

Figure 44 : Inhibition de <i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersisci</i> (F.O.L) sur milieu KB: méthode des traits (a), méthode des spots (b)	67
Figure 45 : Inhibition de <i>Fusarium oxysporum f.sp albidinis</i> (F.O.A) sur milieu PDA: méthode des spots (a), méthode des traits (b)	68
Figure 46 : Inhibition de <i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersisci</i> (F.O.L) sur milieu PDA: méthode des spots (a), méthode des traits (b)	68
Figure 47 Taux Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.A) : a et (F.O.L) : b par les souches bactériennes	70
Figure 48 : Inhibitions par la méthode de confrontation indirecte de boîtes (F.O.A)	71
Figure 49 : Inhibitions par la méthode de confrontation indirecte de boîtes (F.O.L)	71
Figure 50 : Taux d'inhibition de F.O.A sur milieu KB additionné de différentes concentrations de fer	73
Figure 51 : Taux d'inhibition de F.O.A sur milieu KB additionné de différentes concentrations de fer	74
Figure 52 : Inhibition mycélienne de F.O.L sur milieu KB à différentes concentration de fer (C0):0mg/ml, C1:1mg/ml, C2: 2mg/ml)	74
Figure 53 : Inhibition mycélienne de F.O.A sur milieu KB a différentes concentration de fer (C0):0mg/ml; (C1):1mg/ml; (C2): 2mg/ml	75

Tableau 1 : listes des espèces végétales utilisées dans l'essai de la biostimulation	32
Tableau 2 : origines des isolats fongiques utilisés dans le test d'antagonisme.	34
Tableau 3 : Caractères physiologiques et biochimiques deux souches bactériennes	40
Tableau 4 : caractères phénotypique définie par la plaque API 20 Ne	42
Tableau 5 : production de l'AIA par les deux souches de sur le milieu MS	43
Tableau 6 : production de l'AIA par les deux souches de sur le milieu NB	44
Tableau 7 : solubilisation du phosphore par les deux souches (B1 et B2) sur les deux milieux solide (NBRIP et PVK)	45
Tableau 8 : Solubilisation du phosphore par les bactéries sur le milieu PVK et NPRIB (méthodes des puits) par les deux souches bactériennes	
Tableau 9 : Effets de la bactérisation sur le taux de germination	49
Tableau 10 : Effet des espèces végétales sur le taux de germinations	50
Tableau 11 : Effet de la bacterisation sur la hauteur des tiges	
Tableau 12 : Effet de l'espèce végétale la hauteur des tiges	51
Tableau 13 : Effet de l'espèce végétale sur la longueur racinaire	52
Tableau 14 : Effet d'interaction bactérie- espèces végétales sur la longueur racinaire	53
Tableau 15 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.A) en % par la méthode des spots	61
Tableau 16 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.A) en % par la méthode des traits	62
Tableau 17 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.L) en % par la méthode des spots	62
Tableau 18 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.L) par la méthode des traits	63
Tableau 19 Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.A)	66

Tableau 20 Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.L) par les souches bactérienne
66

Tableau 21: Inhibition de la croissance mycélienne de F.O.A sur milieu KB addition de
différentes concentrations de FeCl₃

69

Tableau 22: Inhibition de la croissance mycélienne de F.O.L sur milieu KB addition de
différentes concentrations de FeCl₃ 70

Introduction.....	1
Partie I : Etude bibliographiques	
Chapitre I: Importance des des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	
1-Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	3
2-Les effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	5
2-1-Stimulation de la croissance des végétaux	6
2-2 Biocontrôle et induction de la résistance chez les plantes	7
3-Mécanismes d'action	9
3-1-Production de siderophore	9
3-2 Solubilisation du phosphore.	10
3-3 Production de l'acide indole acétique AIA	10
3-4 Production d'antibiotiques	11
3-5Production d'H ₂ CN	11
Chapitre II : Aperçus sur les espèces végétales étudiées	
1-le cèdre.....	13
1-1-Systématique.....	13
1-2- Description botanique	13
1-3-Germination des graines de cèdre	14
1-4-Problèmes phytosanitaires du cèdre	15
2-Les acacias	15
1-2-Acacia raddiana.....	16
1-2-1 Position systématique	17
1-2-2 Description botanique	17
1-2-3 Germination.....	18
2-2-Acacia nilotica.....	18
2-1-Classification.....	18
1-2-2 Description botanique	19
2-2-3 Germination	20
3- La tomate	20
3-1 Classification.....	21
3.2 Description botanique	21
3- 3 Germination.....	22
3-4 Problèmes phytosanitaires.....	23

Chapitre 3 : Les Fusarioses vasculaires	24
1-Fusariose vasculaire de la tomate	24
2-Fusariose vasculaire de palmier	25
3-Lutte biologique contre les maladies fusariennes	27
Partie II : Matériels et méthodes	
I-Caractérisation des souches bactériennes :	
1-1- Caractérisation morphologique	28
1-1-1 Caractérisations macroscopique	28
1-1-2- Caractérisation microscopique	28
1-2- Caractérisation biochimique	29
1-2-1- Galerie biochimique classique	31
1-3-Production de l'acide indole acétique (AIA)	32
1-4-Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes	33
2-Essai de la stimulation de la germination « <i>in-vitro</i> »	33
3-Essai d'antagonisme microbien « <i>in-vitro</i> »	36
Partie III : Résultats et discussion	
I-Caractérisation des bactéries.....	40
1-1-Caractères cultureux des souches	40
1-2-Caractérisation biochimique	41
1-3- Production de l'acide Indole acétique AIA	46
1-3-Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes.....	48
2- Biostimulation de la croissance.....	52
3-Antagonisme microbien <i>in-vitro</i>	64
Conclusion	73

Introduction

La production alimentaire globale devra progresser de quelque 70 pour cent entre 2005 et 2050, pour pouvoir nourrir une population mondiale de 9,1 milliards de personnes en 2050. De ce fait des augmentations importantes dans la production des principaux produits essentiels à titre d'exemple, la demande de céréales destinées à la consommation humaine et animale pourrait atteindre quelques 3 milliards de tonnes d'ici 2050, contre près de 2,1 milliards aujourd'hui (FAO, 2015).

L'intensification de la production végétale se porte sur une utilisation massive d'intrants agricoles non renouvelables tels que les engrais chimiques, les pesticides, les fongicides, les herbicide, etc. Afin de maximiser la production et améliorer le rendement.

De nombreux problèmes écologiques liés à l'agriculture intensive sont apparues, cette agriculture a eu donc un impact négatif sur la qualité de l'environnement : appauvrissement des sols, réduction de la biodiversité, pollution des sols, des nappes phréatiques et cours d'eau souterrains ainsi la perturbation de la vie microbienne et autres.....

Vue les inconvénients de l'agriculture intensifiée, elle devra céder progressivement la place à d'autres formes d'intensification fondées sur les processus biologiques naturels et la biodiversité en vue d'accroître la productivité des écosystèmes agricoles. Sur la base de ce constat, le concept d'agro écologie a été développé dans le but d'apporter des alternatives à des méthodes agricoles moins dangereuses pour notre environnement et notre santé (FOA, 2009).

L'agriculture biologique est un mode de gestion globale de la production qui exclut l'utilisation d'engrais et de pesticides de synthèse et d'organismes génétiquement modifiés, en réduisant au maximum la pollution de l'air, du sol et de l'eau, et avec optimisation de la santé et la productivité des communautés interdépendantes de végétaux, d'animaux, et d'êtres humains.

Durant ces dernières décennies de nombreux travaux intéressant à l'exploitation des potentialités naturelles de certaines rhizobactéries ayant montré des pouvoir considérables dans la régularisation de l'équilibre microbienne, notamment au sein des populations telluriques. Cet équilibre microbien au niveau des rhizosphères induit la répression néfaste de

plusieurs agents phytopathogènes, tout en stimulant ou en améliorant les capacités physiologiques des plantes.

Les bactéries rhizosphériques qualifiées de PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) ont des effets bénéfiques directs et indirects sur les plantes. Les effets directs concernent la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante et les effets indirectes concernent la modification des équilibres des populations microbiennes pathogènes (Ficher *et al.*, 2007),

Au cours des 30 dernières années des recherches et des études clés ont mis en lumière sur l'importance des *Pseudomonas* spp. fluorescents, L'objectif de notre travail à travers cette étude consiste à mettre en évidence les effets bénéfiques de deux souches de *P.* spp. fluorescents en réalisant des essais de promotion de la croissance sur le cèdre, la tomate, *Acacia raddiana* et *Acacia nilotica*, et des essais in-vitro sur le biocontrôle de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* et *Fusarium oxysporum f.sp albidinis*. Notre expérimentation s'est déroulée selon les étapes suivantes :

- ✓ Caractérisation physiologiques et biochimiques de matériels biologiques microbiens appliqués,
- ✓ Mise en évidence de la production de phytohormone en l'occurrence l'AIA,
- ✓ Mise en évidence de la solubilisation du phosphore insoluble,
- ✓ Essai de la stimulation de la germination des graines des espèces végétales différentes (d'essences forestières et maraichères) après la bactérisation,
- ✓ Essai d'antagonisme microbien des souches bactériennes sur la croissance mycéliennes de deux isolats de *Fusarium oxysporum*. Par la confrontation directe et indirecte,
- ✓ Et enfin étudier l'effet de la concentration en fer sur l'activité antagoniste des souches bactériennes.

Partie I

Revue bibliographiques

Chapitre I: Importance des *Pseudomonas* spp.fluorescents

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol (Dobbelaere *et al.*, 2003).

Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... Certains de ces micro-organismes, principalement des 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 contre des infections par des agents phytopathogènes (Gray et Smith, 2005).

Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Haas et Defago, 2005).

1-Généralités sur les *Pseudomonas* spp. fluorescents :

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, famille des Pseudomonaceae, ordre des Pseudomonales (Palleroni, 1986 ; Moore *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).

Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr, les *P.fluorescens*, *P.putida*, *P.aeruginosa*, *P. syningae*, *P.aerofaciens* (Hofte et Altier, 2010).

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif typique de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5 µm de long, chimio-hétérotrophes, mobiles grâce à leur flagelle polaire (Bell-Perkins et Lynch, 2002). Elles apparaissent généralement isolées ou en diplobacilles (Bossis *et al.*, 2000).

Les espèces saprophytes de *Pseudomonas* spp.fluorescents qui regroupent les

P.chlororaphsis ; *P.fluorescens* et *P.putida* (Latour et Lemanceau, 1997) sont catalase positive, mésophile chimio-organotrophe puisqu'elles peuvent croître dans un milieu minéral ne contenant qu'une seule source de carbone.

Leurs métabolisme est oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose) (Allaire, 2005).

Elles sont caractérisées par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores appelés Pyoverdines (Meyer et Abdallah, 1978), ces derniers sont des pigments de couleur jaune-verte, solubles dans l'eau et fluorescents sous l'irradiation d'UV (Leong, 1986).

Les *Pseudomonas* représentent un potentiel important de la colonisation du sol. En effet, cette dernière décennie, plusieurs études sont intéressées au rôle que pourraient jouer ces microorganismes dans l'amélioration de la croissance des plantes et des propriétés physique et chimique du sol (Joudi, 1992).

Cette grande rhizo-compétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large souvent issus des exsudats racinaires comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (Moore et al., 2006).

Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *P. fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différents biovars (Bossis et al., 2000).

La classification des *Pseudomonas* spp. fluorescents reste toujours controversée, surtout dans le cas des espèces présentant des biotypes ayant des caractéristiques taxonomiques intermédiaires entre diverses espèces connues. Outre les formes intermédiaires, *Pseudomonas Putida* et *Pseudomonas fluorescens* se subdivisent respectivement en deux à cinq biovars distincts (Palleroni, 1986 ; Bossis et al, 2000 ; Euzeby, 2005). Pour cela la majorité des auteurs pour les designers, utilisent le groupe *Pseudomonas fluorescens-putida* (Haas et al., 1990).

2-Les effets bénéfiques des Pseudomonas ssp. fluorescents :

les *Pseudomonas ssp. fluorescents* sont des rhizobactéries non symbiotiques qui occupent la rhizosphère (Kloepper et Schroth, 1978). Appartenant aux PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria), elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003).

Elles sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou la protégeant contre des infections causées par des agents phytopathogènes (Kloepper et Schroth, 1978) (Fig.1)..

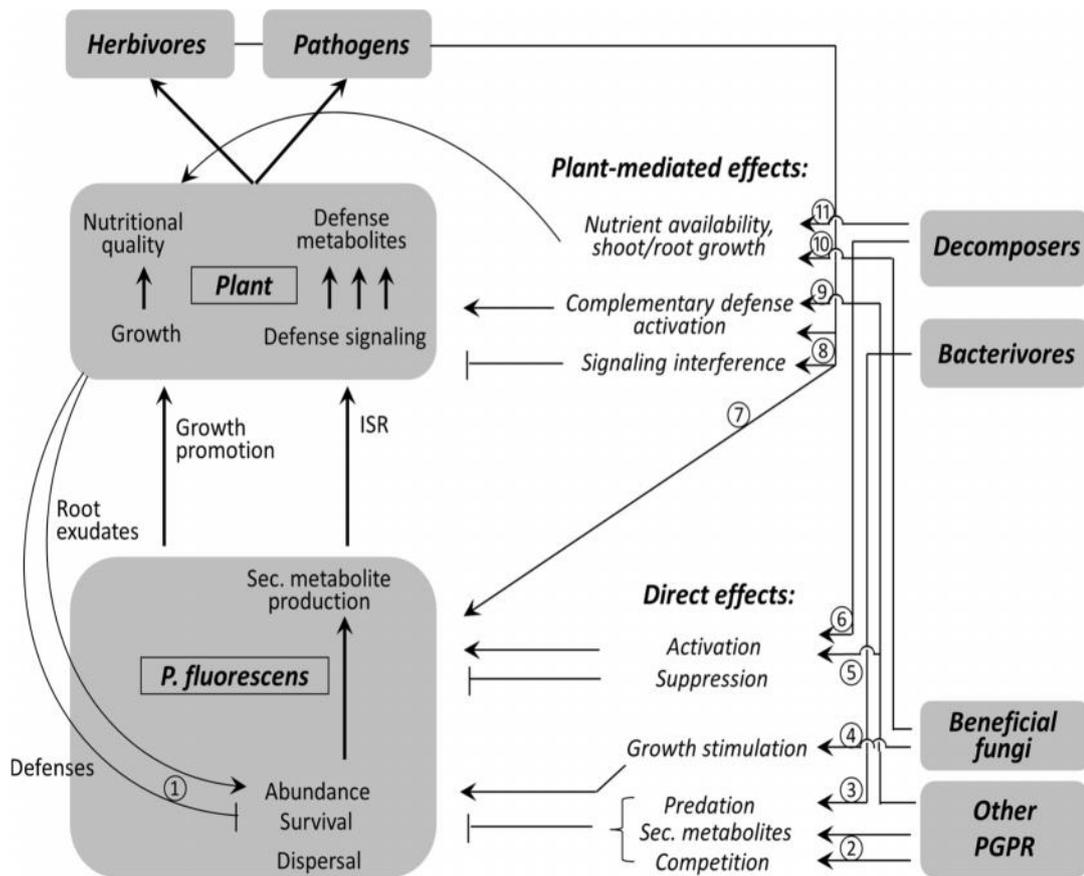


Figure 1 : schéma simplifié représentant les effets directs et indirectes des rhizoéobactéries : exemple illustré des *Pseudomonas ssp. fluorescents* (Hol et al., 2013)

2-1-Stimulation de la croissance des végétaux :

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes habitants des sols agricoles et de la rhizosphère des plantes, sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth et *al.*, 1992).

De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation dans des conditions expérimentales variées. Il apparaît clairement que l'augmentation de rendement observée en conditions normales de production, est toujours inférieure à l'augmentation de croissance des plantes cultivées en conditions contrôlées (Lemanceau, 1992).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents colonisent efficacement la spermosphère et peuvent assurer une bioprotection des semences avant et pendant la germination (Digat, 1992), ainsi certaines souches de *Pseudomonas* peuvent améliorer la germination des semences et la levée des plantules (Kloepper et *al.*, 1980), notamment lorsque les conditions d'environnement sont défavorables à leur germination (Compant et *al.*, 2005 ; Haas et defago, 2005).

La stimulation de la croissance des plantes bacterisées peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance analogues aux phytohormones (Persello-Cartieux et *al.*, 2003 ; Romans et *al.*, 2007). tels que : l'auxine, l'acide gibbérellique, cytokinines et de l'éthylène (Gutierrez-Manero et *al.*, 2001).

L'acide indole acétique (AIA) est le groupe le plus important de l'auxine, il affecte à la fois la promotion de la croissance de la plante et la nodulation des racines (Taghavi et *al.*, 2009)

Les souches de *Pseudomonas putida* produisant l'acide indole acétique (AIA) sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines.

Patten et Glick (2003) ; ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *Pseudomonas putida* chez les plantes hôte dans le développement de son système racinaire.

Egalement Lemanceau (1992) rapporte que quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* adhérentes aux racines de légumineuses stimulent le processus de nodulation avec les isolats de *Rhizobium ssp.*

Les rhizobactéries sécrètent des substances qui provoquent une amélioration de la nutrition des plantes colonisées par l'absorption de l'ion nitrate par la plante, la solubilisation du phosphate et la chélation du fer (Adjanohoun et *al.*, 2012).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de synthétiser des siderophores qui sont des molécules chélatrices du fer surtout en condition de carence en cet élément nécessaire à leur croissance (Ongena et *al.*, 2002), ces dernières sont impliquées dans la croissance et la sante des plantes (Latour et *al.*, 2009) et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt et *al.*, 2003).

2-2 Biocontrôle et induction de la résistance chez les plantes :

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires dans certains champs, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes « *in-vitro* ». Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites antagonistes et de sidérophores (Lemanceau et *al.*, 1988).

Les sidérophores de bactéries rhizosphériques peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer, comme ils peuvent le rendre ainsi non disponible pour les champignons pathogènes (Lemanceau et *al.*, 2009).

Mais dans la plupart des cas d'inhibitions, le facteur déterminant est la production d'antibiotiques qui agissent directement sur l'agent pathogène (Visora et Tardieux, 1964). L'antibiose consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants qui sont impliquées dans le biocontrôle (Haas et Defago, 2005).

La production d'une variété d'antibiotiques est une caractéristique essentielle de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Les plus connus sont l'acide phénicien-1-carboxylique, 2-4-diacétylphloroglucinol (Arrif et *al.*, 2015), les pyolutéorines (Maurhofer et *al.*, 1994) et du cyanure d'hydrogène (HCN) (Lemanceau, 1992).

Certaines souches antagonistes produisent des enzymes lytiques qui peuvent lyser une partie des parois cellulaires de certains champignons phytopathogènes. Les plus connus sont les chitinases, les cellulases, les protéases, -1,3 glucanases (Compant et *al.*, 2005).

Certaines espèces peuvent avoir un effet protecteur en stimulant les mécanismes de défense inductibles qui rendent la plante hôte moins sensible à une attaque pathogène subséquente (Van Loon et *al.*, 1998).

Certaines bactéries de la rhizosphère (PGPR, rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes) exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes en stimulant des mécanismes de défense inductibles chez l'hôte, rendant celle-ci moins susceptible vis-à-vis d'une infection ultérieure par un agent pathogène. Ce phénomène appelé « **résistance systémique induite** » (**ISR**) a été mis en évidence chez plusieurs plantes pour lutter contre une gamme relativement large de pathogènes fongiques, bactériens ou viraux (Latour, 2002).

Les rhizobactéries peuvent réduire la sévérité d'une maladie à travers la stimulation de mécanisme de défense inductible chez les plantes, l'induction de la résistance d'une plante consiste à activer des mécanismes de défense naturelle présents dans la plante mais qui sont à l'état latent (Latour, 2002). Le traitement des racines par les PGPR induit des effets protecteurs sur les autres parties de la plantes sans migration des bactéries induisant de l'ISR à travers le système vasculaire de la plante ou travers ses tissus (Bent, 2005).

Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sont responsables de l'amélioration des niveaux de résistance des plantes à l'encontre de différents agents pathogènes par la stimulation et activation des mécanismes de défenses (ISR) (Van Loon et *al.*, 1998 ; Pieterse et *al.*, 2002).

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

Les recherches menées ces dernières années ont permis d'identifier plusieurs molécules

bactériennes jouant un rôle d'éliciteurs impliqués dans l'ISR tels que les composants de la surface cellulaire, les sidérophores, l'acide salicylique et certains antibiotiques (Bakker et *al.*, 1988).

Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

3-Mécanismes d'action :

3-1-Production de siderophore

La capacité des rhizobactéries à produire des sidérophores et des métabolites qui contribuent à l'antibioses a fait l'objet de nombreuses études (Maksimov et *al.*, 2011). L'absorption de l'ion ferrique via sidérophore est largement utilisée par les micro-organismes pathogènes et non pathogènes du sol (Allaire, 2005).

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

Les sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle est de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes (Neilands, 1995). Les siderophores des deux espèces *Pseudomonas fluorescens* et *P.putida* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent appelé « pyoverdine » (Meyer et Abdellah, 1978) ou pseudobactine (Teintze et *al.*, 1980) qui forment avec le fer un complexe : « **ferri-pyoverdine** ».

L'importance de sidérophore est étroitement liée au fer, qui est un élément essentiel pour différents processus biologiques (Crosa et Walsh, 2002). Egalement les bactéries peuvent

produire une grande variété de composés à activité antimicrobiennes utilisée en tant que systèmes de défense. La chélation de fer par les bactéries ou champignons est un caractère très recherché et présente un intérêt considérable en agriculture. Cette activité assure d'une part une source de fer assimilable par la plante et d'autre part assure une compétition avec les agents phytopathogènes surtout les champignons, un caractère recherché dans le biocontrôle des agents phytopathogènes (Dahdah *et al.*, 2015). Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux (Guerinot, 1994). Plusieurs études ont démontré l'implication de pyoverdines dans la suppression de maladies à savoir les fusarioses vasculaires.

3-2 Solubilisation du phosphore

le phosphore est connu comme l'un des minéraux nutritifs, le plus souvent, limitant la croissance des plantes (Vessey, 2003). Dans les sols, ils sont généralement présents à des faibles concentrations dans la solution, en raison des nombreux processus géochimiques contraignant leur mobilité et leur disponibilité. Les plantes et les micro-organismes associés, au travers de relations rhizosphériques, symbiotiques et par la prédation des populations microbiennes, modifient considérablement la quantité de P que la plante est capable d'acquérir tout au long de sa croissance (biodisponibilité) (Plassard *et al.*, 2015). Dans le sol il existe deux sortes de phosphate, le phosphate organique et inorganique, généralement sous des formes insolubles, ce qui réduit sa disponibilité pour les plantes (Dahdah *et al.*, 2015).

Les bactéries solubilisant le phosphate sont communes dans la rhizosphère, cette dernière étant le siège de nombreuses interactions entre les plantes et les divers microorganismes associés. La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Kim *et al.*, 1998; Richardson, 2001). Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents comme *P. chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* ont été identifiées comme rhizobactéries solubilisant le phosphate (Cattelan *et al.*, 1999).

3-3 Production de l'acide indole acétique AIA par les pseudomonas spp fluorescents

l'acide indole-3-acétique est reconnue comme une auxine principale chez les plantes, impliqué 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 division et différenciation cellulaires (O'Gara *et al.*, 2008). L'AIA est connu pour déclencher les divisions, favoriser l'apparition

des racines adventives sur les boutures tout en inhibant leur élongation (Karabaghli et *al.*, 1997).

Cette phytohormone impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines, et de leurs élargissements (Salisbury, 1994), est communément produite par les rhizobactéries (Barazani et Friedman, 1999). Ces dernières sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines. Cet effet résulte d'une augmentation de surface racinaire ainsi une accessibilité plus importante à des nutriments pour la plante.

Patten et Glick (2002), ont rapporté le rôle de l'AIA produit par *P. putida*, chez la plante hôte, dans le développement de son système racinaire.

3-4 Production d'antibiotiques par les *Pseudomona spp. fluorescents* :

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974), c'est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Thomashow et *al.*, 1997).

Les *Pseudomons spp. fluorescents* sont des producteurs potentiels d'une gamme variée d'antibiotiques avec un large spectre d'action, sur des agents fongique telluriques. Parmi ces antibiotique les pyolutéorine (PLT), les phenazines (pcA), les pyrrolnitrines (Prn), le 2,4-diacétyl- phloroglucinol (DAPG), les tropolone et l'oomycine... (Keel et *al.*, 1991, Kloepper et *al.*, 1991).

les phenazines (pcA) le 2,4- diacétyl- phloroglucinol (DAPG) sont les majeurs déterminants rapportés dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes (Defago et Hass, 2005). Ainsi le DAPG produit par une souche de *Pseudomonas fluorescens* (CHA0) protège *Arabidopsis thaliana* de *Peronospora parasitica* (Lavicoli et *al.*, 2013).

3-5 Production d'HCN:

Le cyanure d'hydrogene (HCN) qui est un métabolite secondaire produit par les proteobactéries est impliqué dans la suppression d'agents pathogènes comme *Thielaviopsis*

basicola , *Septoria tritici* et *Puccinia recondita* (Laville et al., 1998 ; Ramette et al., 2003).

La production d'HCN au niveau de l'adaptation à la rhizosphère peut être avantageuse pour acquérir des nutriments (Ellis et al., 2000). Elle peut également contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (Blummer et Haas, 2000).

La production d'HCN, été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983), l'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O'Gara, 1992), sa production peut même inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes via la phase gazeuse *in-vitro* (Blummer et Haas, 2000).

Chapitre II : Aperçus sur les espèces végétales étudiées

1- le cèdre :

Le cèdre, espèce essentiellement montagnarde occupe des surfaces d'importance inégale et forme spontanément trois blocs géographiques distincts : Afrique du Nord, Asie mineure et Himalaya (M'hirit, 1999).

Le genre *Cedrus* est considéré comme le plus ancien des abietacées après le genre *Pinus* (Gaussen, 1946). C'est un arbre qui possède de la résine d'où le nom résineux (Gaussen et al., 1982). Selon le même auteur, cet arbre a été bien présent au Nord de la Méditerranée depuis la base de crétacée. Le cèdre de l'atlas fut découvert en 1962 par le voyageur anglais Philippe Banker Webb dans le massif marocain.

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica Manetti*) est une essence des montagnes d'Afrique du Nord (Algérie et Maroc) qui suscite un intérêt grandissant pour ses nombreuses qualités forestières et ornementales, faible inflammabilité, rusticité, richesse écologique, bois de qualité supérieur à celle des pins méditerranéens, port remarquable et esthétiques et attrait touristique en forêt de plaisance (Totth, 1980).

1-1-La systématique :

Selon (Spichiger et al., 2004), La classification du cèdre de l'Atlas est comme suit :

- **Règne** : Végétale.
- **Embranchement** : Spermaphyte.
- **S /embranchement** : Gymnospermes.
- **Classe** : Vectrices.
- **Ordres** : Pinales.
- **Famille** : Pinaceae.
- **Espèce** : *Cedrus atlantica manetti*.

1-2- description botanique:

Le cèdre de l'Atlas est un arbre de grande taille, susceptible de dépasser les 40 m de haut. Son port pyramidal au stade jeune, présente des ramifications de premier ordre souvent redressées. A l'âge adulte, il prend une forme tabulaire (Gaussen, 1967) (fig.2).



Figure 2 : cèdre de l'atlas (Anonyme, 2016)

Le cèdre est une espèce caractérisée par des feuilles qui se présentent sous forme d'aiguilles d'un vert plus ou moins bleuté, plus courtes et moins aigues (Brosse, 2004) (fig.3a). Les cônes du cèdre de l'Atlas sont gros, ovoïdes, d'une taille qui varie de 5 à 8 cm de long (Bary *et al.*, 1999)(fig.3b). La désarticulation de cône débute généralement à partir du mois d'octobre et elle est conditionnée par l'alternance de l'humidité (Emeberger, 1968). Les racines sont étendues, ramifiées (Toth, 1980). La graine du cèdre de l'atlas sont subtriangulaires, cunéiformes à la base, de 10 a 14 mm de long, tendres, très résineuses, (Toth, 1980). C'est une graine molle et huileuse, entourée d'une enveloppe membraneuse qui s'endommage très facilement (Toth, 1978) (fig.3c) ;

D'après Debazac (1991), le cèdre est une plantule de 7 à 10 cotylédons de 25 à 40 mm de long, à épicotyle bien développé.



Figure 3 : feuilles(a), cônes(b) et graines(c) du cèdre d'atlas (Anonyme, 2016)

1-3-La germination des graines de cèdre :

Le cycle complet de production de graines jusqu'à leur dissémination s'accomplit généralement en 3 ans. Pour germer, la graine de cèdre a besoin de la lumière, d'une humidité

modérée, d'oxygène et de certaines conditions thermiques. La graine du cèdre, grâce à son tégument membraneux et perméable s'hydrate facilement en quelques heures (M'herit et Benzyane, 2006). Elle peut absorber 10 à 20 % de son propre poids en eau. La durée de la germination est liée à la maturité et à l'état de dormance des graines (Toth, 1978).

Les graines de cèdre ont des degrés de dormance variables en fonction des conditions climatiques. Les graines germent lentement à 4 °C, en dessous de 2 °C, il n'y a plus de germination, celle-ci semble alors être inhibée par le froid (M'herit et Benzyane, 2006).

1-4 Problème phytosanitaires du cèdre :

Le cèdre est une espèce ne posant pas de problème sanitaire majeur, néanmoins elle n'est pas à l'abri des attaques parasitaires et parmi les problèmes que peut rencontrer selon Courbet et *al.*, (2012) nous citons :

- La tordeuse du cèdre (*Epinotia cedricida*), fait des dégâts au stade larvaire en consommant les aiguilles de l'automne à l'hiver.
- Pucerons : Deux espèces de pucerons s'attaquent spécifiquement au cèdre. Leurs colonies se développent à l'extrémité des branches et rameaux:
 - Cedrobium laportei* : peut entraîner la chute de toutes les aiguilles et l'introduction d'un parasite spécifique (*Pauesia cedrobii*),
 - Cinara cedri* : se développe en colonies de taille importante et visibles à l'œil nu produisant beaucoup de miellat se recouvrant d'une pellicule noire de fumagine (champignon), il est une source de nuisance dans les endroits fréquentés.
- Les scolytes qui posent surtout des problèmes dans les peuplements déperissants de son aire d'origine.
- Champignons :
 - L Sphaeropsis sapinea* qui peut infecter l'arbre par les jeunes pousses ou plus souvent par une blessure ou une nécrose d'origine variable.
 - Champignons lignivores : responsables de pourritures de cœur. Sont très importantes en Afrique du Nord.

2- Les acacias :

Le genre *Acacia* est le deuxième groupe le plus grand dans la famille des Légumineuses. Les acacias (genre *Acacia*) rassemblent plus de 1500 espèces des régions subtropicales et tempérées chaudes de la planète, mais sont particulièrement bien représentés en Australie.

D'après Lahdachi et *al.*, (2015), les acacias sont des Angiospermes spectaculaires, regroupant des espèces de simple couvert végétal à celles des forêts tropicales. La croissance facile et la résistance à la sécheresse, leur confèrent une importance économique très grande et variable. Le genre *Acacia* appartient à la famille des légumineuses et à la sous famille des Mimosacées. L'acacia est une plante des grands oueds et des dépressions. Les acacias jouent un rôle économique et social très important dans la vie des nomades qui en utilisent le tanin, la gomme et le bois.

On trouve le genre *Acacia* dans le sud algérien, marocain et tunisien, en Libye et en Egypte.

1-2-Acacia Raddiana :

Acacia tortilis (Forsk.) Hayne ssp. *raddiana* est un arbre des régions arides et semi-arides, présent au Nord et au Sud du Sahara (Jaoudi et *al.*, 2004). En Algérie, ces peuplements sont localisés dans la région de la Saoura où ils constituent des savanes désertiques, s'étendant vers le sud marocain en plus de quelques pieds dans le massif du Hoggar (Jaouen, 198). Peu exigent vis-à-vis de la température et de l'humidité.

Selon, Noumi (2010), elle est largement utilisée par les populations locales de la région saharienne comme plante médicinale, fourrage, bois d'énergie, charbon en raison du pouvoir calorifique élevé de son bois. Cette dernière est aussi appréciée dans l'artisanat pour la confection d'outils et d'ustensiles divers.

Elle fixe et enrichit le sol en azote. Elle est particulièrement intéressante pour les reboisements et la fixation des dunes dans les zones plus ou moins stabilisées mécaniquement et protégées. On l'utilise pour la fabrication de clôtures et dans la construction (perches). C'est une bonne espèce fourragère, dont les feuilles et les gousses sont très appréciées par les animaux domestiques et sauvages (Jaouen, 1988).

Il est possible de procéder à des reboisements forestiers par la densification des peuplements naturels, notamment avec *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* considéré comme taxon très plastique et très Résistant à la sécheresse (Bernus 1981).

1-2-1 Position systématique (Spichiger et al., 2004)

- Règne : Plante
- Embranchement : Spermatophytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicotylones
- Sous classe : Rosudeae
- Ordre : Rosals
- Famille : Sabaceae
- Espèce : *Acacia tortilis* (Forsk.) Hayne

1-2-2 Description botanique :

Espèce originaire d'Afrique tropicale et d'Arabie, présente au Sahara septentrional, central et méridional. Généralement arbre, parfois arbuste ou buisson, de 1,5–18 m de hauteur, occasionnellement jusqu'à 21 m. Ecorce du tronc généralement rugueuse et fissurée, grise à noire ou brun foncé (Brenan, 1983). Sa silhouette en forme de parasol est définie par sa cime aplatie et étalée, mais parfois également arrondie (fig.4).



Figure 4 : *Acacia raddiana* (anonyme, 2016)

En général, les feuilles sont plus petites que chez de nombreuses autres espèces d'acacia et ont 2 à 6 paires de pétioles secondaires (fig.5a). Chaque pétiole porte 5 à 12 paires de folioles linéaires de 1 mm de large et 3 mm de long. Les feuilles sont composées pennées, glabres à densément pubescent (Brenan, 1983). Les fleurs, de couleur blanchâtre ou blanc jaunâtre et odorantes, sont groupées en capitules globuleux (fig.5b).

Le fruit est une gousse indéhiscente qui est contournée où enroulée en spirale de 12 cm de longueur (fig.5c). L'enracinement pivotant de cette plante peut avoir jusqu'à 8 m de long, *A. raddiana* à une racine pivotante, qui est probablement plus développée que la biomasse au-dessus.



Figure 5 : feuilles(a), fleurs(b) et fruits d'*Acacia radianna* (anonyme, 2016)

1-2-3 Germination:

Il s'agit d'une essence pionnière, qui se régénère bien par rejets de souches ou par graines. La plupart des semences des *Acacias* ont un tégument imperméable à l'eau, qui provoque un phénomène de dormance; il en résulte que la germination peut s'étaler sur des mois ou même des années. Les conditions internes de la germination concernent la graine elle-même, qu'elle doit être vivante, mure, apte à germer (non dormante) et saine (Jeam et *al.*, 1998). La graine exige la réunion de conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, et la température (Soltner, 2007).

La graine s'imbibe d'eau et se gonfle, le tégument se fend et la radicule émerge et s'oriente vers le milieu (sol) selon un géotropisme positif. Puis, la tigelle émerge et s'allonge vers le haut. Les téguments de la graine se dessèchent et tombent (Meyer et *al.*, 2004). La germination d'*Acacia raddiana* est optimale (supérieure à 90 %) dans une gamme de températures comprises entre 20 et 35 C° (Grouzis Et Le Floc'h ,2003).

1-2-Acacia nilotica

Acacia nilotica est un genre pantropical et subtropicale avec des espèces abondantes dans toute l'Asie, l'Australie, l'Afrique et l'Amérique (Ali et *al.*, 2011), cet arbre à "multi usages", est utilisé aussi bien comme fourrage pour les herbivores, pour la reforestation des zones en voie de désertification, pour la production de gomme arabique, de tanin, de colorants, de chauffage, ainsi que pour ses propriétés médicinales (Gilani et *al.*, 1999).

B1-Classification:

La classification d'*A.nilotica* a été mise par Linné, Dellile 1813. Selon (Spichiger et *al.*, 2004), elle est comme suit :

- **Règne** : Plante
- **Embranchement** : Spermatophytes

- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Eudicotylones
- **Sous classe** : Rosuceae
- **Ordre** : Rosals
- **Famille** : Sabaceae
- **Espèce**: *Acacia nilotica* (L.) Delile, 1813

1-2-2 Description botanique d *A. nilotica*

Acacia nilotica est une espèce complexe qui comporte plusieurs sous-espèces. Actuellement, 9 sous-espèces sont connues. Ces sous-espèces ont été différenciées principalement sur la base de la forme, la taille et le degré de pubescence des branches, les caractéristiques des gousses, l'habitat de l'arbre et la forme de la couronne (Gilani et *al.*, 2009).

C'est un arbre au tronc unique résistant aux termites, dont la hauteur varie entre 15 et 25 m (Gilani et *al.*, 2009), *Acacia nilotica* (famille des Légumineuses, sous-famille Mimosoideae) pousse de 15-18 m de hauteur et 2-3 m de diamètre. L'écorce est généralement vert schisteux chez les jeunes arbres ou presque noir dans les arbres matures avec des fissures longitudinales profondes exposant la barre grise-rosâtre intérieure, exsudant une faible gomme rougeâtre de qualité (Bargali et Bargali, 2009) (fig.6).



Figure 6 : *Acacia nilotica* (Brenan, 1983)

Les feuilles sont bipennées, avec 3 à 6 paires de pinnules et de 10 à 30 paires de folioles chacune, avec une glande rachis au bas de la dernière paire de pinnules (fig.6a), fleurs en tête globuleux 1,2 à 1,5 cm de diamètre d'une couleur jaune doré (Ali et *al.*, 2011), (fig5 ,a) bondé, sessiles, 6-8 mm de long, composé de 5 dents corolle 3 mm de long; beaucoup, étamines filiformes jaune (Oswa et *al.*, 2009)

Selon (Oswa *et al.*, 2009) le fruit compte 8 à 15 graines comme l'haricot, de 7 à 9 mm de diamètre, arrondi, aplati, brun noirâtre. Il a une variation considérable avec neuf sous-espèces actuellement reconnue (fig.7b). Graines à contour elliptique à circulaire, aplaties, de 6,5–9 mm × 5–8 mm, brun foncé à noir brunâtre. Plantule à germination épigée (fig.7c).



Figure 7 : feuilles et fleurs(a), fruit(b) et graines(c) d'*A. nilotica* (Bargali et Bargali, 2009)

1-2-3 Germination :

A. nilotica germent après des pluies pendant la saison humide. Bien que 95 % des semences deviennent mortes après deux ans, certaines graines peuvent encore germer jusqu'à 15 ans après la chute de semence (Bargali et Bargali, 2009). La germination est aidée lorsque les graines sont perturbées, par exemple par le feu ou par passage à travers le système digestif des animaux (Ali *et al.*, 2011).

3- La tomate :

La tomate est une des cultures les plus répandues à travers le monde. C'est une source importante de vitamines ainsi qu'une culture de rente importante pour les petits exploitants et pour les agriculteurs/trices commerciaux qui ont une exploitation moyenne (De Broglie et Guérout, 2005). L'origine de la tomate se situe en Amérique du sud, son ancêtre sauvage est *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme (Toussaint et Baudoin 2010).

La tomate *Lycopersicon esculentum* MILL de la famille des solanacées est une plante herbacée annuelle originaire des Andes et d'Amérique, très cultivée pour son fruit consommé à l'état frais ou transformé (Chaux et Foury, 1994). La tomate fait partie des espèces légumières les plus cultivées à travers le monde. Elle occupe la deuxième place dans la production maraîchère, après la pomme de terre (Causse *et al.*, 2000),

Chaux et Foury (1994) mentionnent que la tomate représente 15% de production légumineuses mondiales avec une superficie de 10 million d'hectare, permettant une production d'environ 65 million de tonnes.

3-1 Classification:

Les botanistes ont attribué plusieurs noms à la tomate, mais *Lycopersicon esculentum* attribué par Philip MiLL en 1754 qui est retenu (Spichiger et *al.*, 2004)

La systématique est comme suit :

- **Règne :** Végétale
- **Embranchement :** Spermaphyte
- **Sous/Embranchement :** Angiosperme
- **Classe :** Eudicotylédone
- **Ordre :** Solanales
- **Famille :** Solanacées
- **Espece :** *Lycopersicon esculentum* Mill

3.2 Description botanique :

La tomate est une espèce herbacée de la famille des Solanacées, largement cultivée pour son fruit. C'est une espèce annuelle qui se caractérise par un système racinaire puissant, très ramifié à tendance fasciculée, très actif sur les 30 à 40 premières centimètres, en sol profond, on peut trouver des racines jusqu'à un mètre de profondeur (Chaux et Foury, 1994).

La tige est herbacée de hauteur variant de 30 à 200 cm en fonction des variétés et des conditions de culture, grosse, en vieillissant, renflée aux nœuds, fortement bifurquée, recouverte d'une écorce verte et rude au touché, portant des feuilles alternées, épaisses et ramifiées donnant à la plante un port buissonnant (Kolvec, 1976)(fig.8).



Figure 8 : Culture de tomate (Photographie, 2015)

Les feuilles sont composées de 5 à 7 folioles principales et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires, ovales, un peu lignifiées dentées sur les bords, souvent repliés en

forme de cuillère ou même à bords roulés en dessus (Chaux et Foury, 1994). Les fleurs regroupées sur un même pédonculé en bouquet lâche en inflorescence formant des grappes de 3 à 8 fleurs (Polese, 2007).

D'après Chaux et Foury (1994), le fruit est une baie charnue qui se présente en plusieurs formes : rondes, allongées, oblongues; de taille et couleur variable.

Selon les mêmes auteurs les graines sont enveloppées d'une gaine mucilagineuse poilue, parfois glabre et assez fine chez certains espèces, les graines sont petites, nombreuses, aplaties plus au moins lenticulaires.

1-3- 3 Germination:

Pour germer les graines de tomate ont besoin d'eau et de chaleur. La germination commence par deux phénomènes biologiques : l'imbibition et la reprise de la respiration.

L'imbibition est la première étape de la germination qui consiste en l'absorption d'eau par la graine. La graine absorbe alors jusqu'à 3 fois sa masse. En pratique c'est la mise en présence d'eau de la graine sèche qui déclenche ce processus (Corbineau et Core, 2006).

La reprise de la respiration accompagne l'imbibition ; dès que l'eau est entrée dans les cellules, les enzymes de la respiration s'activent et la graine commence à augmenter sa respiration. La graine à cet instant nécessite de l'oxygène. Elle doit donc être au contact de l'air.

L'embryon contenu dans la graine se développe et la jeune racine (radicule) pointe son nez, Elle se dirige spontanément vers le bas, pour s'enfoncer dans le sol (Chaux et Foury, 1994). Ce Phénomène S'appelle Le Géotropisme.

1-3-4 Problèmes phytosanitaires:

Les cultures de tomate peuvent être attaquées par de nombreux agents pathogènes et ravageurs, aussi bien aériens que telluriques (Pitrat et Caudel, 2015), parmi les problèmes phytosanitaire que peut rencontrer une culture de tomate, selon (Nichadi et *al.*, 2002) :

- Les ravageurs : les pucerons, les aleurodes, les mineuses, noctuelle tomate, les doryphores et les nématodes.
- Maladie cryptogamiques : fonte de semis, anthracnose, alternariose, cladosporiose, pied noir septoriose.
- Benchabane et *al.*, (2008), rapportent que les cultures de tomates peuvent avoir des problèmes liés à différentes origines bactérienne telle que : chancre bactérienne

- Aussi d'autres problèmes d'ordre virale tels que : la bronze de la tomate, mosaïque de tabac, et maladie filiforme

Chapitre 3 : Les Fusarioses vasculaires:

La fusariose présente une trachéomycose provoquée par un champignon imparfait de l'ordre des hypocéréales : *Fusarium oxysporum*. De nombreuses formes spéciales attaquent des cultures vivrières (Palmier dattier, tomate, melon, pois, concombre) ou ornementale (Œillet, cyclamen) (Katans, 1995),

Cette espèce est la plus dispersée dans le monde et peut être trouvée dans la plupart des Sols de l'Arctique, tropical, désertique, cultivées ou non (McMullen and Stack, 1984). *F. oxysporum* est l'une des espèces les plus économiquement importante compte tenu de ses nombreux hôtes et le niveau de perte que peut entraîner. Les formes spéciales de *F. oxysporum* sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures racinaires (Nelson et al., 1981).

F. oxysporum est un agent du sol où il croit sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydospores. Les chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Agrios, 1988 ; Beckman et Roberts, 1995).

Les espèces de *Fusarium oxysporum* se caractérisent par une large gamme de plantes hôtes et la plupart des souches pathogènes de *F. oxysporum* envahissent le système vasculaire de ces plantes et présentent une spécificité parasitaire, c'est-à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminés (Nelson et al., 1983)

1-Fusariose vasculaire de la tomate :

La tomate peut être victime de deux maladies fusariennes déviantes différentes soit la flétrissure fusarienne (fusarium wilt) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* abrégée FOL et / ou la pourriture de la racine et du collet (fusarium crown and root rot) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopersici* abrégée FORL (Haas et Defago, 2005).

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* est un champignon tellurique mondialement répandu. Décrit pour la première fois en Europe à la fin du XIXe siècle, il est maintenant présent dans plusieurs dizaines de pays répartis sur tous les continents, où ses dégâts fluctuent en fonction de la race et de la variété cultivée (Blancard, 2003).

Fusarium oxysporum f.sp *lycopersici* appartient à l'ordre des hyphales, il se situe dans le groupe des deutéromycètes (Agrioss, 1988), la sous classe des hyphomycètes et à la famille des tuberculariacées (Messiaen et Cassini, 1968 ; Both, 1971). Ce champignon produit trois types de spore asexuelle, les microconidies unies ou bicellulaires sont les uniques présentes dans la plante-hôte (Agrioss, 1988). Il existe différentes races de FOL (selon les régions du monde) (Duval, 1991).

Trois races de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) sont des agents pathogènes de tomates importants à travers le monde, causant des pertes économiques graves par jaunissement du rachis, de foliole et éventuellement de la feuille entière (Duval, 1991).

On reconnaît la maladie à ces symptômes: Décoloration de la tige commençant par un léger jaunissement longitudinal sur une portion de celle-ci et évoluant en une bande jaune plus marquée puis en une nécrose beige à marron clair. Les vaisseaux à l'intérieur de la tige brunissent (Kraft et al., 1994).

La dissémination du champignon se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent, les éclaboussures, les importations dans l'exploitation terreuse ou de plants contaminés (Agrios, 1988)

Les champignons phytopathogènes du genre *Fusarium* responsables de la pourriture des fruits de tomate peuvent causer des maladies pour une large gamme d'espèces de plante vivrière. Les mesures préventives contre la flétrissure fusarienne consistent à éviter les conditions qui favorisent la maladie soit: un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées « l'optimum pour le développement du FOL est 28C » et un manque de lumière en intensité et en temps (Duval, 1991).

2- Fusariose vasculaire de palmier dattier :

Le palmier dattier est l'arbre fruitier par excellence du désert saharien où il joue à la fois un rôle économique grâce à la production des dattes qui constituent la base de l'alimentation humaine et animale, et un rôle écologique puisqu'il confère sa structure à l'oasis. En effet, il protège du vent et de l'avancée du désert tout en créant sous son couvert un micro-climat favorable au développement de nombreuses cultures annexes (Fernandez et al., 1995)

La phoeniculture est largement développée en Afrique du Nord et au Moyen Orient où le palmier dattier est l'élément structurant des oasis dans les régions désertiques. Plusieurs millions d'arbres ont été détruits dans les palmeraies marocaines et algériennes par la fusariose vasculaire « le Bayoud » (Sedra et al., 1995)

Les fusarioses vasculaires du palmier dattier, dénommé communément bayoud, est cause par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* abrégé **FOA** appartenant au Deuteromycetes, classe des Hyphomycetes, ordres des hypahale (OEPP/EPPO, 1982). Jusqu'ici plus de 13 millions de palmiers ont été détruites par cette maladie au Maroc et en Algérie (Pereau-Leroy, 1958 ; Djebri 1988) .

Cette maladie sévit dans toutes les palmeraies marocaines et a progressé vers l'est pour atteindre les oasis du Sahara occidental et central Algériens , entraînant ainsi d'énormes dégâts sur le plan écologique et surtout économique au vu de l'importance des exportations des dattes qui génèrent des apports en devises importants pour l'économie Algérienne (Azouaoui et Rahmani, 2013).

Le premier symptôme extérieur, traduisant l'existence de la maladie sur un Palmier-dattier, est l'aspect plombé que prend une palme de la couronne moyenne de l'arbre. Ce symptôme est discret et il faut un observateur exercé pour déceler les folioles d'un côté se replient progressivement et tendent à s'appliquer contre le rachis en même temps qu'ils blanchissent d'où le nom Bayoud (Louvet et *al.*, 1970), la maladie progresse vers l'apex (Bulit et *al.*, 1967). Quand tout ce coté a été affecté, le flétrissement commence de l'autre côte, en sens inverse cette fois-ci, de l'extrémité de la feuille vers la base, jusqu'à la mort de feuille (Bulit et *al.*, 1967 ; Djebri, 1982)

Selon les mêmes sources, autre les symptômes internes se traduisent par des racines infectées, rougeâtre, sans proportion avec les dégâts observés sur l'arbre. Ces racines malades correspondent à plusieurs groupes de vaisseaux vasculaire du stipe qui ont pris une coloration brunes-rougeâtre, de même que le parenchyme et le sclérenchyme environnants (Bullit et *al.*, 1967 ; Louvet et *al.*, 1970 ; Debri, 1988).

La dispersion de la maladie paraît être assurée par le transport de parties végétales de palmiers dattiers bayoudés (palmes, bois, rejets, objets confectionnés avec nervures, folioles de palmes, lif, etc), ainsi par contact entre racines saines et malades (Saaidi, 1992)

Fusarium oxysporum f. sp. albedinis figure sur la liste des organismes de quarantaines, seul l'abattage des palmiers infectés et leur incinération permet de lutter actuellement contre la propagation de l'infection. Face à une alarme croissante et devant l'état sanitaire de plus en

plus dégradé des palmeraies, des recherches ont été entreprises pour la mise au point d'une méthode de lutte permettant de mieux cerner l'étendue des contaminations et d'éviter l'abattage (Djebri, 1982)

3-lutte biologique contre les maladies fusariennes :

La lutte biologique contre des maladie végétales est due généralement à la présence de microorganismes qui contrôles les maladies et qui sont marqués comme agents de lutte biologique (Alabouvette et *al.*, 1979),

Cette lutte consiste à utiliser différents organismes vivants, appelés auxiliaires ou de leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les bio-agresseurs, il s'agit d'utiliser la biodiversité et les ennemis naturels des espèces nuisibles (Fernades, 2005)

Au niveau de la rhizosphère, et du contrôle des agents pathogènes telluriques, la lutte se fait principalement via des bactéries appartenant aux genres *Streptomyces*, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Pseudomonas* et des champignons tels que le genre *Trichoderma* (McSpadden et Fravel, 2002).

Partie II

Matériels et méthodes

L'objectif principal de cet essai est de mettre en évidence l'effet bénéfique des *P. spp.* fluorescents sur la germination des graines de trois espèces forestières (cèdre, *Acacia raddiana* et *Acacia nilotica*) et une espèce cultivée (tomate).

Les études menées sur l'utilisation des souches bactériennes promotrices de la croissance des semis d'arbres en pépinière foresterie sont rares ou quasi-absentes. Dans ce travail, nous avons évalué l'influence des deux souches bactériennes sur la vitesse de germination, l'élongation racinaire et la longueur de la partie aériennes des quatre espèces végétales citées ci-dessus.

I-Caractérisation des souches bactériennes :

Sur la base des travaux précédents (Larbaoui, 1999 ; Benchabane et *al.*, 2000 ; Aneur, 2009), nous avons sélectionné deux souches de *P. fluorescens* qui ont montrés des activité antagoniste très importante

Les souches bactériennes B1 et B2 sont isolées à partir des rhizosphères de l'abricotier et du pêcher de la région de Metidja.

La pureté des isolats bactériennes a été vérifiée sur le milieu B de King (King et *al.*, 1954) (annexe1). Les cultures pures sont conservées à 4°C.

1-1- Caractérisation morphologique :

1-1-1 Caractérisations 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 cultureux 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 h d'incubation à 25°C ± 2.

1-1-2- Caractérisation microscopique :

- ❖ La coloration de Gram : la coloration de Gram a été réalisé selon la technique classique décrites par Hilderbrand et *al.*, (1988), qui consiste à :
 - Préparation du frottis : prélèvement d'une colonie de bactérie âgée de 24 heures à l'aide d'une anse à ensemencé, ensuite l'étaler sur une lame propre qui contient une goutte d'eau physiologique.
 - Fixation : la fixation du frottis a été réalisée par maintenance de la lame dans un air chaud de la flamme de bec Bunsen.
 - La coloration : On procède donc à la coloration comme suit :

- 1-Recouvrir le frottis fixé et parfaitement refroidi du violet de Gentiane, laisser agir une minute on effectue ensuite un lavage à l'eau courante.
- 2- Recouvrir la lame du Lugol pendant une minute pour la fixation.
- 3-Décolorer à l'alcool pendant (30 secondes), Rincer à l'eau
- 4-Recolorer le frottis avec la fuchsine pendant une minute, Rincer à l'eau et laisser sécher
- 5-l'observation se fait au microscope optique avec objectif 1000 avec l'huile à immersion.

1-2- Caractérisation biochimique:

1-2-1- Galerie biochimique classique :

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

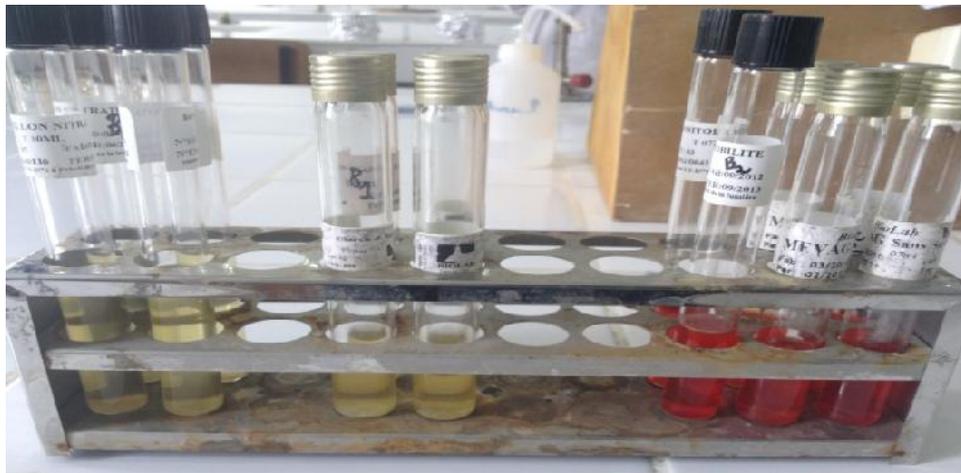


Figure 9 : La galerie biochimique classique (Photographie, 2016)

- ✓ Etude des dérivés de l'acide pyruvique : Le milieu Clark et Lubs (Machal et bourdon, 1982) (annexe N°1) estensemencé avec culture bactériennes âgée de 24 heures et incubé à $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24heures

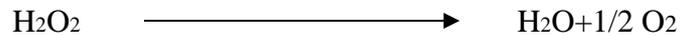
Ce milieu permet de mettre en évidence deux voies de dégradation :

- ✓ -Réaction Rouge de méthyle (RM) : au milieu de cultureensemencé et incubé sont ajoutés a 2à3 goutte de réactif de rouge de menthyle (RM).
- ✓ -Réaction Voges Proskauer (VP): pour la recherche de l'acétoine on ajoute pour le milieuensemencé 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 transforme l'acide pyruvique en acétoine, la réaction VP est positive (VP+).

- ✓ Test mobilité : Les souches bactériennes de 24 sont ensemencé par piqure centrale dans le milieu mannitol-mobilité (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1) .Ce milieu est semi solide permettant de mettre en évidence la mobilité et la dégradation de Mannitol. Après 1 à 3 jours d'incubation la transformation de la couleur du jaune signifie que la bactérie est Mannitol. Les souches mobiles se disperseront à partir de la piqure d'ensemencement créant un trouble dans le milieu
- ✓ Utilisation de l'ion citrique : L'utilisation de citrate par les bactéries comme seule source de carbone et d'énergie est mise en évidence sur le milieu gélosé de Simmons (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1). L'ensemencement des souches est effectué sur la pente du milieu de culture. Après 2 à 3 jours d'incubation à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, l'utilisation des citrates est marquée par le virage de la couleur du milieu vers le bleu.
- ✓ hydrolyse de la gélatine : Le tube contenant le milieu gélatine (Gardan et Luisitti, 1981) (annexe N°1), ont été ensemencé avec la crème bactériennes de 2 heures par une piqure au centre du culot. Après 2 à 3 jour d'incubation à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, nous déposons les tubes 10 minutes à 6°C pour favoriser la prise de gel, en comparaison avec des tubes témoin non ensemencé avec les bactérie, si le milieu de culture est liquide, la bactérie hydrolyse la gélatine donc elle synthétise la gélatinase.
- ✓ Oxydation/fermentation : Le test d'oxydation : fermentation est effectuée sur le milieu Mevag confectionné en tubes à essai (Marchal et Bourdoun, 1982) (annexe N°1) ; l'ensemencement d'une culture bactérienne âgée de 24 heures est effectuée par piqure centrale et l'un des tube 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 virage de rouge du milieu au jaune nous révèle la positivité du test
- ✓ Les nitrates réductases : Le test décrit par Gardan et Luisitti (1981) consiste à ensemencer les isolats bactériens jeunes dans le milieu bouillon nitraté (annexe3) ; les tubes inoculés sont incubés à $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 2 à 3 jours. La lecture des résultats se fait après addition des deux réactifs spécifiques révélateurs des nitrates 1 et 2 et une pincée de Zinc. Les notations sont en fonction de la coloration obtenue :
Si une coloration rose apparaît les nitrites sont présents. La bactérie possède une nitrate-réductase
Si le milieu reste incolore, on ajoute de la poudre de zinc
Si le milieu devient rose, les nitrates sont présents la bactérie ne possède pas de nitrate-réductase

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

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



- ✓ Tes Oxydase : Ce test est réalisé à un disque d'oxydase prêt à l'emploi, sur le quel nous avons déposé des colonies bactériennes âgées de 24 heures. La lecture de résultats se fait immédiatement, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur bleu au bout de 10 secondes.
- ✓ Tolérance au sel: La détermination de la résistance des isolats bactériens à la salinité a été effectuée l'ensemencement en strie des souches âgées de 24 heures sur milieu de culture de Chapman (annexe N° 1). La lecture des résultats portant sur la présence ou l'absence de la croissance bactérienne est réalisée après incubation de 24 à 72 heures à une température de 25°C±2

1-2-2- Caractérisation par la plaque API 20 Ne :

Créé en 1970 par le docteur Bussière, une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

L'API 20 Ne (fig. 10) est un système d'identification des bacilles à Gram-, ce test est réalisé selon les recommandations Biomerieux S.A (France) qui consiste à :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml)
- A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique âgées de 24heures, Réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de Mc Ferland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément
- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette.
- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC.

-Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) -
Refermer la boîte d'incubation et incuber à $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures.



Figure10 : Inoculation de plaque API 20 Ne

La lecture des résultats repose sur des changements de la coloration initiale des différents milieux.

Lecture des caractères est faite sur une fiche de lecture (tableau de lecture) (fig. 11).

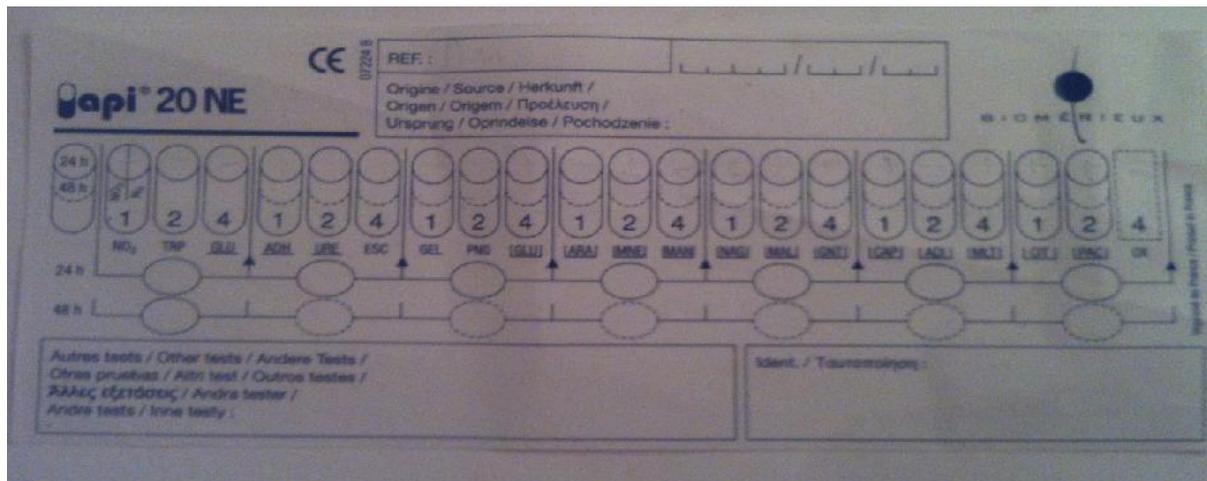


Figure 11 : Tableau de lecture de la plaque API 20 Ne

L'identification de l'espèce est rendu possible grâce à l'utilisation du tableau d'identification.

1-3-Production de l'acide indole acétique (AIA) :

Réalisée sur milieu de culture NB (Nutrient Broth) (annex N°1) et MS (Mineral salt medium)(annexeN°1) décrit par Edi,(2006) , repartis en tube à essai à raison de 10 ml par tube et additionnés de L-tryptophane à des concentrations de 1, 2, 5 mg/ml. Les milieux de cultures stérilisées par filtration à travers la membrane millipore de $0,22 \mu\text{m}$ de porosité sont ensemencés par une crème bactérienne âgée de 24 heures et incubés à 25°C 2 pendant une semaine.

Après incubation, les cultures sont centrifugées à 3000 rpm/30 min. on ajoute pour 2 ml de chaque surnageant deux gouttes d'acide orthophosphorique et 4 ml de réactif Salkowski (annexe N°1)

L'apparition d'une couleur rose dans le milieu indique la présence de l'AIA. Ce test est réalisé en duplicata.

1-4-Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes :

La solubilisation de phosphate tricalcique a été étudiée sur milieu Pikovskaya (PVK) (annexe N°1) et sur milieu NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate).

Chaque milieu est réparti en boîtes de Pétri puisensemencé par différentes méthodes.

- Méthode des spots, qui consiste à déposer la crème bactériennes sous forme de spots sur le milieu de culture.
- Méthodes des puits qui consiste à effectué des puits à l'aide d'une pipette Pasteur et les remplir avec la suspension bactérienne
- La dernière méthode, consiste à étaler directement la suspension bactérienne sur la surface du milieu de culture.
- L'incubation est effectuée à 28°C pendant 05 jours, Nous avons effectué deux répétitions.

La lecture des résultats se fait par mesure du diamètre de l'halo clair qui entoure les bactéries (le diamètre total : diamètre de l'halo + diamètre de la colonie ou de puits)

2-Essai de la stimulation de la germination « in-vitro » :

2-1 Matériels végétales

La présente étude a porté sur deux légumineuses (les acacias), une essence forestière (le cèdre) et une espèce maraichère (tomate).

Les semences des trois premières espèces citées ci-dessus proviennent de la collection de l'institut national de la recherche forestière (INRF)

Tableau 1 : listes des espèces végétales utilisées dans l'essai de la biostimulation

Plante	Nom scientifique	origine	Intérêt agronomique	Date et lieu de la récolte
Acacia	<i>Acacia raddiana</i>	Tamanrasset	Légumineuse, reboisement	2013
Acacia	<i>Acacia nilotica</i>	Tamanrasset	Légumineuse, reboisement	2013
Cèdre	<i>Cedrus atlantica</i> <i>Maretti</i>	Tikjda	reboisement	Avril 2015
Tomate (saint pierre variété classique)	<i>Solanum lycopersicum</i>	Semences achetées	Culture maraichers	2015

2-2-Préparation des graines :**2-2-1-levée de la dormance :**

- Pour l'acacia : les graines d'*Acacia raddiana* et d'*Acacia nilotica*, ont subis une scarification mécanique, en effectuant un léger frottement des graines par du papier abrasif afin de levée dormance tégumentaire.
- Pour la semence du cèdre : juste avant la mise en germination nous avons trempée les 300 graines dans de l'eau oxygénée à 30% pendant 45 minutes, (Lebru,1970) puis lavées abondamment à l'eau distillée.
- Pour la semence de tomate : c'est une espèce annuelle dès que les conditions externes optimales de germination sont réunies les graines se mettent à germer, on ne trouve pas de difficulté liée à la dormance (graines non dormantes)

2-2-2-Désinfection superficielles des semences :

La désinfection des semences a été réalisée par trempage dans l'eau javellisée (225ml d'H₂O + 25 ml d'eau javel) pendant 20 minutes, ensuite réalisé trois rinçage successif à l'eau distillée stérile pour chaque lot de semence, enfin nous avons laissé les graines sur un papier absorbant stérile pour séchage.

2-3-Bactérisation des graines :

La bactérisation des graines a été réalisée par des suspensions bactériennes préparées à partir de crème bactérienne âgées de 24 heures prélevé sur milieu King. La concentration des suspensions bactériennes d'environ 10⁶-10⁷ UFC est ajustée à une longueur d'onde de 620nm. La bactérisation a été effectuée par trempage des graines dans chaque suspension bactérienne pendant 30 mn. Les semences témoins (non bactérisées) ont été mise dans l'eau distillée stérile

2-4-Mise en germination :

Les graines désinfectées et bactérisées avec la souche B1 et la souche B2 ainsi que les graines non bactérisées sont disposées sur du papier filtre stérile dans des boîtes de Pétri à raison de 10 graine/boîte avec 10 répétitions pour chaque traitement (Fig.12). Pour éviter le dessèchement des graines et afin de maintenir une certaine humidité suffisante, 3ml d'H₂O distillé sont apportés dans chaque boîte. Ces dernières sont maintenues à la température ambiante pour la germination.

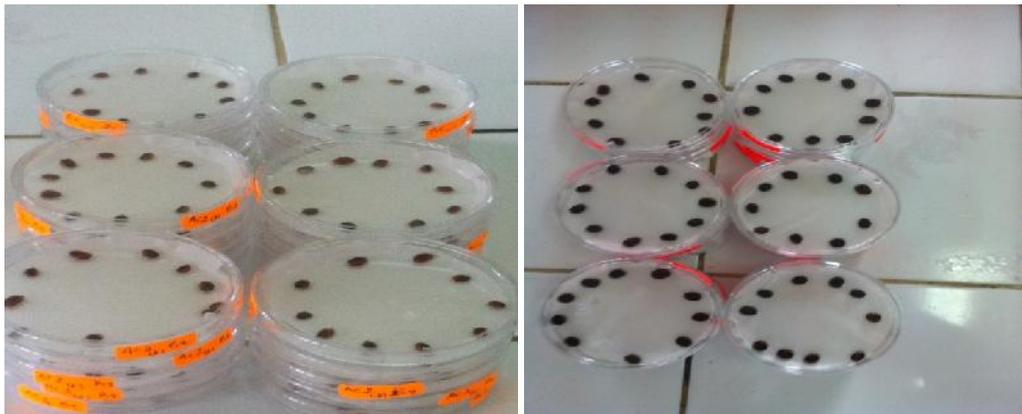


Figure 12 : Mise en germination des graines (Photographie, 2006)

2-5 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 différente d'une espèce à une autre pour les deux espèces d'Acacias est de 144 heures (6 jours), le cèdre est de 430 heures (18jours) et pour la tomate est de

Les graines sont comptées pour déterminer la capacité et la période de germination. On considère qu'elles ont germé lorsque la radicule perce les téguments. L'élévation de la germination des semences a été effectuée sur les paramètres suivants :

2-5-1 la faculté de germination :

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

2-5-2 Vitesse de germination :

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

2-5-3 Longueur racinaire :

La longueur a été mesurées à l'aide d'une règle graduée après l'étalement de la racine jusqu'à l'extrémité de la racine.

2-5-3 Longueur partie aérienne :

La mesure de la longueur a été à effectué à l'aide d'une règle graduée.

2-6 Dispositif expérimental :

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

*Facteurs 1 : correspond aux espèces végétales avec 4 variantes : Tomate, cèdre, *Acacia raddiana* et *Acacia nilotica*

*Facteur 2 : correspond aux souches bactériennes avec trois variantes : B1, B2 et témoin (sans bactérie)

*Facteur 3 : représenté par les heures correspondantes à la germination

2-7-Analyse statistiques :

L'analyse statistique des résultats est basée sur l'analyse de la variante enregistrée dans les traitements. Dans le cas de différences significatives, la comparaison des traitements est effectuée selon le test de Newman keuls au seuil de risque d'erreur de 5% pour déterminer les amplitudes significative.

3-Essai d'antagonisme microbien « in-vitro » :

3-1-Souches bactériennes :

Dans l'essai d'antagonisme microbien, nous avons utilisés les deux souches de *P.fluorescens* utilisés dans les essais précédents.

3-2-Isolat fongique :

Deux isolats fongiques ont été utilisés dans nos essais, il s'agit de l'isolat *Fusarium oxysporum f sp.lycopersici* (F.O.L) agent de la fusariose vasculaire de la tomate et l'isolat *Fusarium oxysporum fsp.albidinis* (F.O.A) agent de la fusariose de palmier dattier (tableau 2).

Tableau 2 : Origines des isolats fongiques utilisés dans le test d'antagonisme.

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

La purification de ces isolats est réalisé par repiquage successif de disques mycéliens sur milieu PDA (Annexe N°1) en boîte de Pétri.

3-3- Activités antagonistes *in-vitro* :

Ce test est réalisé pour mettre en évidence les activités inhibitrices des souches bactériennes en contact direct avec isolats phytopathogènes sur milieu KB et milieu PDA.

3-3-1-Par confrontation directe

❖ Méthode des spots :

Cette méthode a été décrite par Becker (1988). Il s'agit de déposer à l'aide d'une anse des spots bactériens âgés de 24 heures à la périphérie de boîte de Pétri, contenant le milieu de culture, après une incubation de 24 heures à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ on dépose un disque mycélien dans le centre de la boîte puis on incube le tout à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant sept à dix jours (Fig.13). Deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche bactérienne testée.

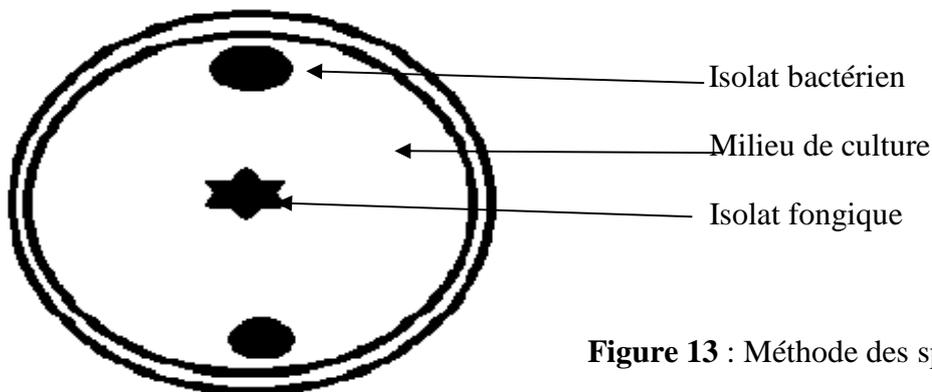


Figure 13 : Méthode des spots

❖ Méthodes des traits :

La méthode des traits (Reddy et Patrick, 1990), consiste à déposer les bactéries antagonistes âgées de 24 heures sous forme de traits fins espacés de 2 à 3cm, et le disque mycélien est déposé entre les deux traits bactériens, l'incubation est réalisée à 28°C pendant 7jours (fig.14)

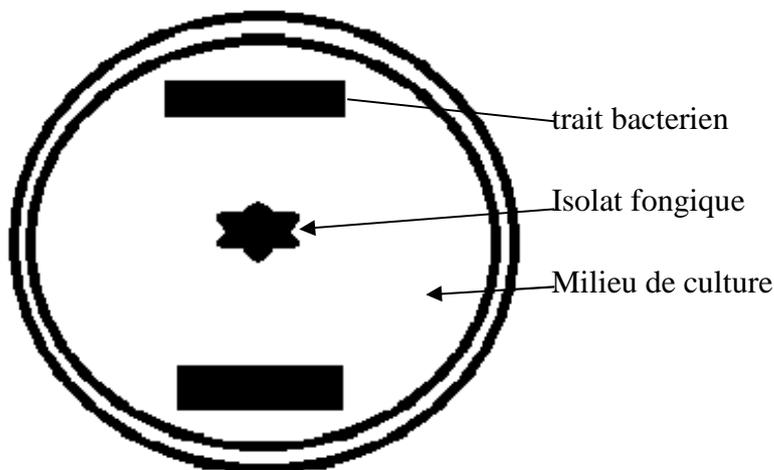


Figure 14 : Méthodes des stries

Pour les deux méthodes (spots et traits), les témoins positifs ont été obtenus par dépôts de disque des deux isolats fongique au centre des milieux de cultures et incubé à la même température.

La lecture des résultats se fait par mesure de la distance parcourue par le mycélium de l'isolat fongique en direction de l'antagonisme bactérienne. Le pourcentage d'inhibition selon (trivediet *al.*, 2008) est comme suit :

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

* **R témoin** : distance de la croissance radiale de l'isolat témoin

* **R testé** : distance de la croissance radiale du mycélium en présence de bactérie

3-3-2-Méthodes de confrontation indirecte :

Cette méthode consiste à mettre en évidence les substance volatiles telles que l'HCN par la confrontation indirecte de la souche bactérienne avec le champignon phytopathogène, les souches bactériennes âgées de 24h sontensemencées sur milieu de culture King B coulé

en boîte de Pétri, après 24h d'incubation à 28°C on place au dessus de ces dernières le milieu PDA coulés en boîtes de Pétri etensemencé par un disque mycélien. Les deux fonds de boîtes de Pétri sont cillés par le parafilm. L'ensemble est incubé à 28°C pendant une semaine (fig.14) ;

La lecture des résultats se fait de la même manière que celle précédemment cité.

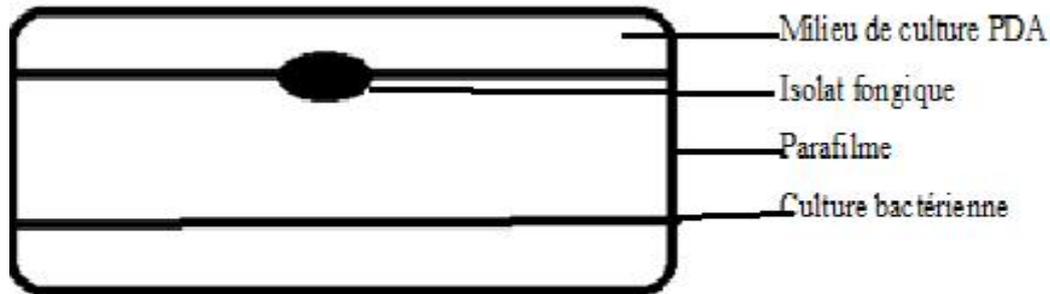


Figure 14 : Méthode de confrontation indirecte

3-3-4-effets de la concentration en fer sur l'activité antifongique :

Sur milieu King B additionné des différentes concentrations 0, 1, 2mg/ml, de fer sous forme de FeCl₃ (semi liquide). Avant d'effectuer l'ensemencement des boîtes, il est conseillé de conservé le milieu KB additionnés des différentes concentrations en fer coulés en boîtes de Pétri dans le réfrigérateur pendant une nuit afin de mobiliser le fer (Voisard et *al.*, 1989).

Après 24h d'incubation des souches à 28°C, le disque mycélien est déposé au centre de la boîte de pétri.

Pour chaque concentration en fer, nous avons utilisé des témoins qui sont représentés par des cultures fongiques pures pour permettre d'évaluer la croissance mycélienne normale. L'ensemencement des souches bactériennes est réalisé à une température de 25±2°C.

La lecture des résultats se fait de la même manière que celle précédemment cité

Partie III

Résultats et discussion

I- Caractérisation des bactéries

1-1- Caractères culturels des souches :

Après 24 heures d'incubation à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ des souches bactériennes ensemencées sur un milieu gélose B de King, nous avons constaté que les colonies bactériennes des deux souches sont convexes avec un aspect lisse, de couleur beige-crème contour régulier, le diamètre des colonies varie de 2 à 4 mm (fig. 16).



Figure 15: Observation macroscopiques des souches (Photographie, 2016)

*Production d'un pigment fluorescent :

Les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* spp fluorescents cultivés sur milieu king B sont fluorescentes. Cette pigmentation traduisant une production des sidérophores visible à, l'œil nu sous lumière naturelle (fig.16).

L'intensité de cette pigmentation est variable selon la souche et la durée d'incubation

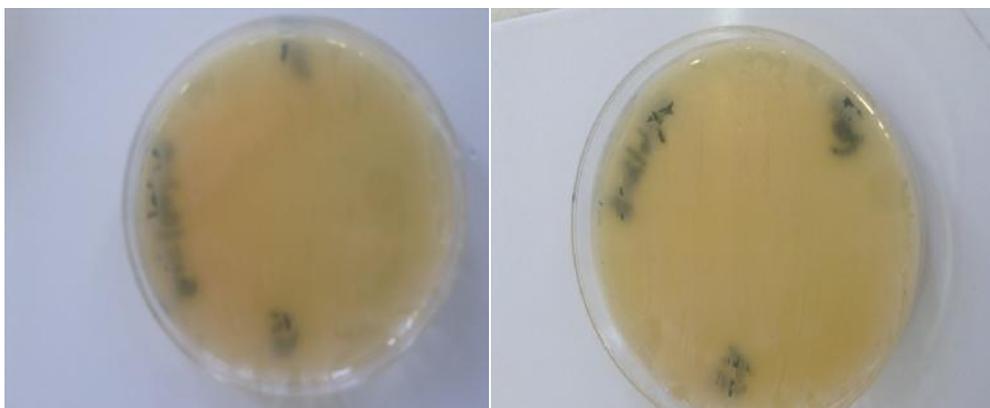


Figure 16: Pigment fluorescents des *Pseudomonas* spp. (Photographie, 2016)

Les deux souches bactériennes observées sous microscope optique objectif 100 au grossissement 10×100 sont de forme de bacilles droits isolés ou groupés, de couleur rose. Elles sont dites Gram- (Gram négative) et ceux suite a leur décoloration par l'alcool (fig.17).

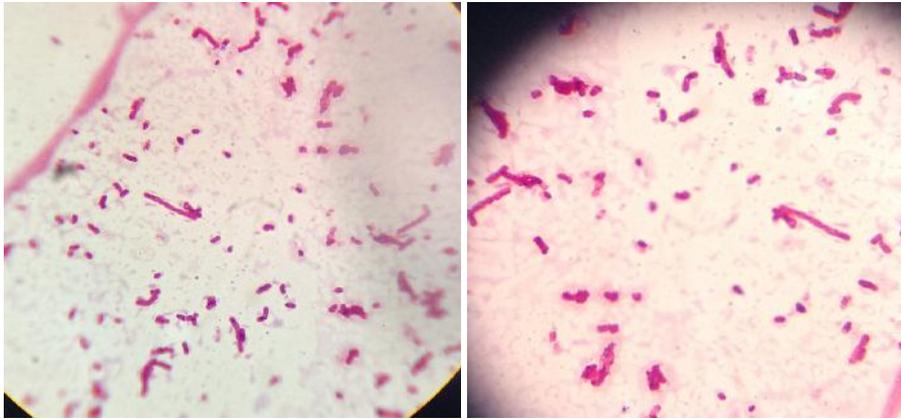


Figure 17: Observation de la souche B1 et B2 sous microscope optique au G : 10×100
(Photographie, 2016)

1-2-Caractérisation biochimique :

1-2-1 Galerie biochimique classique :

Suite aux différents tests réalisés (tableau.3; fig.18), nous avons obtenus les résultats suivants :

- les deux souches présentent une réaction négative pour le rouge de méthyle (Rm), et le Voges Proskauer (VP), ce qui signifie que les deux souches ne dégradent pas l'acide pyruvique en acide acétique formique et en acétoines,
- Sur le Mannitol-mobilité, les deux souches sont mobiles mais elles n'ont pas la capacité à utiliser le mannitol,
- Sur le milieu citrate de Simmons, nous avons observé une coloration bleu ceci explique la capacité à se développer en utilisant le citrate de sodium comme seule source de carbone donc les souches B1 et B2 possèdent la citrate-permease,
- la souche B1 peut hydrolyser la gélatine donc elle synthétise de la gélatinasse,
- Les deux souches ont montré une réaction négative sur le bouillon nitraté ce qui signifie l'inaptitude à réduire les nitrates donc absence des nitrate réductases,
- Les souches bactériennes sont de métabolisme oxydative en présence de l'oxygène sur le milieu Mevag ce qui signifie que ces bactéries sont de type aérobie strict



Figure 18 : Résultat de galerie biochimique classique après 24 d'incubation des souches bactériennes (Photographie, 2016)

- les deux souches sont catalase positive (fig.19a) et oxydase positive (fig.19b).

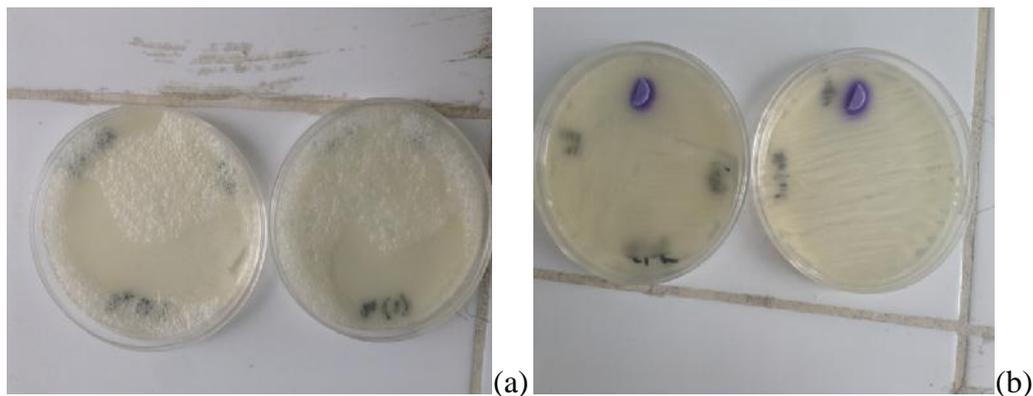


Figure 19 : Test oxydase (a) et test catalase(b) des deux souches (photographie, 2016)

- **Tolérance au NaCl** : Les deux souches bactériennes ont montré une inaptitude totale à croître et à se développer sur milieu Chapman, ce qui explique qu'elles sont incapables de tolérer le NaCl (fig.20).

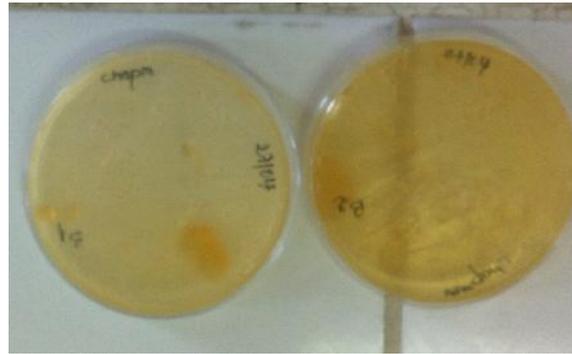


Figure 20 : Tolérance au Na Cl (Photographie, 2016)

Tableau 3 : Caractères physiologiques et biochimiques deux souches bactériennes (B1 et B2)

souches	B1	B2
milieux		
Clark et Lubs	RM + VP -	RM + VP -
Mannitol-mobilité	Mannitol+ Mobilité-	Mannitol+ Mobilité-
Mevag	Aérobiose stricte	Aérobiose stricte
Citrate de Simmons	+	+
Bouillon nitraté	-	-
Gélatine	+	
oxydase	+	+
catalase	+	+
Pigment fluorescent	+	+

(-) : Réaction négative

(+) : Réaction positive

1-2-1 Plaques API 20 Ne:

Après une incubation de 24 heures à 28°C des plaques API 20 Ne, nous avons confirmé que les deux souches B1 et B2 ont un métabolisme respiratoire strictement oxydative (fig.21), (tableau.4)

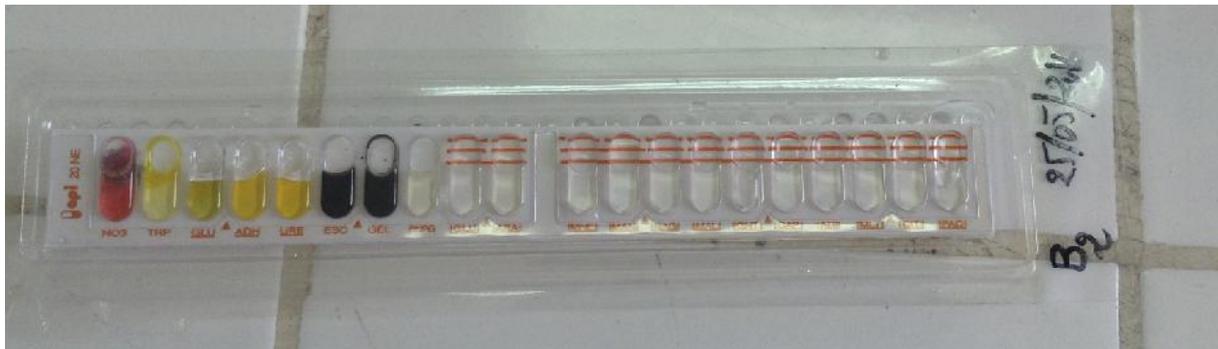
- ❖ les deux souches sont incapables de réduire les nitrates,
- ❖ sont capables d'utiliser l'arginine mais non le tryptophane,
- ❖ sont capable de dégrader la gélatine,

- ❖ Concernant l'assimilation des sucres : les deux souches sont capable d'utiliser le D-glucose, le D-arabinose, le D-mannose, le N-acétyl-glucosamine, le potassium gluconate, l'acide adipique, l'acide malique, le trisodium citrate comme source de sucre face à ca elles sont incapable d'utiliser le l'acide phenylacétique, l'acide caprique, et le D-mannitol.

Les différents résultats obtenus par la galerie API 20 Ne et classique confirment l'appartenance des souches bactériennes testés au groupe des *P.spp*.fluorescents ce qui signifie que ces souches montrent une certaine stabilité de leurs caractères cultureux et biochimiques.



(a)



(B)

Figure 21 ; Résultats de la Galerie API 20 Ne de la souche B1(a) et de la souche B2(b) après 24heures d'incubation (Photographie, 2016)

Tableau 4 : caractères phénotypique définie par la plaque API 20 Ne

Souches	Test	N03	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
B1	24H	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	48H	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
B2	24H	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	48H	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-

1-3- La production de l'acide Indole acétique AIA :

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les souches bactériennes testées sont capables de produire les hormones de croissance « AIA ».

Le niveau de production de cette phytohormones est variable en fonction du milieu de culture, la souche bactérienne et de la concentration du tryptophane dans le milieu de culture.

L'apparition de la couleur rose dans le milieu NB est plus importante par rapport au milieu MS, ce qui signifie que la production d'AIA est plus forte sur le milieu NB que le milieu MS

Egalement nous avons remarqué que la capacité de production de l'AIA est influencé par la concentration du Tryptophane du milieu, elle est de plus en plus importante en allant vers les concentrations les plus élevés (1, 2,5mg/ml) (Tableaux5 et 6 ; fig. 22 ,23) Les niveaux de production étaient plus forts avec la concentration en tryptophane de 5mg/ml pour la souche B1 et de 2mg/ml pour la souche B2.

La souche B1 a montré un niveau de production plus élevés que la souche B2 ceci est expliqué par la capacité de la B1 à synthétiser de l'AIA même en présence d'une faible concentration de tryptophane dans le milieu qui est de 1mg /ml

Aussi, nous avons constaté que la production de l'AIA est nulle en absence du Tryptophane pour les deux souches . Le tryptophane est le précurseur de biosynthèse d'AIA chez les plantes et les microorganismes, les souches bactériennes et dans les deux milieux de culture utilisées. Selon Pastil et *al.*,(2011), Le tryptophane est le précurseur de biosynthèse d'AIA chez les plantes et les microorganismes. Les PGPR synthétisent et sécrètent l'AIA qui sera absorbé par la graine ou la racine à partir du tryptophane et d'autres petites molécules présentes dans les semences ou les exsudats racinaires.

Tableau 5 : production de l'AIA par les deux souches de sur le milieu MS

Concentration de Tryptophane (mg/ml)	Souche bactériennes	
	Souche B1	Souche B2
[0] mg/ml	-	-
[1] mg/ml	+	-
[2] mg/ml	+	+
[5] mg/ml	++	++

(-) : Absence de production

(+) : faible production

(++) : Moyenne production

Tableau 6: production de l'AIA par les deux souches de sur le milieu NB

Concentration de tryptophane (mg/ml)	Souches bactériennes	
	B1	B2
[0] mg/ml	-	-
[1] mg/ml	+	-
[2] mg/ml	++	+
[5] mg/ml	+++	++

(-) : Absence de production

(+) : Faible production

(++) : Moyenne production

(+++): Forte optimal

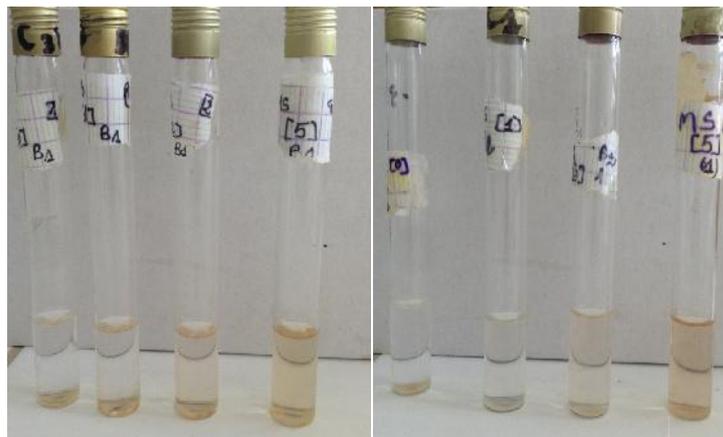


Figure 22 : production d'AIA par les deux souches sur milieu MS (Photographie, 2016)

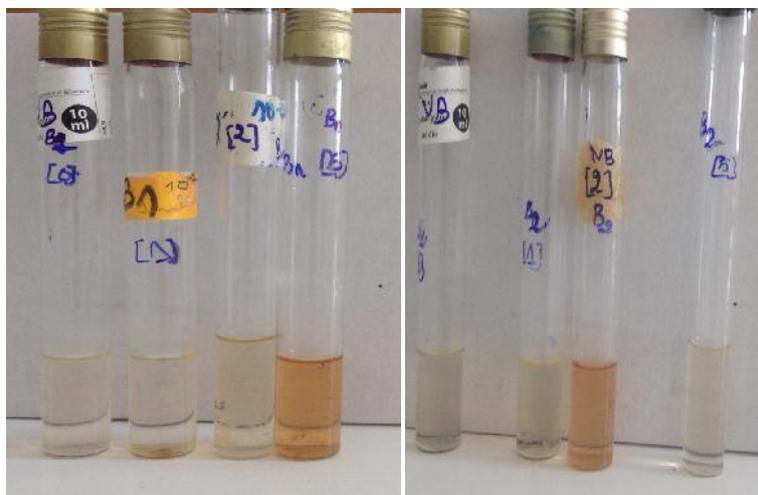


Figure 23 : production d'AIA par les deux souches sur milieu NB (Photographie, 2016)

, La synthèse d'AIA est largement réponde chez les rhizobactéries (Persello-Cartieaux *et al.*, 2003). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents libèrent des auxines (AIA) dans la rhizosphère comme des métabolites secondaires (Khan *et al.*, 2009).

L'AIA synthétisé et secrété par la souche *Pseudomonas putida* s'infiltré dans les cellules végétales et stimule le développement du système racinaire de la plante hôte de 35-50% (Patten et Glick, 2002).

En plus du phototropisme, l'AIA est impliqué 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 division et la différenciation cellulaires. L'AIA est connu pour déclencher les divisions, favoriser l'apparition des racines adventives sur les boutures tout en inhibant leur élongation (Karabaghli *et al.*, 1997).

Ces bactéries présentent donc un intérêt potentiel pour l'amélioration des rendements agricoles par stimulation de la croissance de la plante. En effet, Naik et Sakthivel (2006), et Karnwal (2009) indiquent que la stimulation maximale de la croissance des plantes est constatée dans des rhizosphères de blé et de pomme de terre colonisées par des souches de *Pseudomonas* sp. productrices d'AIA.

1-3-Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes :

Après une semaine d'incubation à 28°C, nous avons observé la formation d'un halo de clarification autour des colonies bactériennes qui indique la présence de substance dissolvant le phosphore. Les souches bactériennes testées sont donc capable de solubiliser les phosphates inorganiques.

Selon la méthode d'ensemencement (spots – suspension), nous avons remarqué une clarification importante de 50% à 100% de la surface de la boîte Pétri. Cette forte solubilisation est expliquée par une bonne répartition de la souche bactérienne sur toute la boîte de Pétri (fig. 24,25; tableaux 7).

Pour la discussion de nous résultats nous avons pris en considération uniquement la méthode des puits avec la quelle nous avons obtenues des zone de clarification précise et bien définie (Fig. 26, Tableau 8).

Les diamètres des zones de clarification enregistrés sont presque similaires dans les deux milieux de cultures variant de 22 mm à 27,5mm

La capacité de solubilisation du phosphore est plus importante avec la souche B2 par rapport à la souche B1 en enregistrant respectivement des diamètres de clarification de 27,5mm et de 22,5mm (fig 27. Tableau 9).

Tableau 7 : solubilisation du phosphore par les deux souches (B1 et B2) sur les deux milieux solide (NBRIP et PVK)

méthode	Milieu PVK		MILIEU NBRIP	
	B1	B2	B1	B2
suspension	+++	+++	++	+++
crème	++	++	++	+++

(-) : Pas de solubilisation

(+) : Faible solubilisation

(++) : Moyenne solubilisation

(+++): Forte solubilisation

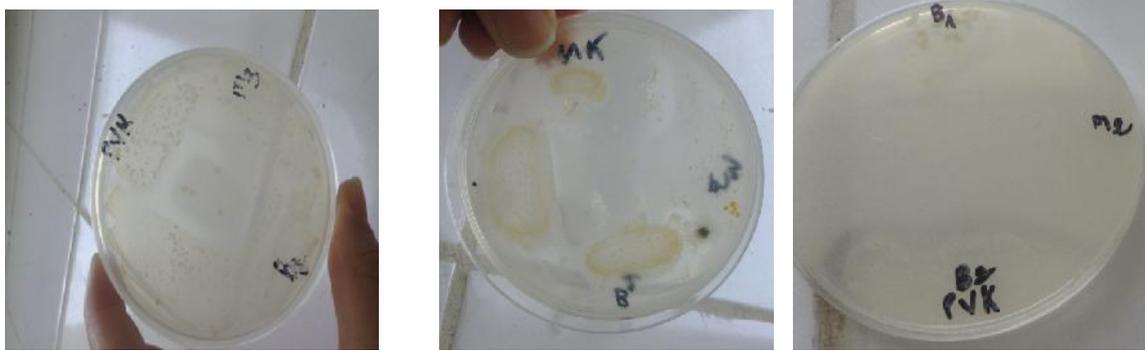
Tableau 8: Solubilisation du phosphore par les bactéries sur le milieu PVK et NBRIP (méthodes des puits) par les deux souches bactériennes

Souches	Milieux de culture	
	PVK	NBRIP
B1	22,5mm	22mm
B2	26mm	27,5mm

Les valeurs représentent la Moyenne des diamètres de l'halo de solubilisation du P (mm) des deux répétitions



Figure 24: solubilisation du phosphore sur milieu NBRIP (Photographie, 2016)



Figures 25: Solubilisation du phosphore sur le milieu PVK (Photographie, 2016)

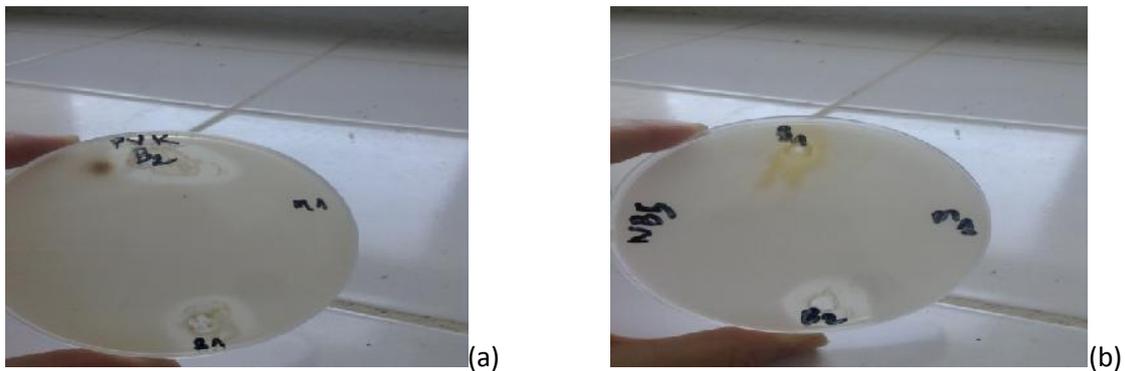


Figure 26: Solubilisation du phosphore sur milieu PVK(a) et NBRIP(b) inoculés par la méthode des puits (Photographie, 2016)

Le phosphore est le deuxième élément nutritif le plus important pour les plantes, après l'azote. Il existe dans le sol sous forme de sels minéraux ou incorporé dans des composés organiques. En dépit de ces composés abondants dans les sols agricoles, la majorité d'entre eux se produisent sous une forme insoluble (Miller et al., 2010). Le phosphore est connu comme l'un des minéraux nutritif le plus souvent limitant de la croissance des plantes. Il est le cinquième élément composant la matière vivante (Plassard et al, 2015).

La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles.

La Solubilisation du phosphore est réalisée par un grand nombre de bactéries saprophytes et champignons agissant sur les phosphates de sol peu solubles, principalement par le mécanisme de chélation (Moghimi et al, 1978; Whitelaw 2000), ou sous l'action des acides organiques et inorganiques sécrétées par les bactéries (Goldstein, 1986)

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

L'utilisation de bactéries de solubilisation phosphate comme inoculant augmente simultanément l'absorption de P par les plantes et le rendement des cultures. Les souches des genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Rhizobium* sont la plupart des agents de solubilisation des phosphates puissants (Rodriguez et Fraga, 1999)

Pseudomonas putida est un des exemples de bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et l'acide 2- céto gluconique (Khan *et al.*, 2009)

Arrif *et al.*, (2015), ont démontré que la souche fluorescens RB13 solubilise une quantité importante de phosphore soit (187,9 µg / ml).

2- Biostimulation de la croissance :

1-le taux de germination :

L'analyse de la variance de l'effet de la bactérisation sur le taux de germination est significatif (0,007). Les traitements bactérisés ont montré des taux supérieurs que les traitements non bactérisés avec des taux de 71% et de 68,25% respectivement obtenus par la souche B2 et la souche B1 contre 61,50% obtenu par le témoin (non bactérisé) (fig. 27; tableau, 9)

Tableau 9 : Effets de la bactérisation sur le taux de germination

Traitement	Moyenne(%)
B1	68,25(A)
B2	71(A)
Témoin	61,505(B)

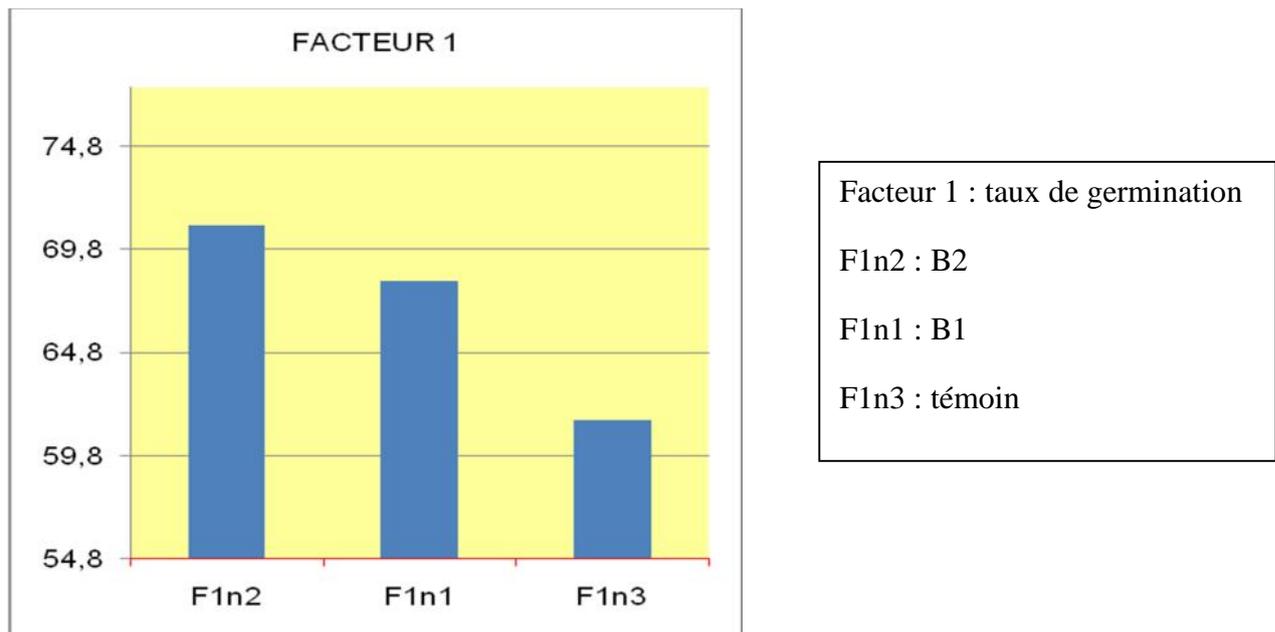


Figure 27 : Effets de la bacterisation sur le taux de germination

Les valeurs avec les mêmes lettres ne présentent pas de différences significatives.

Quant aux espèces végétales, nous avons observé une différence hautement significative ($P : 0,000$) (fig.28 ; tableau 10). Le taux de germination est variable d'une espèce à une autre. Le maximal de 97% a été enregistré par *Acacia nilotica* suivie par l'espèce *Acacia raddiana*, et la tomate avec des taux de 64 % et 58 % respectivement, le cèdre a montré un faible taux de germination qui est de 48,66%

Tableau 10: Effet des espèces végétales sur le taux de germinations

	Taux de germination			
	<i>Acacia nilotica</i>	<i>Acacia raddian</i>	Cèdre	tomate
moyenne	97	64	58	48,66
Groupe homogène	A	B	B	C

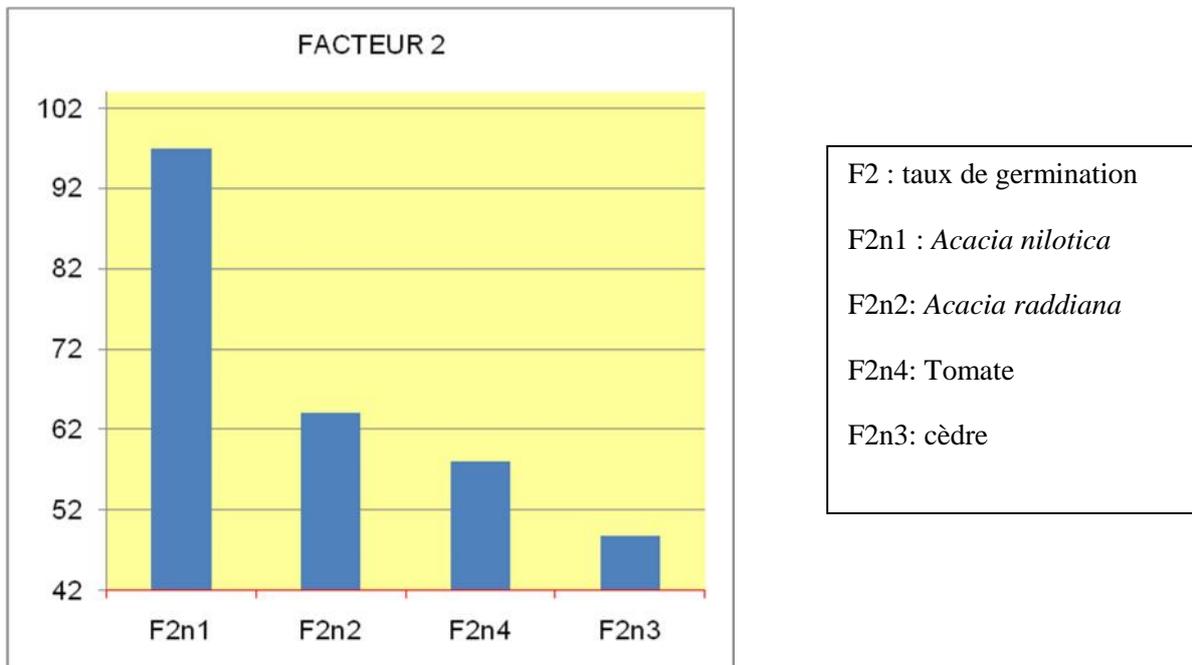


Figure 28 ; Effet de l'espèce végétale sur la germination

L'analyse de l'interaction combiné des deux facteurs « bactérisation-espèces végétales » sur le taux de germination est non significatifs ($P : 0,585$).

2-Hauteur tige :

A travers les résultats obtenues, nous constatons que l'effet de la bactérisation sur la croissance de la tige est non significatif (P : 0,634)

L'analyse des espèces végétales sur la germination est nettement significatif (P : 0,000). La meilleure croissance en longueur a été observée chez les graines du cèdre avec une hauteur de 2,94 cm suivie par les deux Acacia ; *Acacia nilotica*, *Acacia raddiana* avec respectivement des hauteurs de 1,99cm et de 1,70cm. La plus faible hauteur a été obtenue par la tomate avec une moyenne a été obtenue par la tomate avec une moyenne de 1,02cm de hauteur (fig.29, 30 ; tableau 11,12)

Tableau 11: Effet de la bacterisation sur la hauteur des tiges

Traitement	Moyenne (cm)
B1	1,84
B2	1,92
Témoin	1,98

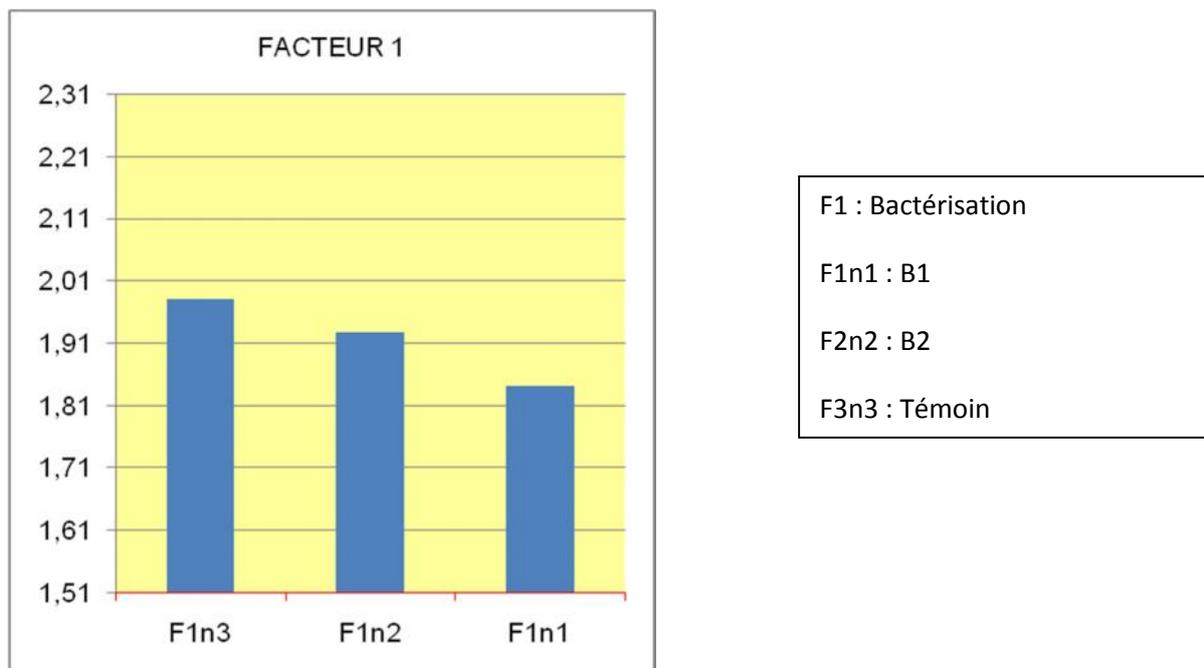


Figure 29 Effet de la bacterisation sur la hauteur des tiges

Tableau 12 : Effet de l'espèce végétale la hauteur des tiges

	Hauteur des tiges			
	<i>Cèdre</i>	<i>Acacia nilotica</i>	<i>Acacia raddiana</i>	tomate
moyenne	2,94	1,99	1,70	1,02
Groupe homogène	A	B	B	C

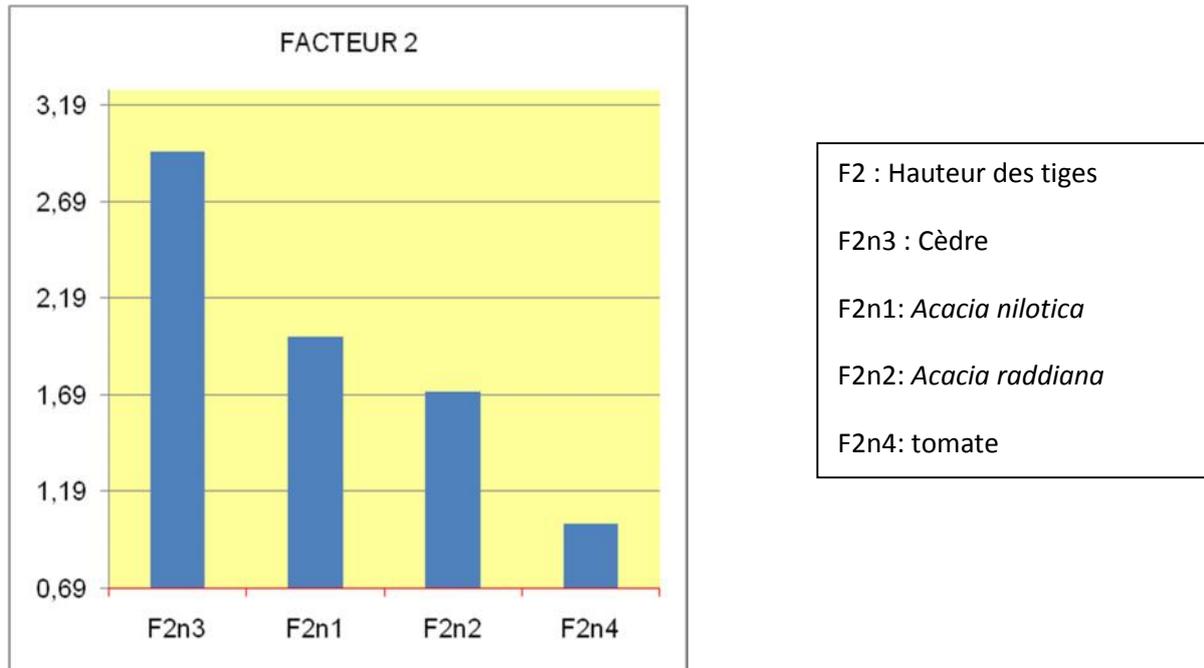


Figure 30 ; Effet de l'espèce végétale sur la hauteur des tiges

3-Longueur racinaire :

L'étude de la variance de l'effet de la bactérisation sur la croissance racinaire est non significatif (P : 0,156)

L'effet de l'espèce végétales sur la croissance racinaire est hautement significatif (P : 0,000).

La longueur racinaire supérieure de 3,58 cm a été obtenue par le cèdre suivi par la tomate (2,92cm), *Acacia nilotica* (2,64cm) et *Acacia raddiana* (1,99cm) (fig.31, tableau, 13).

Tableau 13: Effet de l'espèce végétale sur la longueur racinaire

	Hauteur racinaire			
	<i>Cèdre</i>	<i>Tomate</i>	<i>Acacia nilotica</i>	<i>Acacia raddiana</i>
moyenne	3,58	2,92	2,64	1,99
Groupe homogène	A	B	B	C

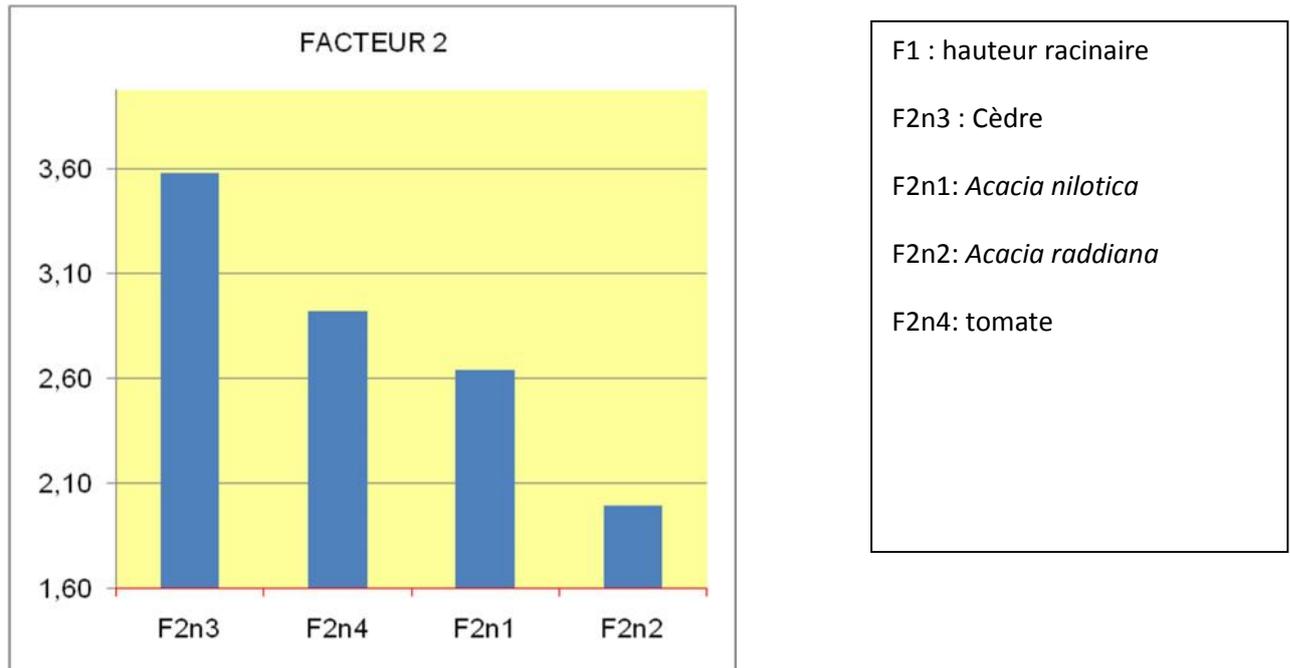


Figure 31 ; Effet de l'espèce végétale sur la longueur racinaire

L'effet de l'interaction bactérie-espèce végétale est significatif (P : 0,023) (tableau,14 ; fig.32)

La bactérisation des graines du cèdre par la souche B2 a induit une augmentation importante de la partie racinaire en enregistrant une moyenne de 4,44cm contre 3cm obtenu par les graines non bactérisé.

En seconde position, se trouve l'interaction bactérie B2 avec les graines de cèdre en enregistrant une croissance raculaire de 3,30cm

Les graines de tomate et ceux des deux acacias bactérisés ou non bactérisé ont montré des résultats similaires (Classé dans le même groupe homogène BC) avec des dimensions

variant de 2,01 et 3cm. La plus faible élongation racinaire a été obtenue par *A. radianna* non bactérisés de 1,88cm

Tableau 14: Effet d'interaction bactérie- espèces végétales sur la longueur racinaire

	Interaction plante-bacterie											
	F1n2 F2n3	F1n1 F2n3	F1n3 F2n4	F1n3 F2n4	F1n1 F2n4	F1n2 F2n4	F1n3 F2n1	F1n1 F2n1	F1n2 F2n1	F1n2 F2n2	F1n1 F2n2	F1n3 F2n3
Longueur racinaire	4,44	3,30	3,00	2,99	2,98	2,78	2,66	2,65	2,58	2,07	2,01	1,88
Groupes homogènes	A	B	B-C	c								

F1: B1
 F2:B2
 n1: *Acacia raddian*
 n2: *Acacia nilotica*
 n 3 : Cèdre
 n4: Tomate

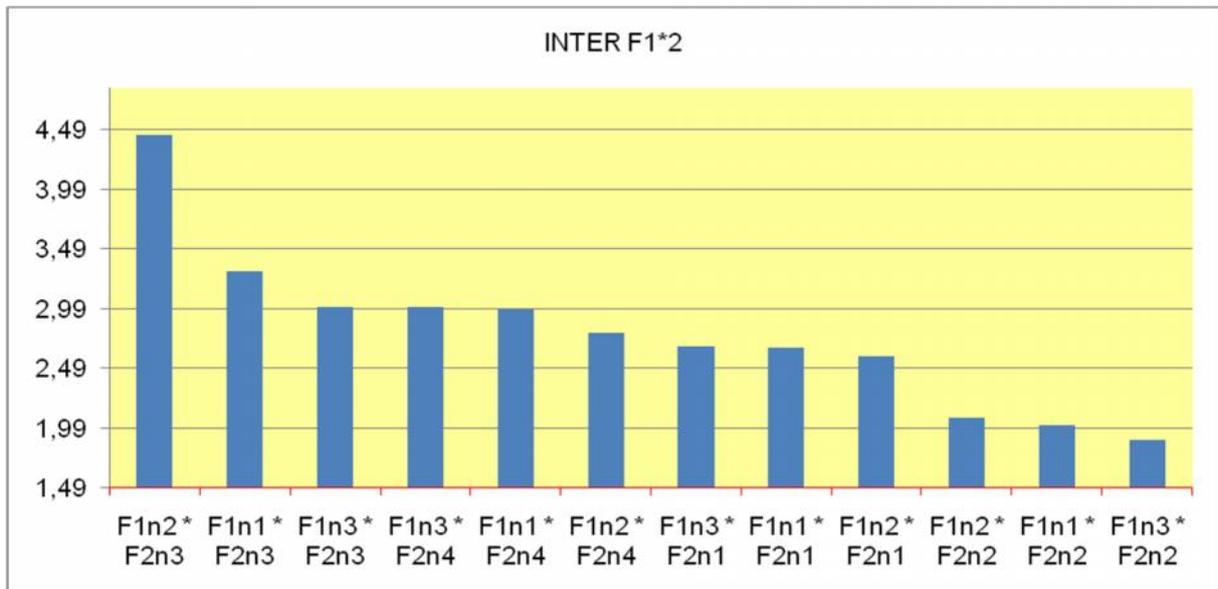


Figure 32: Effet d'interaction bactérie- espèces végétales sur la longueur racinaire

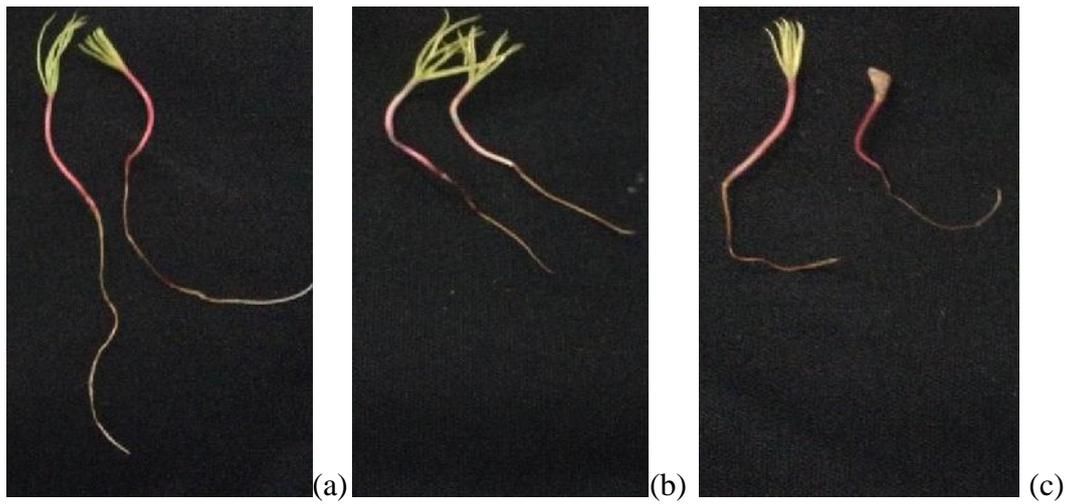


Figure 33 : Stimulation de la croissance du cèdre (a : bactériisé par B1 ; b : bactériisé par B2 et c : témoin non bactériisé)(Photographie, 2016)

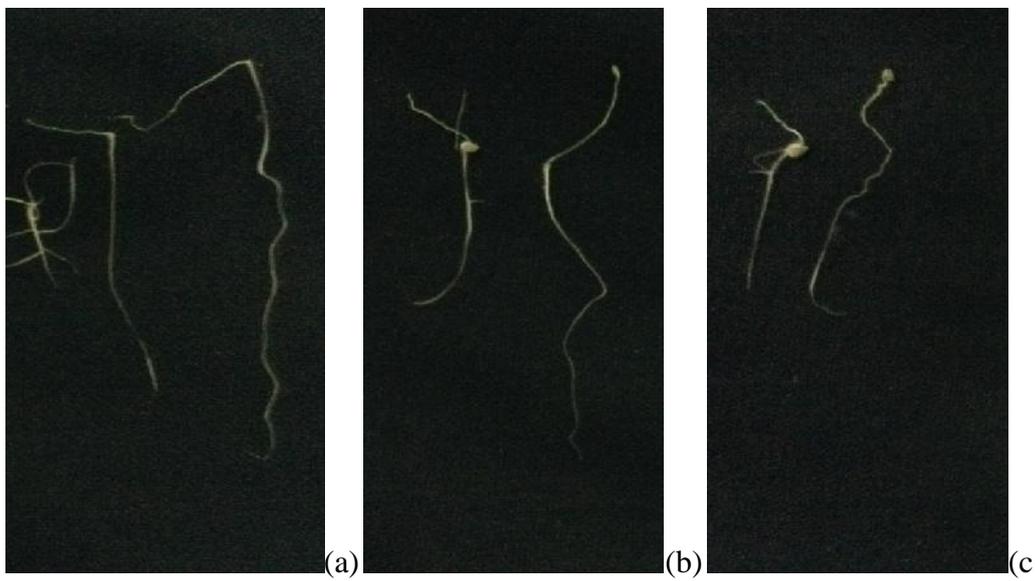


Figure 34: Stimulation de la croissance de la tomate (a : bactériisé par B1 ; b : bactériisé par B2 et c : témoin non bactériisé) (Photographie, 2016)

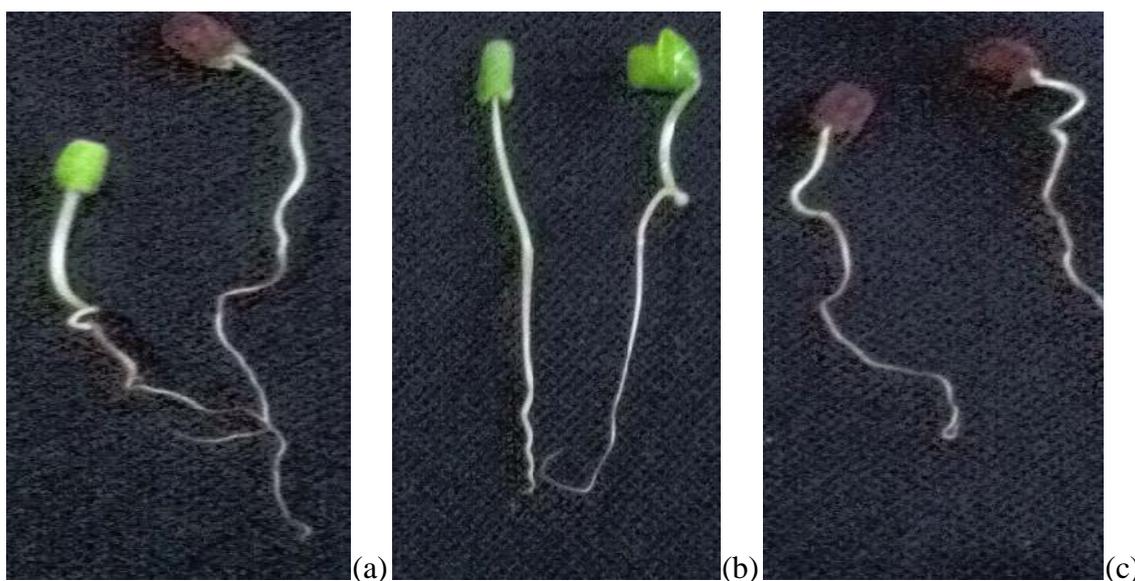


Figure 35 : Stimulation de la croissance d'*Acacia nilotica* (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé) (Photographie, 2016)



Figure 36 : Stimulation de la croissance d'*Acacia raddiana* (a : bactérisé par B1 ; b : bactérisé par B2 et c : témoin non bactérisé) (Photographie, 2016)

4-Vitesse de germination

Les taux de germination représentés en fonction du temps variant avec l'espèce végétale, la souche bactérienne et le temps de la mise en culture des boites de Pétri (fig.37, 38, 39, 40)

La cinétique d'évolution du taux de germination se présente d'une manière similaire chez les graines bactérisées et non bactérisées.

D'après les résultats obtenues, nous avons constaté que les graines bactériées germent plus rapidement que les témoins non bactériées. Pour cette dernière, la germination a débuté après 3 jours pour *Acacia nilotica*, 5 jours pour *Acacia raddiana* et de 7 jours pour le cèdre. Alors que chez les graines bactériées, la germination a commencé après 24h à 72h de la mise en culture.

Selon les courbes des figures (37,38,39,40), nous avons remarqué que la germination des graines d'*Acacia nilotica* et *Acacia raddiana* bactériées par la souche B2 évolue avec des taux supérieurs par rapport à la souche B1 et le témoin.

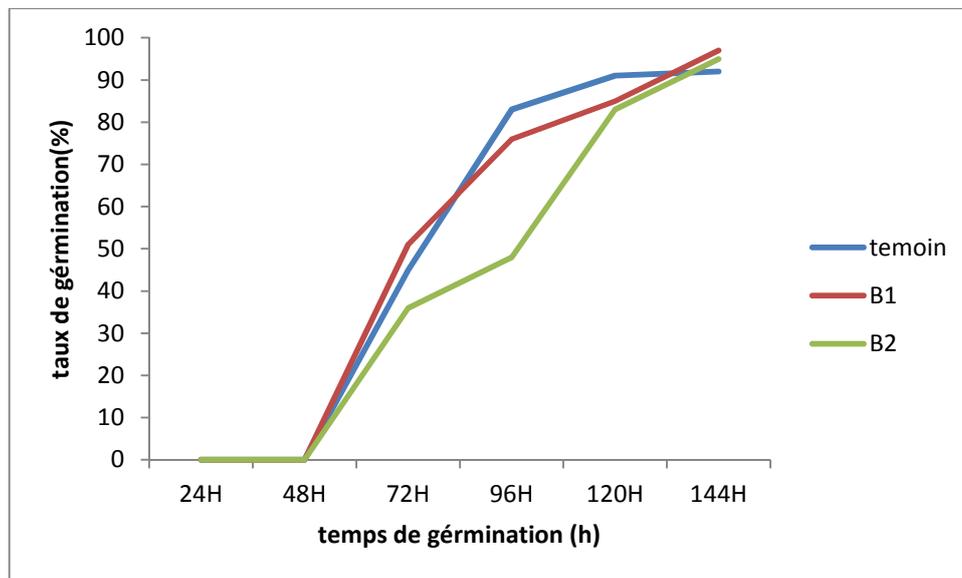


Figure 37: Cinétique de germination des graines d'*Acacia nilotica* cultivées pendant six jours en boîte de Pétri

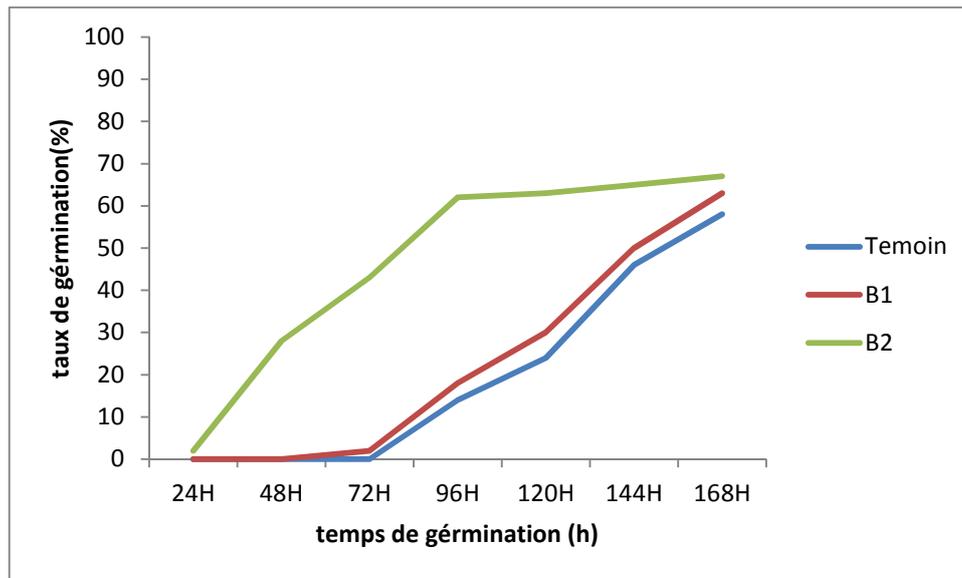


Figure 38 : Cinétique de germination des graines d'*Acacia raddiana* cultivées pendant sept jours en boîte de Pétri

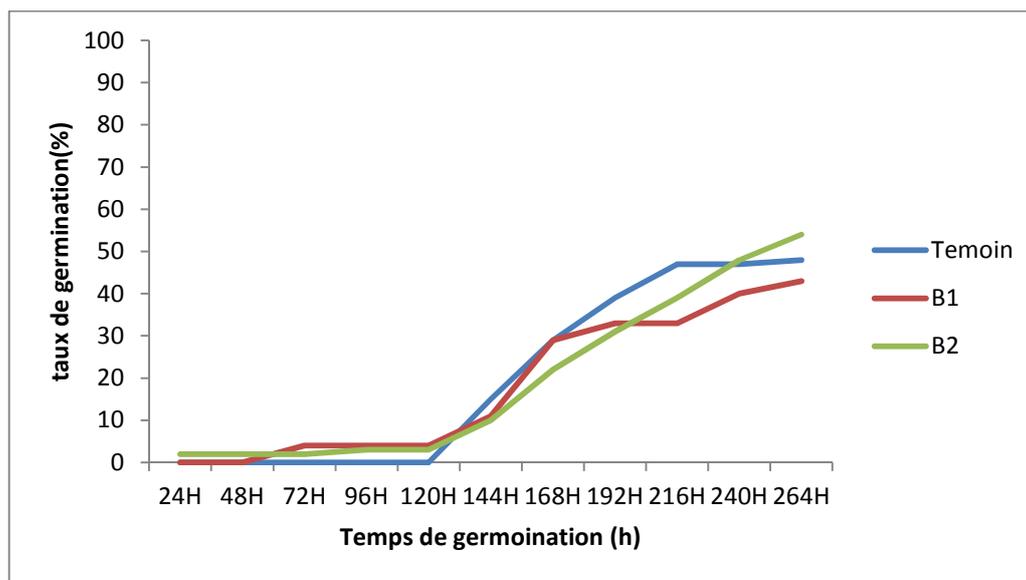


Figure 39 : Cinétique de germination des graines de tomate cultivées pendant dix jours en boîte de Pétri

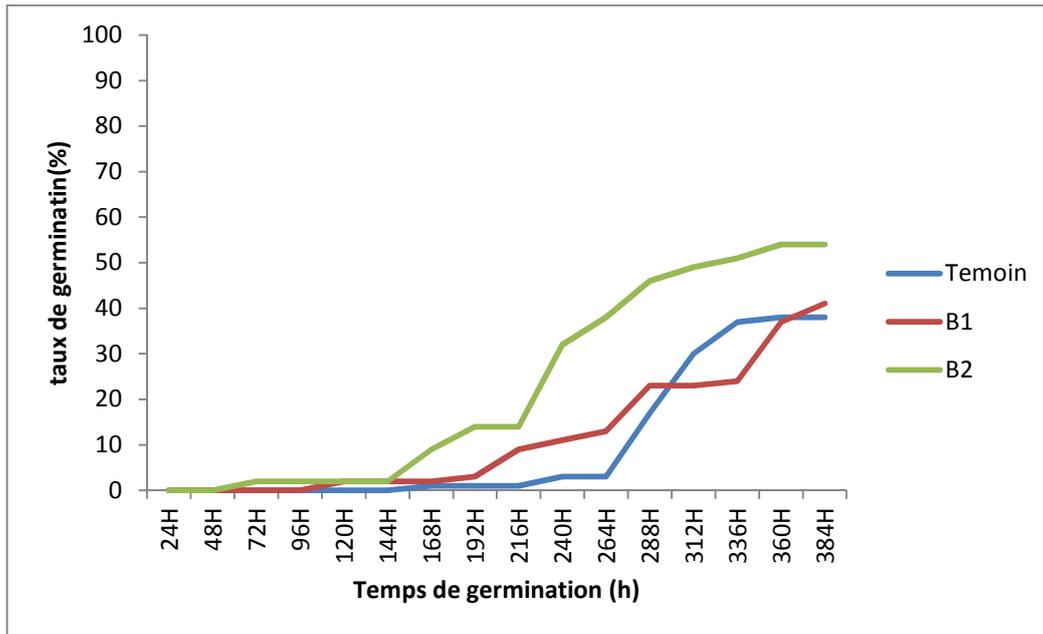


Figure 40 : Cinétique de germination des graines de cèdre cultivées pendant dix huit jours en boîte de Pétri

Discussion des résultats :

D’après les résultats obtenus dans l’essai de biostimulation in-vitro, les souches bactériennes ont montrés un effet significatif sur le taux de germination et la vitesse de germination des graines par rapport au témoin.

Aucune souche n’a montré une influence significative sur la hauteur de la tige. Alors que l’interaction plante-bactérie a eu effet significatif sur la croissance racinaire.

La stimulation de la croissance induite par les deux souches B1 et B2, peut être due à la synthèse de métabolites impliqués dans la promotion de la croissance. Van wess et *al.*,(2000), rapportent que la biostimulation induite par les PGPR est la conséquence de synthèse de métabolites secondaire analogues au phytohormones.

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en évidence la production d’AIA par les souches bactériennes ainsi leur capacité à solubiliser le phosphore inorganique.

L’acide indole acétique ‘AIA’, présente un intérêt potentiel pour l’amélioration des rendements agricoles par stimulation de la croissance de la plante par stimulation la germination des semences, augmentant le développement des racines et le contrôle des processus de croissance végétative (Loper et Schroth, 1986)

Glick (1995) a démontré que la synthèse des auxines par les rhizobactéries est impliquée dans l'élongation racinaire. Il a été prouvé que la souche A6RI est capable de produire de l'acide indol-3-acétique (AIA), ce qui pourrait expliquer son effet positif sur la croissance des plants.

Kumar et *al.*,(2012), ont montré que la plupart des espèces de *Pseudomonas* spp . isolées et testées ont un effets dans la promotion de la croissance des semis de sorgho. Parmi les isolats testés 69 sur 75 ont montré augmentation de la longueur des racines.

La dissolution des phosphates et synthèse de l'acide phosphorique qui est un facteur de précocité et favorise le développement racinaire (Sundara et *al.*, 2002).

Les résultats obtenues dans notre essai sont en concordance avec les travaux réalisées par :

[Ameur (2009) sur l'effet de biotisation des semences et des plants de la pomme de terre par les *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la promotion de sa croissance et sa protection ; Satrani et *al.*,(2009) sur Effet de la bactérisation des graines sur la croissance des plants de *Cedrus atlantica* Manetti ; Ajdhanhou et *al.*,(2012) sur Effets des rhizobactéries PGPR sur le rendement et les teneurs en macroéléments du maïs sur sol ferrallitique non dégradé au Sud-Bénin]

3-l'antagonisme microbien *in-vitro* :

3-1 Confrontation directe :

Les deux souches bactériennes de *P.fluorescens* testées au cours de notre travail exercent une activité d'inhibitrice appréciable. Le taux d'inhibition varie en fonction de la souche bactérienne, de milieu de culture, et même selon la méthode d'ensemencement des bactéries sur le milieu de culture. (Tableaux ci-dessus, fig.43, 44, 45, 46).

L'activité antagoniste de la souche B1 est plus élevée que la souche B2 en enregistrant un taux maximal d'inhibition de 50% vis-à-vis du F.O.A et de 52% vis-à-vis du F.O.L (fig. 41, 42).

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les souches bactériennes ont montré un effet inhibiteur plus important vis-à-vis du F.O.L par la méthode des spots par rapport à celui obtenu vis-à-vis de *Fusarium oxysporum albidinis* (méthode des traits).

A l'exception des résultats obtenus dans le cas de la méthode des traits vis-à-vis de F.O.A, nous avons constaté que l'activité inhibitrice des souches bactériennes vis-à-vis des deux isolats fongiques était meilleure sur milieu KB que sur le milieu PDA en enregistrant des taux d'inhibition allant de 30 à 52%.

Plusieurs études antérieures confirment nos résultats (Nait messouaoudene et Mahieout, 2007 ; Zarouki et kaci-moussa, 2009 ; Abedllah et Kaci, 2015).

Tableau 15 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.A) en % par la méthode des spots

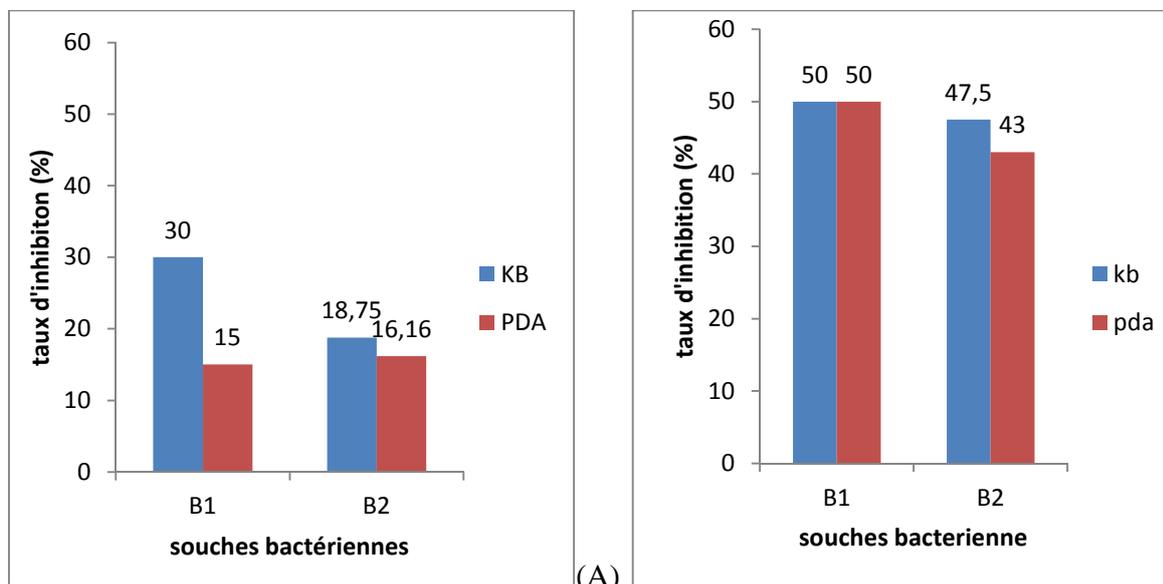
Souche bactériennes	Taux d'inhibitions % (*)	
	Milieu de culture KB	Milieu de culture PDA
B1	30	15
B2	18,75	16,16

(*) : Moyenne de deux répétitions

Tableau 16 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.A) en % par la méthode des traits

Souche bactériennes	Taux d'inhibitions % (*)	
	Milieu de culture KB	Milieu de culture PDA
B1	50	50
B2	47,5	43

(*) : Moyenne de deux répétitions



(B)

Figure 41: Taux d'inhibitions de F.O.A sur les deux milieux de culture (A la méthode des spots : B : la méthode des traits)

Tableau 17: Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.L) en % par la méthode des spots

Zone d'inhibition(*) Souche bactériennes	Taux d'inhibitions % (*)	
	Milieu de culture KB	Milieu de culture PDA
B1	52	35
B2	43	21

(*) : Moyenne de deux répétitions

Tableau 18 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat (F.O.L) par la méthode des traits

Souche bactériennes	Taux d'inhibitions %	
	Milieu de culture KB	Milieu de culture PDA
B1	41,6	34,2
B2	39,5	40

(*) : Moyenne de deux répétitions

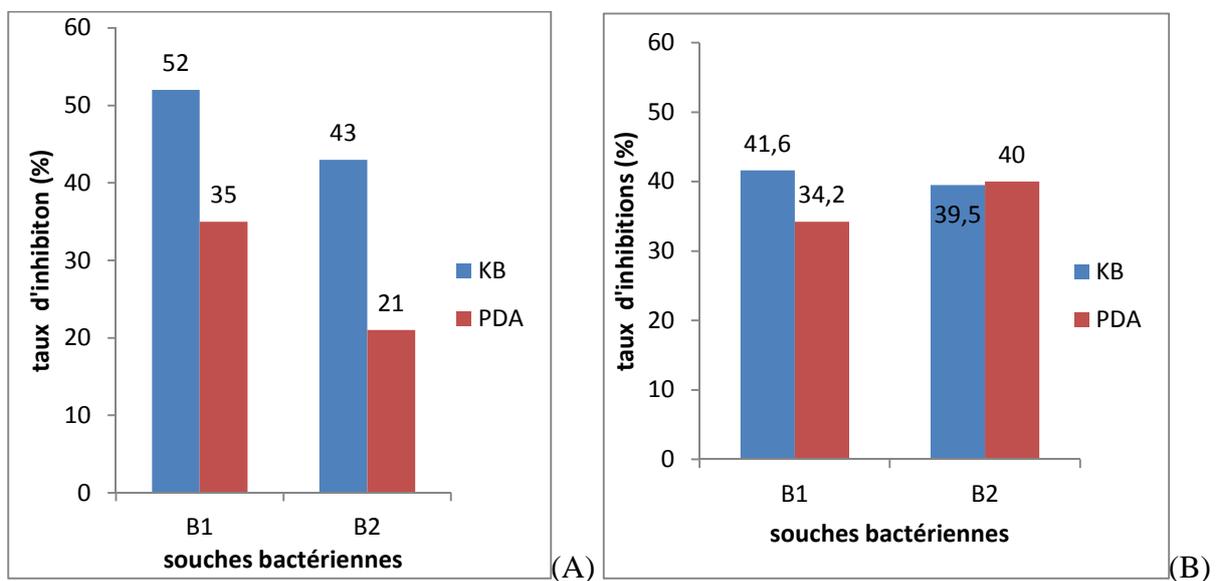


Figure 42 : Taux d'inhibitions de F.O.L sur les deux milieux de culture (A la méthode des spots : B : la méthode des traits)

Parmi les principaux mécanismes mis en cause dans l'effet de l'antagonisme des *Pseudomonas* spp. fluorescents est celui de la chélation de fer par la production de sidérophores (Digat, 1983 ; Bakker et al., 1986). Les *Pseudomonas* spp. interviennent dans l'inhibition des agents pathogènes par le phénomène de séquestration du fer du milieu par les sidérophores (Kloepper et al., 1980 ; Meyer et al., 1987 ; Loper et al., 1991) .

Dans notre expérimentation, nous avons observé des activités inhibitrices sur le milieu PDA qui ne favorisent pas la production de sidérophores ce qui confirme que ces bactéries utilisent d'autres mécanismes dans l'inhibition de la croissance des isolats fongiques.

Cette activité peut être attribuée à la synthèse d'antibiotiques et d'autre métabolites secondaires à effet d'antibiose (Lemanceau, 1988 ; Keel et *al.*, 1992 ; Van Lonn et Bakker, 2003) et à la compétition pour les nutriment et l'espace (Persollo-Cartieaux et *al.*, 2003). L'activité d'antibiose est rendue possible par la production des phenazines (pcA) le 2,4-diacétyl- phloroglucinol (DAPG) (Defago et Hass, 2005), d'acide cyanhydrique (O'Sullivan et O'Gara, 1992) .

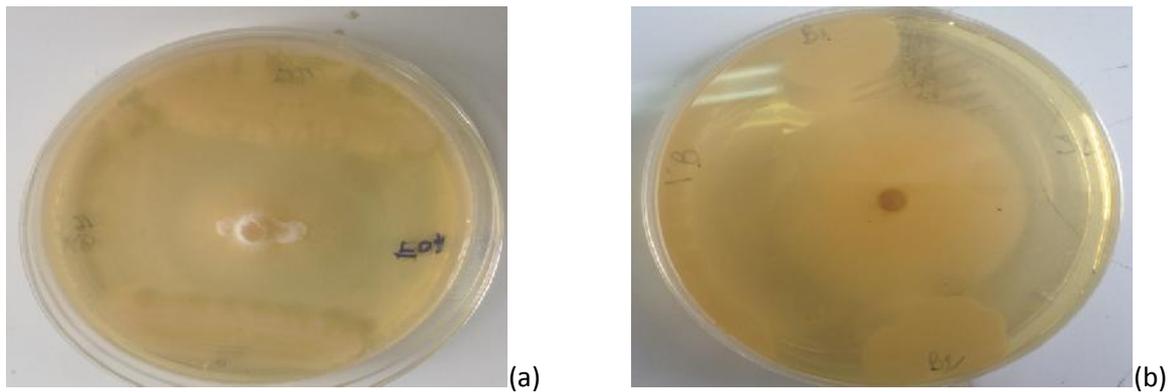


Figure 43 : Inhibition de *Fusarium oxysporum f.sp albidinis* (F.O.A) sur milieu KB: méthode des traits (a), méthode des spots (b)

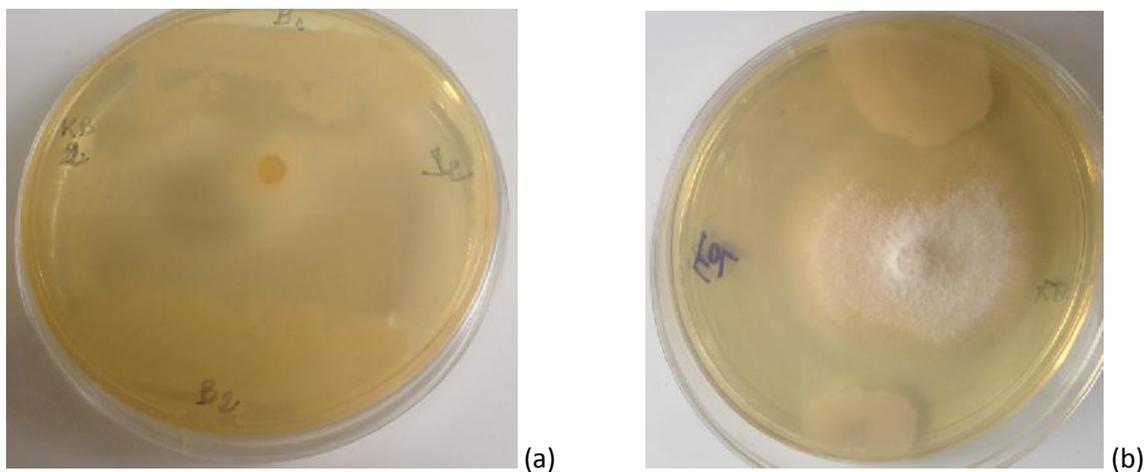


Figure 44 : Inhibition de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersisci* (F.O.L) sur milieu KB: méthode des traits (a), méthode des spots (b)

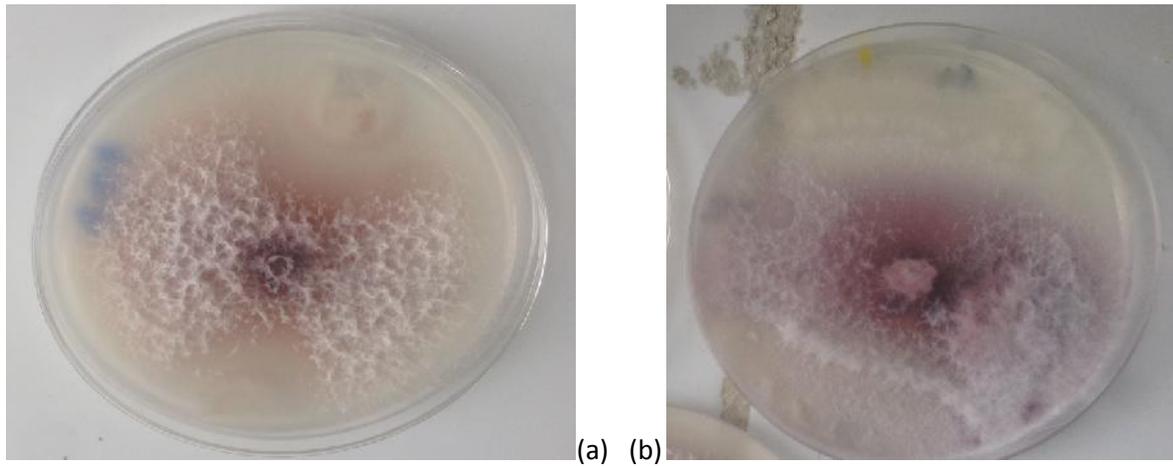


Figure 45 : Inhibition de *Fusarium oxysporum f.sp albidinis* (F.O.A) sur milieu PDA: méthode des spots (a), méthode des traits (b)

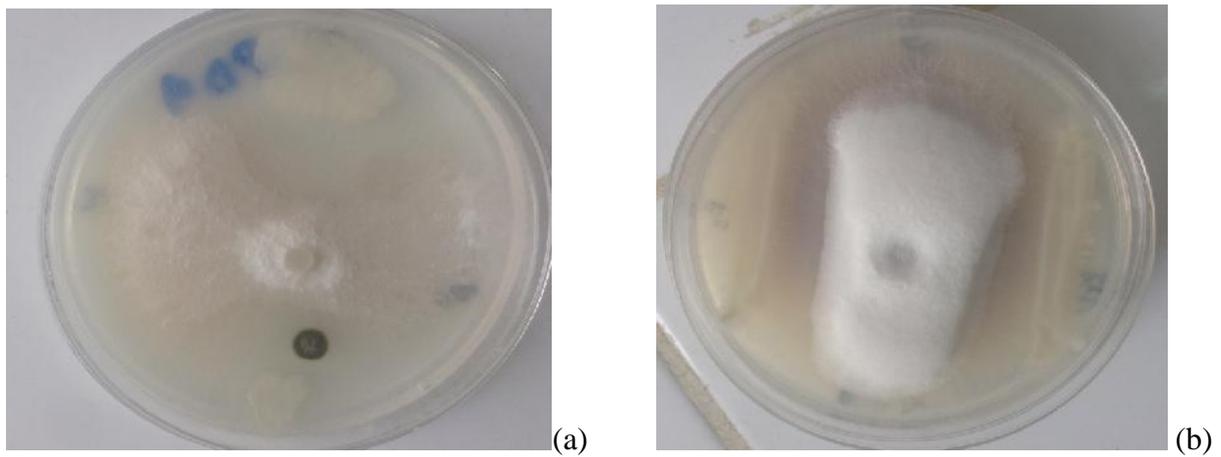


Figure 46: Inhibition de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersisci* (F.O.L) sur milieu PDA: méthode des spots (a), méthode des traits (b)

3-2-Méthodes de mise en évidence de substances antagonistes volatiles :

L'activité antagoniste par la production de substances antagonistes volatiles en l'occurrence l'acide cyanhydrique a été démontré par les souches bactériennes testés vis-à-vis des deux isolats de *F. oxysporum*.

Les composés volatiles synthétisés par les souches bactériennes sont plus efficace vis-à-vis de F.O.L que vis-à-vis de l'isolat F.O.A, avec respectivement des taux d'inhibition enregistrés de 32,5 à 38,5% et de 7,1 à 15,62% (tableaux, 19,20 ; fig. 48,49).

La souche B1 s'est montrée plus efficace que la souche B2 en enregistrant une inhibition maximale de 38,75% vis-à-vis le F.O.L (fig, 47).

Tableau 19 : Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.A) par les souches bactériennes

Souches	Taux d'inhibitions* (%)
B1	15,62
B2	7,81

(*) : Moyenne de deux répétitions

Tableau 20: Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.L) par les souches bactériennes

Souches	Taux d'inhibitions* (%)
B1	38,75
B2	32,5

(*) : Moyenne

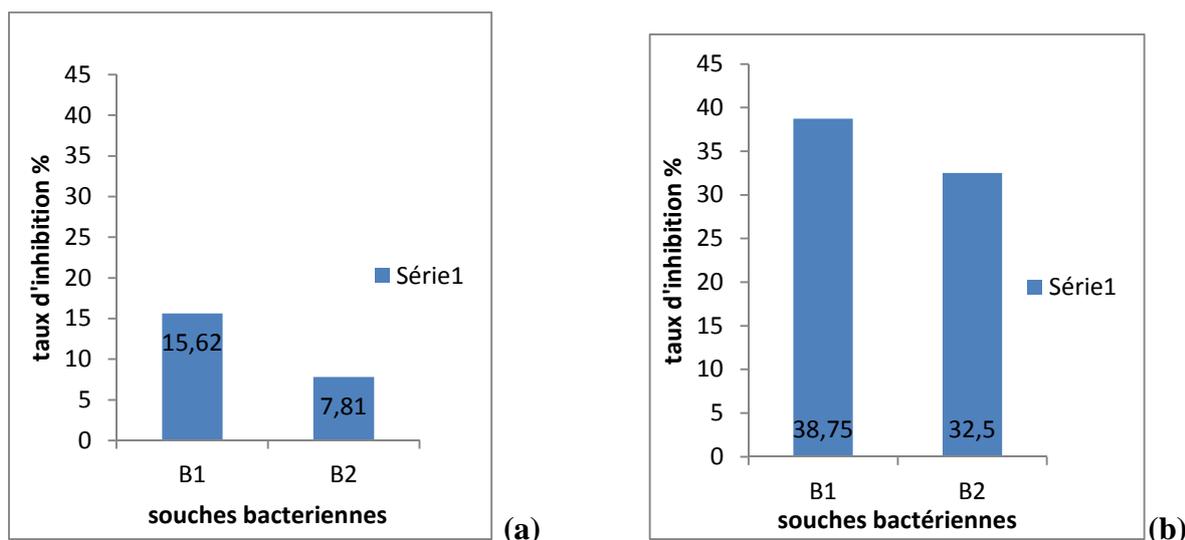


Figure 47 Taux Inhibition de la croissance mycélienne de (F.O.A) : a et (F.O.L) : b par les souches bactériennes

Les composés volatils tels que l'ammoniac et le cyanure d'hydrogène (HCN) sont produits par un grand nombre de rhizobactéries et jouent un grand rôle dans le biocontrôle en culture « *in-vitro* », la production de l'HCN peut inhiber la croissance de plusieurs agents phytopathogènes via la phase gazeuse (Blumer et *al.*, 2000) ;

Voisard et *al.*, (1989) ont montré que la capacité de suppression de la pourriture noire de tabac causé par *Thielaviopsis basicola* semble être due principalement à la production d'HCN.

En comparaison avec les résultats obtenus de l'antagoniste direct, nous pouvons dire que la capacité inhibitrice des souches bactériennes est plus importante quand celle-ci se trouvent en contact direct avec l'agent pathogène.

Nos résultats rejoignent ceux de Tripathi et Johri (2002), signalant que les composés volatils antifongiques produits par des *Pseudomonas* fluorescents ont un pouvoir antifongique moins important que leurs produits diffusible.

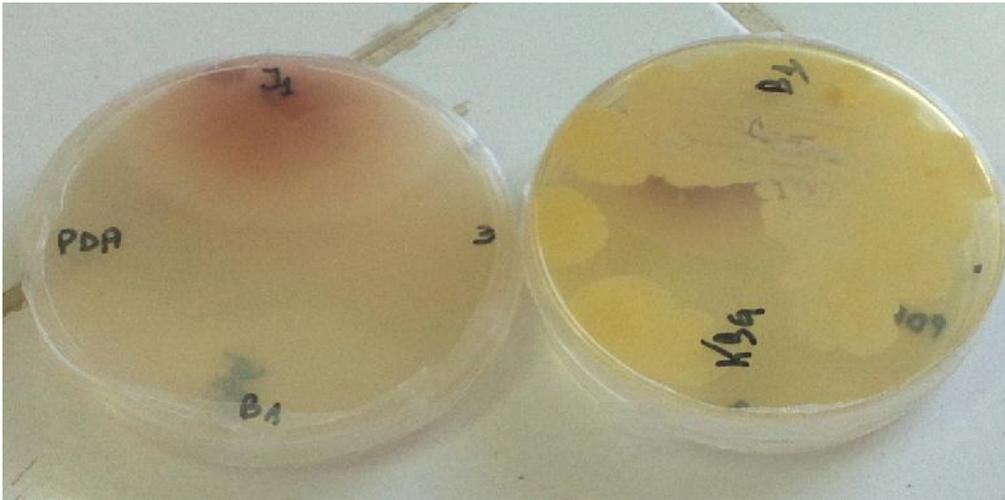


Figure 48 : Inhibitions par la méthode de confrontation indirecte de boites (F.O.A)
(Photographie, 2016)

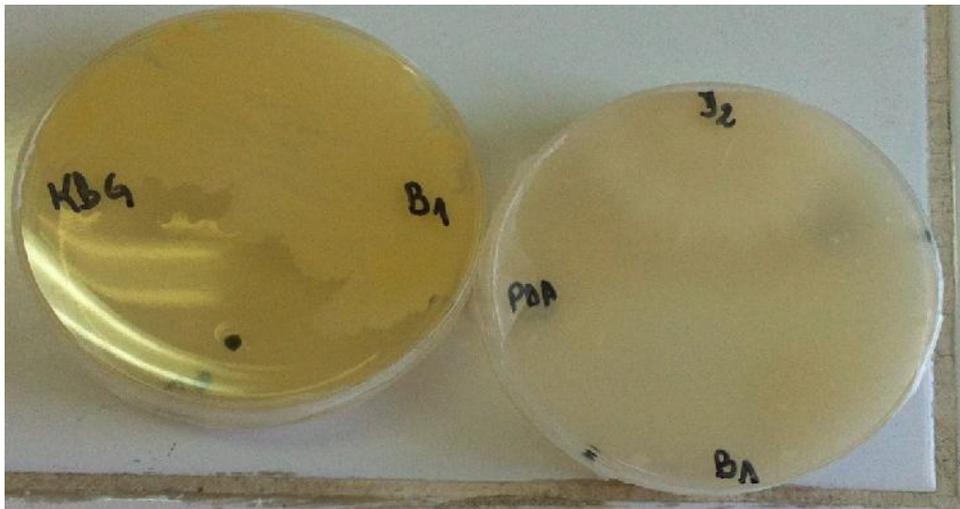


Figure 49: Inhibitions par la méthode de confrontation indirecte de boites (F.O.L)
(Photographie, 2016)

3-3-Effets des concentrations en fer sur l'activité antagoniste :

En utilisant le Fecl₃ semi liquide à différentes concentrations dans le milieu de culture, nous avons remarqué que les souches bactériennes ont montré une activité antifongique variable vis-à-vis des deux isolats fongiques (tableaux 21, 22 ; fig. 51)

L'inhibition de la croissance mycélienne la plus élevée a été observée avec les fortes concentrations en Fecl₃ ([2mg/ml]) pour la souche B1 et la souche B2 en marquant des taux d'inhibition de 40 à 41,66% vis-à-vis du F.O.A et de 51,66 à 53,33% vis-à-vis de F.O.L.

La plus faible inhibition a été observée avec la souche B2 vis-à-vis du F.O.A en enregistrant un taux très négligeable de 6%.

D'après les résultats de notre essai, on peut dire qu'il n'y a pas de corrélation entre les apports en fer dans le milieu et l'activité antagoniste liée à la production de sidérophores. La plus importante activité inhibitrice a été obtenue en présence de forte concentration en fer ([2mg/ml]) ; alors que les sidérophores ne sont produits qu'en situation de carence en fer (Lemanceau, 1992).

De ce fait (en conséquence), l'effet inhibiteur des souches bactériennes n'est pas expliqué par l'action unique des sidérophores au contraire, cette importante activité antagoniste peut traduire une intense production en sidérophores, car selon Lemanceau (1992), l'inactivation des gènes responsables de la répression de la synthèse des sidérophores a permis d'obtenir deux souches issues de la souche WC 538 dont la synthèse de pseudobactine n'est plus dépendante de la concentration en fer.

Tableau 21: Inhibition de la croissance mycélienne de F.O.A sur milieu KB addition de différentes concentrations de Fecl₃

souches	Taux d'inhibition en %(*)		
	[0mg/ml]	[1mg/ml]	[2mg/ml]
B1	31,42	30	41,66
B2	35,74	6	40

(*) : Moyenne de deux répétitions

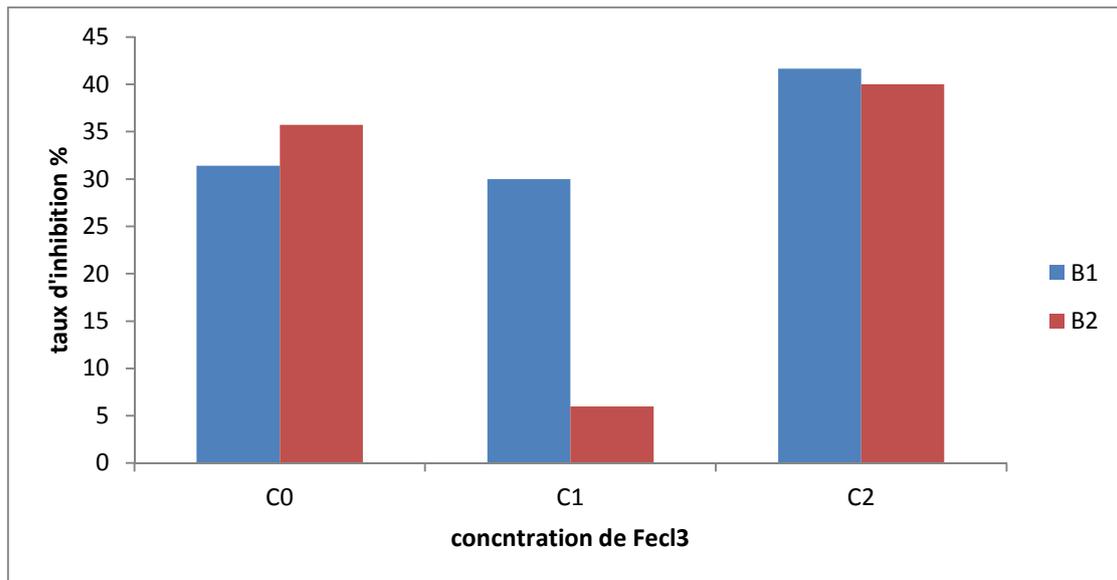


Figure 50 : Taux d'inhibition de F.O.A sur milieu KB additionné de différentes concentrations de fer

Tableau 22 : Inhibition de la croissance mycélienne de F.O.L sur milieu KB addition de différentes concentrations de FeCl3

souches	Taux d'inhibition %(*)		
	[0mg/ml]	[1mg/ml]	[2mg/ml]
B1	35	28,33	53,33
B1	42,85	25	51,66

(*) : Moyenne de deux répétitions

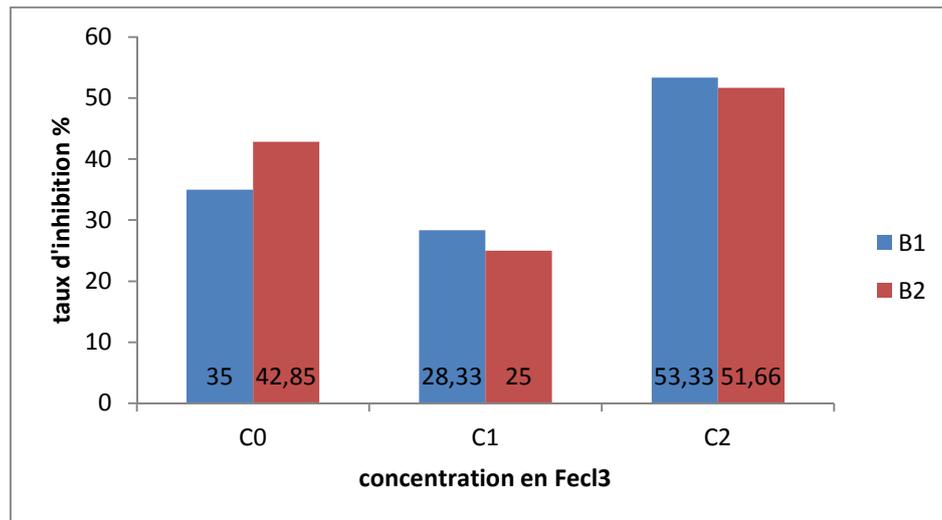


Figure 51: Taux d'inhibition de F.O.A sur milieu KB additionné de différentes concentrations de fer



(C1)



(C1)



(C2)

Figure 52 : Inhibition mycélienne de F.O.L sur milieu KB à différentes concentration de fer
(C0):0mg/ml, C1:1mg/ml, C2: 2mg/ml

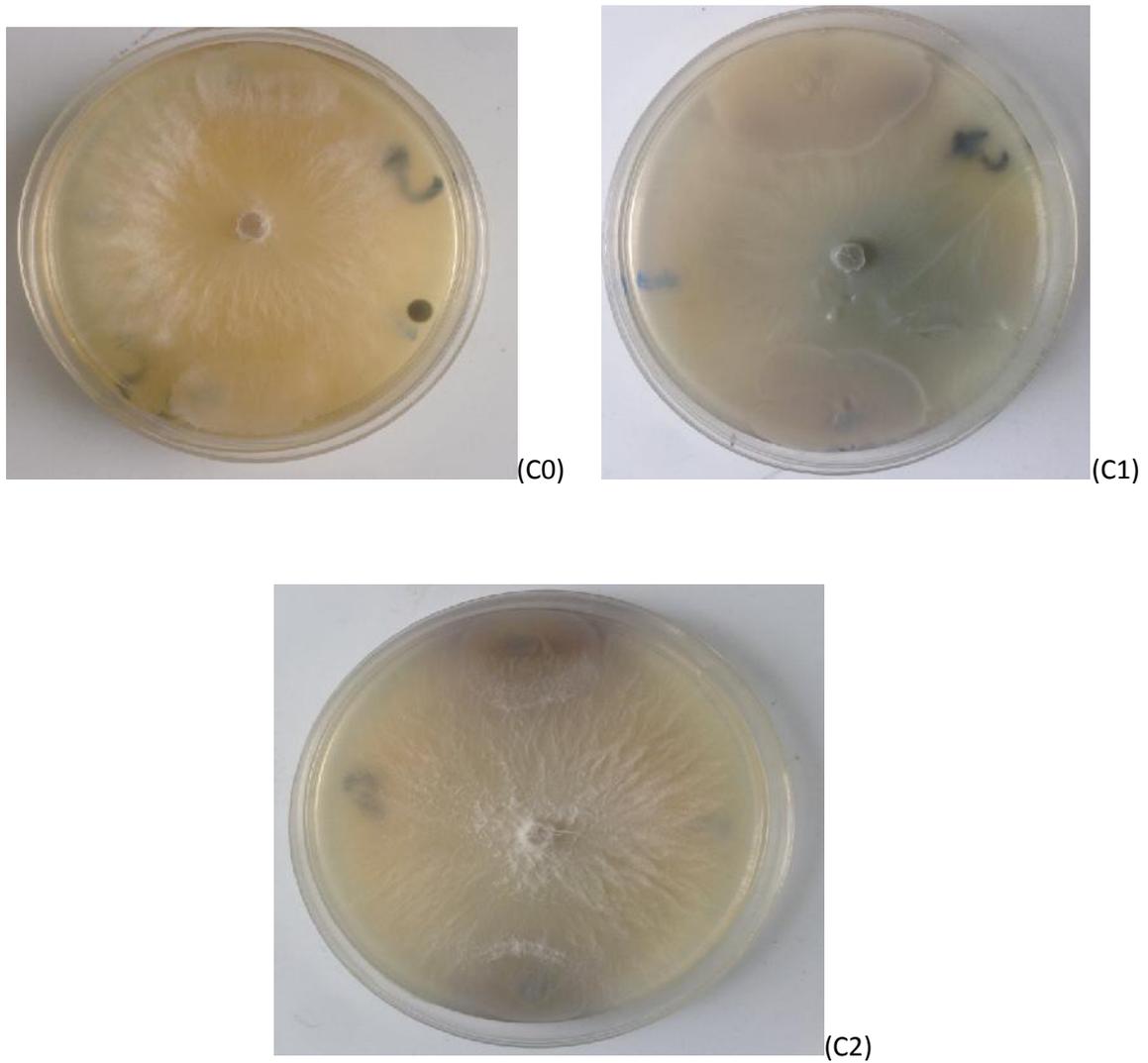


Figure 53: Inhibition mycélienne de F.O.A sur milieu KB a différentes concentration de fer
(C0):0mg/ml; (C1):1mg/ml; (C2): 2mg/ml

Conclusion

Comparativement avec les caractéristiques décrites précédemment, les deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescent étudiées ont montré une stabilité dans les caractéristiques culturales et biochimiques.

En ce qui concerne la production de l'AIA, les deux souches bactériennes ont montré une capacité à produire cette phytohormone de croissance. La souche B1 a montré un niveau de production plus élevé que les souches B2. Les meilleurs résultats ont été obtenus NB par rapport au milieu MS.

La solubilisation du phosphore inorganique a été obtenue par les deux souches bactériennes. La souche B2 est dotée d'une capacité meilleure à solubiliser le phosphore inorganique sur les milieux de culture solide par rapport à la souche B1.

L'étude de l'activité inhibitrice sur les deux milieux de culture PDA et KB, montre que les deux souches testées sont dotées d'une bonne activité antagoniste vis-à-vis les deux isolats fongiques en enregistrant des taux d'inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à 50%. Les résultats montrent que la souche B1 exerce une activité inhibitrice plus performante que la souche B2 ceci vis-à-vis des deux isolats.

D'après les résultats de notre travail les taux d'inhibition les plus élevés sont obtenus sur le milieu de culture B de King par rapport au milieu PDA, ceci signifie l'implication des sidérophores qui contribuent à l'antibiose (Maksimov et al., 2011). L'activité inhibitrice enregistrée sur le milieu PDA ne favorisant pas la production de sidérophores confirme la responsabilité d'autres métabolites, autres que les sidérophores.

A travers les résultats obtenus d'antagonisme indirecte, nous avons constaté que la souche B1 s'est montrée plus efficace que la souche B2 dans l'inhibition de la croissance mycélienne par la synthèse des produits antifongiques volatils tels que l'acide cyanhydrique.

La comparaison de nos résultats, nous a permis de conclure que la capacité inhibitrice des souches bactériennes est plus importante quand celle-ci se trouve en contact direct avec l'agent pathogène.

L'apport dans des concentrations élevées en fer ne semble pas influencer l'activité inhibitrice des souches bactériennes, on peut dire qu'il n'y a pas de corrélation entre les apports en fer dans le milieu et l'activité antagoniste liée à la production de sidérophores.

La bactérisation des graines de cèdre, *Acacia raddiana*, *Acacia nilotica* et la tomate a provoqué l'augmentation du taux de germination et de la vitesse de germination par rapport au témoin non bactérisé.

L'interaction plante bactérie semble avoir un effet très favorable sur la croissance racinaire permettant ainsi une plus grande exploitation du sol.

Vu la potentialité des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents exprimées dans la stimulation de la germination et dans l'inhibition de la croissance des isolats fusariens « in-vitro » malgré les conditions de notre expérimentation, il est souhaitable de mener des expérimentation dans des conditions plus contrôlées afin de garantir la stabilité et la reproductibilité des effets bénéfiques de ces rhizobactéries à l'échelle de pratiques agronomiques.

La compréhension des mécanismes d'action et des conditions permettant l'optimisation des effets bénéfiques de ces rhizobactéries constitue une voie indispensable pour leur exploitation dans les pratiques agronomiques comme biopesticides et/ou biofertilisants, afin de diminuer la dépendance excessive des intrants chimiques dont les effets négatifs sur la santé et l'environnement ne sont plus à démontrer. Ces rhizobactéries peuvent devenir un complément ou même une réelle alternative pour les techniques de lutte et de fertilisation chimiques.

Références bibliographiques

1. **Abdallah k., Kaci, N.** 2015. Activités antagonistes in vitro de deux souches de *Pseudomonas fluorescents* vis-à-vis des fusarioses vasculaires. Thèse de Master UMMTO. 60p
2. **Adjanohoun, A., Baba-Moussa, L., Kakai R.G., Allagbe, M., Yehouenou, B., Gotoechanhodonou, H., Sikirou, F., Sessou, P Et Dominique, C.K.,** 2011. Caractérisation des rhizobactéries potentiellement promotrices de la croissance végétative du maïs dans différents agrosystèmes du Sud-Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(2): 433-444
3. **Agrios, G.N.** 1988. *Plant pathology*. 3 rd. Ed. Academic Press. INC. England, 388p.
4. **Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S.** 2005. Inodole acetic Production by Indigenous of Azotobacter and Fluorescent in the presence and absence of Tryptophan. *Turk J.Biol.* 29 : 29-34
5. **Alabouvette, C., De La Broise, D., Lemanceau, P., Couteaudier, Y., Louvet, J.,** 1987. Utilisation De Souches Non Pathogènes De *Fusarium* Pour Lutter Contre Les Fusarioses ; Situation Actuelle Dans La Pratique. *Bulletin Org. Eur. Méditer. Prot. Plant.* 17 : 665-674.
6. **Allaire, M.** 2005. Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères des conifères en pépinière et en milieu naturel. Thèse Mag, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation .Univ.Lavel Quebec.
7. **Ali, A., Akhtar, N., Khan, B.A., Khan, M.S., Akhtar, R, UZ-Zaman, S., Nayab, K., Khalid, W., Mahmood, T., and Liaqat, A.,** 2011. *Acacia nilotica*: A plant of multipurpose medicinal uses. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(9) : 1492-1496
8. **Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich CI.** 2006. Role of auxin in regulating *Arabidopsis* flower development. *Planta* 223: 315–328.
9. **Ameur, D.** 2009. Effets de la biotisation des semences et des plants de a pomme de terre par les *Pseudomonas* spp. fluorescents sur la promotion de sa croissance et sa protection. Thèse magister. USD Blida. 149p
10. **Arif, F., Silini, Aa., Cherif-Silini, H., Ghoul, M.,** 2015. Plant growth promoting and antagonistic traits of indigenous fluorescent pseudomonas spp. Isolated from wheat rhizosphere and a. Halimus endosphere *European Scientific Journal.* vol.11, No.24 :130-148

11. **Askeland, R. A. and Morrison, S. M.**, 1983. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1802-1807.
12. **Azouaoui-Ait, K et Rahmania, F.**, 2013. Contribution à l'étude de l'activité toxique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* agent causal du bayoud. *Algerian journal of arid environment* vol. 3, n° 1: 68-81
13. **Bakker, P. A. H. M., Schippers, B. and Weisbeek, P. J.**, 1988. Siderophore production by plant growth promoting *Pseudomonas* spp. *J. Plant Nutr.* 11: 925-933
14. **Bakker, P.A.H.M., Lamers J.G., Bakker, A.W., Marugg, J.D., Weisbeek, P.J., Schippers, B.** 1986. The role of siderophore in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in short rotation of potato. *Neth. J. plant. Patho.* 92: 249-256
15. **Barazani, O. and Friedman, J.**, 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria. *J. Chem. Ecol.* 25: 2397-2406.
16. **Bargali, K and Bargali, S.S.**, 2009. *Acacia nilotica*: a multipurpose leguminous plant. *Nature and Science*, 2009;7(4) : 11-19
17. **Barylenger, A., Evrard, R., Gathy, P.**, La forêt, écologie, gestion, économie, conservation., 1999, La forêt écologie. Gestion économie conservation Ed Person liège : 144
18. **Becker, J.O., Cook, R.J.** 1988. Role of siderophore on suppression of *Pythium* species production of increased-growth response of wheat by fluorescent *Pseudomonas*. *Phytopathology.*, 78 : 778-782
19. **Benchaabane, M., Toua D., Bakour R et Boutekrabt, A.** , 2000. Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *Bulletin OEPP/OPPO. Bulletin* 30: 243-246
20. **Benchaabane, M., Boutekrabt, A., Toua, D.**, 2008. Le chancre bactérien de la tomate en Algérie. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 30(2) :337-339

21. **Benchabane, M., Toua, D., Bakour, R.,** 2013 *Les Pseudomonas spp. fluorescents phytobénéfiques Biocontrôle et phytostimulation. les rhizobacterie phytobenifique.* Ed., Paf : 672

22. **Bent, E.,** 2005. Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In multigenic and induced systemic Resistance in plants. Ed. by S. Tuzun and E. Bent : Springer, NY

23. **BERNUS, E.,** 1981 – *Touaregs nigériens. Unité culturelle et diversité régionale d'un peuple pasteur.* Paris, Mémoires Orstom, n° 94, 508 p.

24. **Blancard, d.,** 2003. Maladie de la tomate: observer, identifier, lutter. Ed quae. 212p

25. **Booth, C.,** 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237p.

26. **Blumer, C. and Haas, D.,** 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch. Microbiol.* **173**: 170-177.

27. **Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L.,** 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .**20**: 51-63.

28. **Brose j.** 2004. Larousse des arbres Ed larousse : 94-96

29. **Bulit J., Louvet J., Bouhot D., Toutain G.,** 1967. Recherches Sur Les Fusarioses. I : Travaux Sur Le Bayoud. Fusariose Du Palmier Dattier En Afrique Du Nord. *Annales Epiphyties*, 18: 213-239.

30. **Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J.,** 1999. Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63 : 1670–1680

31. **Chaux, C.L. Et Foury, C.L.,** 1994. Cultures légumières et maraichères. Tome III : légumineuses potagères, légumes fruit .Tec et Doc Lavoisier, Paris. 563p.

32. **Compant, S., Reither, B., Aessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., Ait barka, E** 2005. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. By Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain. Ps .JN;Appel. Environ. Microbiol N071: 1685-1693.

33. **Courbet, F.** 2012. Le cèdre en France face au changement climatique : bilan et recommandations. Document RMT AFORCE. 29 p.

34. **Corbineau F. Et Core A., 2006.** Dictionnaire De La Biologie Des Semences Et Des Plantules. Ed .Tec Et Doc. Lavoisier. 226p.

35. **Brenan J.P.M** 1983. Manual on taxonomy of *Acacia* species. FAO corporate document repository

36. **Crosa, J.H. et Walsh, C.T., 2010** Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 66: 223-249

37. **Dahdah, K., Rai, A., Bensidhoum, L., Schmid, M., Hartmann, A et Nabt, E., 2015.** *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 9, N°1*: 1-19

38. **Debazac, E-F .,** 1991. Manuel des conifères. : 2ème édition Broché.

39. **Djebri, M.,** 1988. Les maladies du palmier dattier, Projet régional contre le bayoud .FAO (Rab/84/018). Alger. 127p.

40. **Djerbi, M.,** 1991. Biotechnologie Du Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera L.*) : Voies De Propagation Des Clones Résistants Au Bayoud Et De Haute Qualité Dattière. Options Méditerranéenne, 14: 31-38.

41. **Digat, B.** 1983. Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes. 24eme colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux. Ed . INRA publ. Coll. INRA. 18 : 239-253

42. **Digat, B. and Gardan, L.,** 1987. Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP.* **17**: 559-568.

43. **Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and Okon, Y.** (2003). Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 22 (2) :107-149
44. **Duval, Jean.,** 1991. Les fusarioses de la tomate. *Projet pour une agriculture écologique.* AGRO-BIO 320 : 05
45. **Ellis, R.J., Timms-Wilson, T.M., Bailey., M.J.,** 2000. Identification of conserved traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity. *Environmental microbiology.* Volume 2, Issue 3 : 274–284
46. **Embergert,** 1968. Les plantes fossils dans leurs rapports avec les vegetaux vivants. Ed Masson et cie, Paris. 555p.
47. **Euzeby, J.P.,** 2008. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>
48. **FAO. 2009** .www . Agriculture mondiale horizon 2013-2030
49. **FAO. 2015** .www. L'agriculture mondiale à l'horizon 2050
50. **Fernandes, B.,** 2005. Lutte biologique. *PHM- Revue horticole,* 465 : 31-34.
51. **FERNANDEZ, D., LOURD, M., Ouinten, M., GEIGER, J-P .,** 1995. Le Bayoud Du Palmier Dattier : Une Maladie Qui Menace La Phoeniciculture. *Phytoma : La Défense Des Végétaux,* (469) : 36-40.
52. **Gardan, L., Luisetti, G.**1981. éthode d'isolement et identification des bactérie phytopathogenes. Station de Pathologie INRA. Angers, 32p.
53. **Gaussen, H., Lerroy, J-F et Ozenda, P.,** 1982. Prescrit de la botanique II. Végétaux supérieurs. Ed Masson Paris : 5-57
54. **Gaussen, H.,** 1946. Les Gymnospermes actuelles et fossiles num. Tome II - Vol. Ed Toulouse. 136 p

55. **Gilani, A-H., Shaheen, F., Zaman, M., Janbaz, K-H., Shah, B-H., Akhtar, M,S.,** 1999. Studies on antihypertensive and antispasmodic activities of methanol extract of *Acacia nilotica* pods. *Phytother. Res.*, 13: 665-669.
56. **Glick, B. R.** 1995. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109-117.
57. **Gray, E., Smith, D.L,** 2005. Intracellular and extracellular PGPR; commonalities and disinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil boils. Biochem* 37: 395-412
58. **Haas, D., Galimand, M., Gamper, M. and Zimmermann, A.,** 1990. Arginine network of *Pseudomonas aeruginosa*: Specific and global controls. In: *Pseudomonas Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology* (S Silver, AM Chakrabarty, B Iglewski, S Kaplan, eds), Am. Soc. Microbiol, Washington, DC :303-313.
59. **Haas, D. and Défago, G.** 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.
60. **Haas, D., and Keel, C.,** 2003. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41: 117–153
61. **Hofte, M; Atlier, G.,** 2010. Plant pathogenic pseudomonas species. In: Plant-associated bacteria. Part. 3, Gnanamanickam S S. Eds, Speing, Netherlands : 507-533
62. **Hol, W. H. Gera., Martijn T. Bezemer and Biere A.,2013.,** Getting theecology intointeractions between plants and the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens.*, *Frontiers in Plant science.*, 4: 296-302
63. **Jaouadi, W., Hamrouni, L., Hanana, M., Khouja, M-l.,** 2004. Analyse de La capacité Germinative De Quelques espèces d’Acacia Exotique, 247p.
64. **Jonsthon, A et Booth, C.**1983. Plant pathologist’spoket book. 2ed commonwealth. Mycological Institute, kew, Surry, England. 439p

65. **Kamilova, F., Validov, S., Azarova, T., Mulders, I. and Lugtenberg, B.,** 2005. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environ. Microbiol.* 7: 1809-1817
66. **Karabaghli, C., Sotta, B. et Gay G.** 1997. Hormones fongiques, éctomycorhizes et rhizogénèse. Rev. For. Fr. XLIX -n° sp.
67. **Keel, C., U. Schinder, M. Maurhofer, C. Voissard, J. Laville, P. Burger, P. Wirthner, Haas, D. and Défago, G.,** 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5: 4-13.
68. **Keel, C., Weller, D-M., Natsch, A., Défago, G., Cook, R-J. and Thomashow, L-S.,** 1996. Conservation of the 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthesis locus among fluorescent *Pseudomonas* strains from diverse geographic locations. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 552-563.
69. **Kim, K.Y. and McDonald, G.A.,** 1998. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Fert. Soils* 26 : 79-87
70. **King, E.D., Ward, M.K et Rnaey, D.E.** 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J.Lab.Clin. Led.* 44: 301-307
71. **Kloepper, J.W. and Schroth, M.N.,** 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. Conf. Plant Pathogen. Bacteria. Angers France, 2. Pp: 879-882.
72. **Kloepper, J.W., Leong, J., Tetntze, M., Schroth, M.N.** 1980. *Pseudomonas* siderophore: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.*, 4 : 327-330.
73. **Koley, N.,** 1976. Les cultures maraichères en Algérie .Tome I .Légumes fruits .Ed. Ministre de l'Agriculture et des Reformes Agricoles. 52p.
74. **Lahdachi, F.Z., Nassiri L, J.I et Mokhtari, F.,** 2015. aperçu sur les Acacias spontanés et introduits au Maroc. European scientific journal august vol.11, no.23.

-
75. **Larbaoui, A.**1999. Mise en évidence de la production de sidérophores, de l'acide cyanidrique et d'antibiotiques chez quelques espèces de *Pseudomonas fluorescens*. These d'ingénieur Ines d'agronomie Blida. 68p
76. **Lateur, M.**, 2002. Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 6 (2), Pp : 67–77
77. **Latour, X., Delorme, S., Mirleau, P. and Lemanceau, P.**, 2009. Identification of traits implicated in the rhizosphere competence of fluorescent pseudomonads: description of a strategy based on population and model strain studies. In: *Sustainable agriculture*. Part. 3, Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, D., Souchère, V. and Alberola, C. (Eds). Springer, Netherlands : 285-296.
78. **Latour, X. and Lemanceau, P.**, 1997. Carbon and energy metabolism of oxidase-positive saprophytic fluorescent *Pseudomonas* spp., *Agronomie*, **17**: 427–443
79. **Iavicoli, A., Boutet, E., Buchala, A., Me'traux, J.-P.**, 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular Plant– Microbe Interactions* 16: 851–858.
80. **Laville J, Blumer C, Von Schroetter C, Gaia V, Défago G, Keel C, Haas D.**1998. Characterization of the hcnABC gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0J *Bacteriol.*;180(12) :3187-96
81. **Lemanceau, P.**, 1992. Beneficial effects of rhizobacteria on plants: exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12: 413-437.
82. **Lemanceau, P., Alabouvette, C. and Couteaudier, Y.**, 1988. Recherches sur la résistance des sols aux maladies, modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer ou de glucose. *Agronomie*, **8**: 155-162.
83. **Lemanceau, P., Corberand, T., Gardan, L., Latour, X., Laguerre, G., Boeufgras, J.M. and Alabouvette, C.**, 1995. Effect of two plant species, flax (*Linum usitatissimum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads. *App. Environ. Microbiol.* 61: 1004-1012

84. **Le Floch, É et Grouzis, M.**, 2003. *Un arbre au désert* Acacia raddiana, un arbre des zones arides à usages multiples. Éd, 200 IRD 3: 21-58
85. **Leong J.**, 1986. Siderophore : their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogene. *Annu.Rev.Phytopathol* 24: 187-208
86. **Loper, J.E., Schroth, M.N.** (1986) Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology* 76 : 386–389
87. **Louvet J., Bulit J., Toutain G., Rieuf P.**, 1970. Le Bayoud, Fusariose Vasculaire Du Palmier Dattier : Symptômes Et Nature De La Maladie, Moyens De Lutte. *Al Awamia, Rabat*, 35: 161-181
88. **Lugtenberg B.J.J, Kamilova, F.D.**, 2004. Rhizosphere management: microbial manipulation for biocontrol. In: Goodman RM (ed) *Encyclopedia of plant and crop science*. Marcel Dekker, NY: 1098–1101
89. **Maksimov, IV., Abizgil'dina, R.R and Pusenkova, L.I .**, 2011. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review). *Appl Biochem Microbiol* 47 : 333-345
90. **Marchal, N., Bourdon, J.K.** 1982. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries. Doin Ed. Paris.
91. **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 root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathol.* **84**: 139–146.
92. **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-0510-01-RV.
93. **Messiaen, C.M., Cassini, R.** 1968. Recherches sur les fusarioses IV : La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiph.*, 19: 387-454.

94. **Meyer, J.M. and Abdallah, M.A., 1978.** The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* **107**: 319-328.
95. **M'Hirit O.** 1993. Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), présentation générale et état des connaissances à travers le réseau *Silva mediterranea* « le Cèdre ». *Ann Rech For* ; 27 (spécial), vol. 1 : 2-4
96. **M'hirit, O et Benzyane, M., 2006.** Le cèdre de l'Atlas: mémoire du temps Ed. Mardaga Amazon France.
97. **Moore, R. B., Maul, M., Arnscheidt, A., Bottger, E.C., Roger, A. Hutson, M.D., Collins., De Peer Y.v., De Wachter,R., And. Timmis, K. N., 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). *System. Appl. Microbiol.* 19 : 478-492
98. **Munro, B. Smal, I E., 1997.** Les Légumes Du Canada. Ed. Val. Morin, Québec, Canada. 436p.
99. **Nautiyal, C.S. (1999).** An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170, 2017-2021.
100. **Neilands, J.B., 1995.** Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Bio. Chem.* **270** : 26723–26726
101. **Nelson P.E., Toussoun T.A., Cook R.J., 1981.** *Fusarium* : Disease, Biology And Taxonomy. The Pennsylvania State University Press, 457p.
102. **Nechadi, S., Benddine, F., Moumen, A., Kheddami, M. 2002.** Etat des maladies virales de la tomate et stratégie de lutte en Algérie. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 32 : 21–24.
103. **Noumi Z., 2010** -Structures du peuplement, réponses et effets biologiques et environnementaux. 251p

-
104. **Ongena, M., Jacques, P., Delfosse, P. and Thonart, P.** 2002. Unusual traits of the pyoverdinin-mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals*. **15**(1):1-13.
105. **Ongena, M. and Thonart, P.** 2006. Resistance Induced in Plants by Non-pathogenic Microorganisms: Elicitation and Defense Responses. In *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: advances and topical issues*, edited by A. Jaime and T. d. Silva. Japan: Global Science Books
106. **OEPP/EPPO**, 1992. Fiche informative sur les organismes de quarantaine : *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, préparée par le CABI et l'OEPP pour l'UE sous contrat 90/399003, 6p
107. **OEPP/EPPO**, 2003. protocoles de diagnostic pour organismes réglementés *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 33 : 269-365
108. **O'Sullivan, D.J. And O'gara, F.**, 1992. Traits of Fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in Suppression of Plant Root Pathogens, *Microbiological Reviews*, Vol. 56, No. 4 : 662-676
109. **O'Sullivan, D. J., Morris, J. and O'Gara. F.**, 1990. Identification of an additional ferric-siderophore uptake gene clustered with receptor, biosynthesis, and fur-like regulatory genes in fluorescent *Pseudomonas* sp. strain M114. *Appl. Environ. Microbiol.* **56** : 2056-2064
110. **Oswa, K., Kuroiso, S., Goto, A., Shimizu, 2009.** Isolation of tannin degrading lactobacilli from humans and fermented foods *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (2000) : 3093–3097
111. **Palleroni, N**, 1986. *Pseudomonas* bergey's of systematic Bacteriology. Krieg, N.R. and Hot.G.(editors) Baltimore: the Williams Co : 141-199;
112. **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.
113. **Perreau-Leroy P.**, 1958. Le Palmier Dattier au Maroc. Inst. France de recherches fruitières. Outre-mer (I.F.A.C.), 142p

-
114. **Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., and Robaglia, C.,** 2003. Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ.* 26 : 189–199.
115. **Pieterse, C.M.J., Ton, J. and Van Loon, L.C.,** 2001. Cross-talk between plant defence signalling pathways: boost or burden? *Ag. Biotech. Net.* 3: ABN 068.
116. **Plassard, C., Robin, A., Le Cadre-Barthelémy, E, Marsden,C., Trap,J., et al.** Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol. *Innovations Agronomiques, INRA, 2015, 43: 115-138.*
117. **Polese, J.M.,** 2007. La culture de la tomate. Ed Artémis .95p.
118. **Ramette, A., Frapolli, M., Fischer-Le Saux, M., Gruffac, C., Meyer, J.M., Défago, G., Sutra, L. and Moëgne-Loccoz, Y.,** 2011. *Pseudomonas protegens* sp. nov., widespread plant-protecting bacteria producing the biocontrol compounds 2, 4-diacetylphloroglucinol and pyoluteorin. *Syst. Appl.Microbiol.* 34 :180–188
119. **Rather Luqman Jamee , Shahid-ul-Islam, Faqeer Mohammad,** 2015 *Acacia nilotica* (L.): A review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacology .Sustainable Chemistry and Pharmacy Volume 2 : 12–30
120. **Ratledge, C. and Dover, L.G.,** 2000. Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu.Rev. Microbiol.* 54: 881–941.
121. **Reddy, M.S, and Patrick, Z.A.** 1990. Effect of fluorescent *Pseudomonas* on growth of tobacco seedlings and suppression of Black root rot caused by *Thielacriopsis basicola*. In plant growth-promoting rhizobacteria. Progress and Prospects. C.KEEL, B.,Koller and G.Defago, (Eds),IOB/WPRS Bulletin XIV.18: 23-33
122. **Remans, R., Croonenborghs A., Torres, R., Michiels, J et Vanderleyden, j.,** 2007. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on nodulation of *polus vulgaris* L ; are dependent on plant P nutrition. *Eur. J Plant Pathl.* 110; 341-351
123. **Richardson, A.E.,** 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants *Aus. J. Plant Physiol.* 28(9): 897–906.

124. **Saadi, M.**, 1992 .Comportement au de champ de 32 cultivars de Palmier dattier vis-à-vis le bayoud : 25 ans d'observations. *Agronomie* 12 :259-270
125. **Salisbury, F.B.**, 1994. The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions*. Wilkinson, R.E. ed. Marcel Dekker, New York, USA: 39-81.
126. **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
127. **Sedra My H., El Fakhouri R., Lotfi F., Lazrek H. B.** 1995 ., Activités des toxines secrétées par *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, agent causal du bayoud du Palmier Dattier et d'autres formes spéciales du *Fusarium oxysporum*. *Al Awamia*, 98 : 57-65.
128. **Soltner, D., 2007.** Les bases de la production végétale Tome III, la plante. Ed. Collection sciences et technique agricole Paris, 304p.
129. **Spichiger, R., Savolainen, V., Figeat, M., Jeanmonod., D., Prett, M.** 2004. Botanique systématiques des plantes à fleurs. Ed 3. Presses polytechniques Universitaires Romandes Lausanne.
130. **Sundara, B., Natarajan, V., Hari, K., 2002.** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*. 77: 43-49.
131. **Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J., van der, Lelie, D.** (2009) Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 748-757
132. **Teintze, M., Hassain, M. B., Baines, C. L., Leong, J. and van der Helm, D., 1980.** Structure of ferric Pseudobactin a sidérophore from plant growth promoting Pseudomonas. *Biochem.* 20 : 6446-6457

133. **Thomashow, L.S., Bonsall, R. and Weller, D.M.**, 1997. Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ. *Manual of environmental microbiology*. ASM Press, Washington, D.C : 493–499.
134. **Toth, J.** 1978. Contribution à l'étude de la fructification et de la régénération naturelle du cèdre de l'Atlas dans le Sud de la France. Thèse de Doc. Ing., Fac. Sci. St. Jérôme Marseille, 1978 ; 136 p.
135. **Toth J.** 1980 Le cèdre dans les pays du pourtour méditerranéen et dans deux autres pays et son importance forestière. *Forests Mediterranean II* : 23-30.
136. **Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H.** 1983. Signalling in rhizobacteria-plant. IN : *Ecological studies*, Vol.170, *Molecular ecotoxicology of plants*(H. Sandermann, ed.), Springer verlag, Berlin: 177-205
137. **Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. and Pieterse, C. M. J.**, 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **36**: 453–483.
138. **Vansuyt, G., Souche, G., Straczek, A., Briat, J.F. and Jaillard, B.**, 2003. Flux of protons released by wild type and ferritin over-expressor tobacco plants: effect of phosphorus and iron nutrition. *Plant Phys. Biochem.* **41**: 27-33.
139. **Vessey, K. J.**, 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, **255**: 571–586.
140. **Voisard, C., C. Keel, D. Haas and G. Défago.** 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *Eur. Mol. Biol. Organ. J.*, 8: 351– 358.
141. Anonyme 2016 : <http://www.sahara-nature.com/plantes.php?aff=nom&plante=acacia%20tortilis%20raddiana>
142. Anonyme 2016 : https://fr.wikipedia.org/wiki/Cedrus_atlantica

Annexe 1

Milieux de culture

1-Milieu de king « KB » (King et *al.*, 1954)

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

2-Potatos Dextrose Agar PDA (Jonsthorpe et booth , 1954)

- Pomme de terre200g
 - Dextrose.....20g
 - Agar agar.....20g
 - Eau distillée q.s.q1000ml
- Ajuster à un PH= 6,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

3-Milieu Levane (Gardan et Luisetti, 1981)

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

4-Milieu Gélatine (Gardan et Luisetti, 198)

- Extrait de levure3g
 - Bactéropeptone5g
 - Gélatine120g
 - Eau distillée1000ml
- Ajuster à un PH= 7. Autoclavage à 120°C pendant 120mn

5-Milieu de Clark et lubs (Marchl et Bourdon, 1982)

- Peptone tryptique ou polypeptone..... 5à7g
 - Glucose5g
 - Phosphate bipotassique (K₂PO₄).....5g
 - Zau distillé q.s.q.....1000ml
- Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

6-Milieu Citrate de Simmons (Garden et Luisetti, 1981)

- Sulfate de magnésium (Mgso₄)0,2g
 - Ammonium dihydrogenophosphate..... 1g
 - Phosphate dipotassique1g
 - Citrate de Sodium..... 2g
 - Clorure de Sodium(Nacl)5g
 - Bleu de bromothymol..... 0,08g
 - Agar20g
 - Eau distillée q.s.q1000ml
- Ajuster à un PH= 6,6. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

7-Bouillon nitraté(BN) (Garden et Luisitti, 1981)

- Peptone10g
 - Extrait de viande..... 5g
 - Chlorure de sodium5g
- Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

7-Milieu Mannitol de mobilité (Gardan et Luisetti, 1981)

- Peptone20g
- Nitrate de Potassium1g
- Mannitol2g
- Rouge de Phénol..... 40g
- Gélose..... 4g
- Eaud distillé q.s.q1000Mml
- Ajuster à un PH= 8,1. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

8-Milieu Mevag (Marchal et bourdon, 1981)

- Tryptone3g
 - Dipotassium phosphate..... 0,3g
 - Potassium chlori5g
 - Eau distillée q.s.q1000ml
- Ajuster à un PH= 7,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

9-Milieu Mineral Salt Medium (MS) (Edi, 2006)

- Na₂HPO₄ 4.0 g
 - KH₂PO₄ 1.5 g
 - NH₄Cl 1.0 g
 - MgSO₄ . 7H₂O 0.2 g
 - Eau distillée..... 1000ml
- Ajuster à un PH= 7.

10- Milieu Nutrient Broth (NB)

- Tryptone10g
 - Extrait de viande5g
 - Chlorure de Sodium.....5g
 - Eau distillée1000ml
- Ajuster à un PH= 7,4

11-Milieu Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948)

- Glucose.....10g
- Extrait de viande.....0,5g
- Phosphate Calcium(Ca₃(PO₄)₂).....5g
- Sulphate Ammonium (NH₄)₂SO₄5g
- Potassium Chloride (KCl)..... 0.200g
- Sulphate Magnesium (MgSO₄, 7H₂O)..... 0.100g
- Sulphate Manganese (M_nSO₄)..... 0.0001g
- Sulphate Ferrous (FeSO₄)0.0001g

- Agar15 g
Ajuster à un PH= 7,4 Autoclavage à 120°C pendant 20mn.

12-Milieu National Botanical Reseach Institu's Phosphate (NBRIP) (Nautiyal, 1999)

- Glucose10g
- Phosphate Calcium($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)5g
- Sulphate Magnesium ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$)..... 0,25g
- Chlorure de magnésium ($\text{Mgcl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$)5g
- Chlorure de potassium (kcl).....0,2g
- Sulphate Ammonium ($\text{N}_{\text{H}_4}\text{S}_{\text{O}_4}$)5g
- Agar15g
- Eau distillée q.s.q1000ml

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

13-Reactif de Solawaski's

- Acide pechlorique5ml
- Fecl_3 1ml
- Eau distillée q.s.q100ml