



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Chaabna Yacine

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE: SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION: PROTECTION DES VEGETAUX ET ENVIRONNEMENT

Thème

Isolement et identification des bactéries *Pseudomonas* spp. fluorescentes de la rhizosphère de *Pistacia atlantica* et *Zizyphus lotus* dans la wilaya de Laghouat.

Jury de soutenance :

M^{elle}. Zaza massouda
M.Gaceme M.lamine
M^{elle}. Ameer Djamilia

MAA
MAA
MAA

Président
Examineur
Rapporteur

Promotion : Juin 2015



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

RESUME DE MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière: Sciences Agronomiques

Option: Protection des Végétaux et Environnement

Thème: Isolement et identification des *Pseudomonas spp. fluorescentes* a partir de la rhizosphère de *Pistacia atlantica* et *Zizyphus lotus* dans la wilaya de Laghouat.

Présenté par: chaabna yacine

Encadré par: M^{elle} Ameer Djamila

Résumé:

Au printemps 2015 , nous avons prélevé des échantillons de la rhizosphère de *Pistacia atlantica* et *Zizyphus lotus* de deux jours différentes de Laghouat et de Sidi Makhloof au niveau de la wilaya de Laghouat après l'isolement nous avons retenu 32 isolats de *Pseudomonas fluorescent*

Les caractérisations morphologiques et les tests biophysiques et biochimiques ont permis d'obtenir 10 isolats de *Pseudomonas spp. fluorescentes*. Par le test de Jaque (1994) et le test de Boissis (1995) et par utilisation des galeries API20NE nous avons pu identifier certains isolats comme de *Pseudomonas fluorescentes* au niveau de différents biovars.

Pour sélectionner des souches antagonistes de *Pseudomonas spp. fluorescentes* nous avons lancé l'essai d'antagonisme contre le champignon FOA. Dont la souche 3p a donné la meilleure activité avec un taux de 48%

Les résultats obtenus dans ce travail sont préliminaires pour préciser l'identification de ces souches propose l'utilisation des tests génétiques .

Mot-cle : *Pseudomonas fluorescentes* , biophysique , biochimiques, rhizosphère, identification.



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

RESUME DE MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences agronomiques

Option : Protection des végétaux et environnement

Topic: Isolation and identification of *Pseudomonas* spp. fluorescent from the rhizosphere of *Pistacia atlantica* and *Zizyphus lotus* in the wilaya of Laghouat.

Présenté par chaabna yacine

Encadré par: M^{elle} Ameer Djamila

Summary:

In spring 2015, we sampled the rhizosphere of two nival website deferential to the wilaya of Laghouat (Laghouat Sidi Makhloof) l`isolement apes and purification we are isolatete , 32 isolates were tied to isolas flourescent pseudomonas.

the analysis and biophysical and biochemical get tested 10 isolated from Pseodomas spp. Flourescents. By the key Jaque (1994) and the key Boissis (1995) and THE FINDINGS uses of tests we API20NE Class strain Pseudomonas spp. Flourescents in boivar .

For the tests are studying d`antagonisme of some strains of Pseudomonas spp.,Flourescent against the fungus FOA we launched the test d`antagonisme. The test gives results deferent depending on the strain.

The results obtained in this work are preliminary for confirmed the phenotypic characters we suggest to use genetic tests.

Key-word: pseudomonas flourescents, biophysical, biochemical, rhizosphere, isolation



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



جامعة عمار ثليجي – الأغواط

كلية العلوم

قسم علوم الفلاحة

ملخص مذكرة الماستر

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم الفلاحة

تخصص: حماية النباتات والبيئة

عنوان المذكرة:

عزل وتصنيف بكتيريا السودوموناس المشعة من تربة نبات السدر والبطمة.

تقديم الطالب: شعابنة ياسين

الأستاذ المؤطر : عامر جميلة

ملخص المذكرة : عزل وتصنيف سلالات من البسودوموناس المشعة من تربة نبات السدر والبطمة.

في ربيع 2015 قمنا بعملية جمع عينات من الريزوسفار من منطقتين مختلفتين علي مستوي ولاية الاغواط منطقة في الاغواط ومنطقة سيدي مخلوف بعد اجراء عملية العزل و التطهير تمكنا من عزل 32 سلالة

يعتقد انها بسودوموناس المشعة .

اجراء التحاليل والاختبارات البيوكيميائية و الفيزيولوجية علي جميع العينات المتحصل عليها تمكنا من تحديد 10 سلالات من البسودوموناس المشعة و اسنادا الي مفاتيح جاك (1994) ومفاتيح بوسيس (1995) تمكنا من تصنيف عدد من السلالات من انواع حيوية مختلفة. من اجل اختبار قدرة السلالات المعزولة من البسودوموناس قمنا بعملية الرد المعاكس باستعمال الفطر حيث افرز ان السلالة 3 احسنها بنسبة 48 % . النتائج المتحصل عليها اولية من اجل الشكل المظهري نقترح استخدام الاختبارات الجينية.

الكلمات الرئيسية : العزل , الاختبارات , البسودوموناس المشعة , الريزوسفار , البيوكيميائية والفزيائية.

Dédicaces

A ma très chère mère, source de tendresse et d'amour pour son soutien

tout le long de ma vie qui ne cesse de se sacrifier pour nous

A mon superbe père qui m'a toujours soutenu et qui a fait tout

possible pour m'aider à qui je souhaite le vaste paradis.

A tout m'amis unique :wail, Abd Almalak, mahdi et bilel.

A toute ma famille pour tous ses encouragements.

A toute la promotion 2014-2015

Je dédie ce modeste travail

Que dieu leur accorde santé et prospérité.

CHaabna Yacine .

Remerciements



Tout d'abord nous remercions Allah le tout puissant qui nous a éclairé le bon chemin.

Je tiens à remercier très vivement Mon promoteur M^{elle} Ameur.Djamila qui est un potentiel infini pour les conseils avisés et l'encouragement constant.

Mon vif remerciement s' mastère agronomie 2015.

Enfin j'adresse mes remerciements à toute personne c'étant montré coopérant de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire A M^{elle} ZAZA.M pour donner le conseil , Zohra et HASSINA .

Mes remerciements pour tous mes amis al'université de Laghouat, mes chères amis de Jijel WAÏL, ABD NOURE , MAHDI, ABD MALAK , BABA, BILAL, FOUAD, MOUSTAFA, hamza K6,yaakobe,RIAD,AÏMÈN,MOUHAMMED et BEN HLIMA

Ainsi que tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Chaabna Yacine

Sommaire

Résumé.....	I
Dédicace	IV
Remerciement.....	V
Liste des tableaux.....	X
Liste des figures.....	XI
Liste des abréviations.....	XII
Introduction.....	1

Chapitre I : Données bibliographique

Partie 1 :Le sol et la rhizosphère.....	4
I.1.La biomasse vivante dans le sol.....	4
I.2.La rhizosphère.....	4
I.2.1. Les microorganismes de la rhizosphère.....	5
I.2.2.Les bactéries de la rhizosphère.....	5
I.2.3.Les besoins nutritifs pour les bactéries.....	6
A. Limitation de fer.....	6
I.3.Interaction PGPR/plante.....	6
I.3.1.Promotion de la croissance de l'hôte.....	6
I.3.3.Renforcement de la capacité défensive de l'hôte.....	6
Partie II : Généralité sur le <i>Pseudomonas</i> spp.fluorescent.....	6
1. Genre <i>Pseudomonas</i>	6
1.1. Historique.....	6
1.2. Les caractères généraux.....	7
1.3.Les caractères métaboliques.....	8
2. <i>Pseudomonas fluorescents</i>	8
2.1. Systématique.....	9
2.2. Caractéristiques généraux.....	9

2.3. La mobilité.....	10
2.4. Voies respiratoires.....	10
A. Respiratoires sur oxygène.....	10
B. Respiratoire sur nitrate et dénitrification dissimulatrice.....	11
2.5 Caractères phénotypiques.....	11
3.Les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents agent de la stimulation.....	11
3.1.La stimulation de croissance.....	11
3.2. Stimulation de germination.....	11
3.2.Dénitrification.....	12
4.L`effet de <i>Pseudomonas fluorescents</i>	12
4.1. Effet directe	12
A. La compétition	12
B. La production des substances inhibitrices de la croissance des pathogènes.....	12
4.2. Effet indirecte.....	12
1.2 . Mode indirecte.....	12
Partie III : Généralité sur la plantes hôte.....	13
1. Pistachier	13
1.1 Définition.....	13
1.2. Taxonomie.....	13
1.3. Présentation de l`espèce.....	14
1.4. Systématique.....	15
1.5. Principaux caractères morphologiques	15
1.5.1 Les feuille.....	15
1.5.2. Les fleurs.....	15
1.5.3. Les fruits.....	15
1.5.4. Les racines.....	16
1.6. Aire répartition géographique de <i>Pistacia atlantica</i>	17

1.6.1 Répartition dans le monde.....	17
1.6.2. En Algérie.....	17
2. Zizyphus lotus (jujubier).....	17
2.1. Description botanique.....	17
2.2. Classification botanique.....	18
2.3. Répartition géographique.....	19
2.3.1. Dans le monde.....	19
2.3.2. En Algérie.....	19
2.4. Activité biologique et thérapeutique du Zizyphus lotus.....	20
2.4.1. Activités anti- inflammatoires et anagesiques.....	20
2.4.2. Activités anti- fongiques et anti- mollusques.....	20
2.4.3. Activités anti- ulcerogiques.....	20
Chapitrer II : Matériels et méthodes.....	21
1. Prélèvement d`échantillons.....	21
2. Dénombrement des bactéries	21
3. Méthode d`isolement	21
4.Méthode de purification.....	22
5.Conservation des isolats bactériens.....	22
6.Identification des isolats	26
6.1. La production du pigment fluorescent	26
6.2. Tests biochimiques et physiologiques.....	26
6.2.1. Test de Gram.....	26
A. Teste de KOH.....	26
B. Coloration de Gram.....	26
6.2.2 Test de LOPAT	28

A. Test d`oxydase.....	28
B. Test de Pectinase.....	28
C. Production de levane sucrase.....	29
7. Galerie API 20 NE.....	29
7.1. Préparation de l`inoculum	29
7.2. Inoculation de la galerie	30
8. Essai d`antagonisme <i>in vitro</i>	32
Chapitré III: Résultats et discussion.....	33
1. Les Résultats	33
1.1. Dénombrement bactériens	33
1. 2. Caractérisation morphologique des <i>Pseudomonas</i> spp. <i>fluorescents</i>	34
1.3.Test de Gram.....	34
1.3.1.Test de KOH.....	34
1.3.2. La coloration de Gram.....	35
1. 4.Test de LOPAT	35
1.4.1. Teste d`oxydase	35
1.4.2. Production de levane sucrase	35
1.4.3.Test pectinase	36
1.5.Galerie API NE 20.....	37
1.6.Teste d`antagonisme.....	43
2. Discussion.....	45
Conclusion.....	49
Références bibliographique.....	50
Annexe.....	56

Liste des Tableaux

N°	Page
Tableau 1 : La Biomasse de différentes matières vivantes dans le sol.....	4
Tableau 2 : Tableau de lecture (API20NE) (bio Mérieux).....	31
Tableau 3 : les Résultats des testes (KOH, coloration de Gram et fluorescence.....	36
Tableau 4 : Les Résultats du test de LOPAT.....	38
Tableau 5 : les Résultats de galerie API 20 NE.....	39
Tableau 6 : les Résultats d'identification de galerie API 20 NE.....	40
Tableau 7 : La Classification selon la clé dichotomique (A) propose par Jacque (1994) pour identification des <i>Pseudomonas spp. fluorescentes</i>	42
Tableau 8 : la Classification selon la clé dichotomique (B) propose par Bossis (1995) pour identification des <i>Pseudomonas spp. fluorescentes</i>	43

Liste de Figure

N°	Page
Figure 01 : La Région de rhizosphère.....	05
Figure 02: Relations phylogénétiques entre les différents groupes des protéobactéries contenant les genres bactériens actuellement ou anciennement (en gras) associés aux <i>Pseudomonas</i>	07
Figure 03 :La plante <i>Pistacia atlantica</i>	13
Figure 04 : Fruits de <i>Pistacia atlantica</i>	16
Figure 05. Différentes parties du <i>Zizyphus lotus</i> (Rsaissi et Bouchache, 2002).....	18
Figure 06 : la plante de <i>Zizyphus lotus</i>	18
Figure 07 : Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus L</i> en Algérie.....	19
Figure 08: Isolement purification des bactéries.....	23
Figure 9 :Clé A dichotomique pour l'identification des souche appartenant aux espèces <i>P.flourescens</i> et <i>p. putida</i> .selon Jaques (1994).....	24
Figure10:clé B dichotomique pour l'identification des souches appartenent aux espèces <i>p.flourescens</i> et <i>p.putida</i> ,selon Bossis (1995).....	25
Figure 11 : les protocoles pratiques de coloration de gram.....	27
Figure 12 : La méthode d'antagonisme <i>in vitro</i>	32
Figure13: Taux des <i>pseudomonas spp.flourescents</i>	33
Figure14 : Culture pure des isolats	34
Figure 15 : Les résultats de teste KOH pour les isolats a Gram négative.....	34
Figure 16 : Isolats Gram négative sous microscope optique (G10X100).....	35
Figure 17 : Résultats du teste levane.....	35
Figure 18 : Résultats du teste pictinase	37
Figure 19 : Les résultats d'une plaque API20 NE après 48h	38
Figure 20 : la Présentation de résultats d'antagonisme <i>in vitro</i>	44

Liste des abréviations

AIA: Acide indo acétique

API: Analyse prophylactic Index

bv : biovar

G⁻: Gram negative

G⁺: Gram positive

GEL: Gelatine

H: Hydrogen

H:Heure

INRA : Institue nationale de recherche agronomique

KB : King B

Kg : Kilogramme

KOH : Hydroxyde de potassium

LPGA : extrait de levure, peptone, glucose, agar

PGPR: *plant growth promoting rhizobacteria*

N₂ : Azotes

NITE 1 : Nitrate 1

NITE 2 :Nitrate2

PH : Potentielle d`hydrogène

S : seconde

T : température.

TRP : Tryptophane

UFC: unité format colonie

μM : Micro mètre

Introduction générale

Le sol ont une vocation principale de production agricole et sylvicole, assurant le développement de la végétation naturelle et un support de la biodiversité. Le sol est aussi de facteur biologique qui assure de nombreuses fonctions environnementales.

La microflore rizosphérique est naturellement constituée d'un assemblage complexe de microorganismes procaryote et eucaryote. Ces microorganismes jouent un rôle clé et influence grand nombre de processus des différents écosystèmes, d'une manière générale, le processus de minéralisation est une voie importante par laquelle les microorganismes vivant librement influencent la disponibilité des éléments nutritifs et donc la productivité, la santé et la diversité soluble et insoluble et libèrent ensuite des éléments minéraux disponibles pour les plants (Amkraz, 2013).

Les *Pseudomonas* représentent une grande fraction de la communauté microbienne partagent leur milieu avec des commensaux représentant principalement les genres *Bacillus* et actinomycose. Ils sont retrouvés sous les différents horizons, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes.

Les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* forment un groupe diversifié de bactéries qui peuvent généralement être distinguées visuellement des autres par leur aptitude à produire un pigment jaune vert soluble dans l'eau (Palleroni *et al.*, 1973) qui sont les pyoverdines produites dans des milieux pauvres en fer. Ce sont des bacilles à Gram négatifs typiques, chimiohétérotrophes mobiles avec un flagelle polaire et sont regroupés au sein d'un même groupe d'homologie RNA I (Palleroni *et al.*, 1973). Le groupe inclut des espèces importantes pour la biodégradation de divers composés (Johnsen *et al.* 1996 ; Heinaru *et al.*, 2000), la production de métabolites utiles (Palleroni ; 1992). Quelques espèces sont des agents pathogènes des animaux et végétaux (Gardan *et al.* ; 1992), par contre d'autres peuvent stimuler la croissance des plantes (Kloepper *et al.* 1980) et contrôler les maladies telluriques (Weller ; 1988).

Les *pseudomonas* sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires. Elles influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance (voie directe) et / ou en la protégeant contre les infections par des agents phytopathogènes (voies indirecte). Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Rabhi ; 2012).

Le terme PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) désignant ces bactéries a été introduit par (Kloepper et Schroth ;1978). Différents mécanismes sont à l'origine des effets PGPR des bactéries rhizosphériques.

Certaines bactéries PGPR sont utilisées en tant qu'inoculant pour améliorer le développement des racines via la production de certaines phytohormones (Bloemberg et Lugtenberg ; 2001), telles que des auxines dont l'acide indole acétique (AIA), des cytokinines et des gibbérellines (Vessey ; 2003).

Par ailleurs, de nombreuses bactéries sont capables d'améliorer la santé des plantes en limitant la croissance saprophyte des microorganismes phytopathogènes. Certaines sont utilisées en agriculture comme agents de lutte biologique (Bloemberg et Lugtenberg, 2001).

Objectifs du travail :

Notre travail consiste a :

- Dénombré le taux de *Pseudomonas* spp, fluorescentes présente dans la rhizosphère de *Pistacia atlantica* et *Jujubier* de deux régions de la wilaya de Laghouat.
- Isoler et caractériser un population bactériennes des *Pseudomans fluorescentes* a partir de la rhizosphère d`une plants hôte(*Pistacia atlantica* ,*Jujubier*).
- Identification spécifiques des *Pseudomonas fluorecentes* a partir des teste biochimiques et physiologique
- L`étude l`activité antagoniste des souches *Pseudomonas* contre des champignon phytopatogene (*Fusarium oxysporum* f.sp .*albedinis*).

Donnes bibliographique

Partie I : Le sol et la rhizosphère

I.1. La biomasse vivante dans le sol :

Le sol se situe la biosphère a l`interface de la lithosphère et de l`atmosphère. Il est le résultat de la dégradation de la matière organique provenant de la surface et de la matière minérale ayant essentiellement pour origine la roche -mère qui le supporte (Y ves, 1995).

Selon Davet, (1996) la matière vivante, visible ou non a l`œil nu, représente une quantité pas toujours facile a réaliser (tableau1)

Tableau 1 : La biomasse de différentes matières vivantes dans le sol.

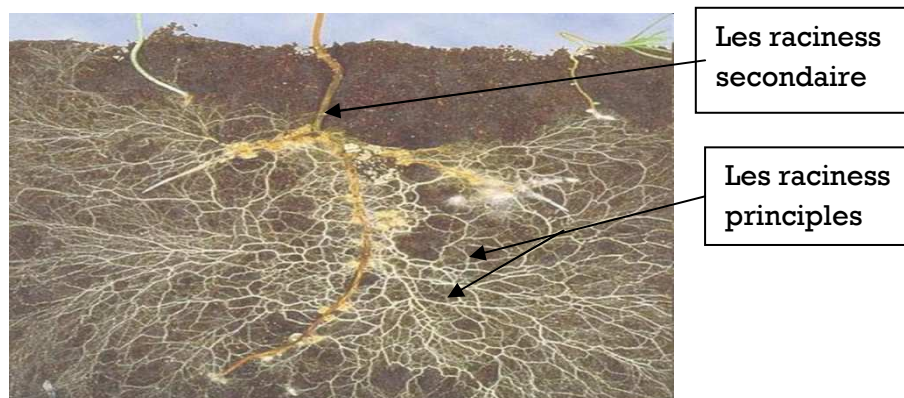
Les matières vivantes	La biomasse / hectare
Des bactéries	2,5 a 10 tonnes par hectare
Des champignons	1a 10 tonnes par hectare
Des algues	100 a 500 kg pro hectare
Des protozoaires	150 a 700kg par hectare
Des nématodes	150 a400 kg par hectare
Des acariens	Environ 3 kg par hectare
Des collemboles	Environ 2 kg par hectare
Des racines	2 a 12 tonnes par hectare (matière sèche)

Source :Davet, 1996

I.2. La rhizosphère

Selon Perrier (2004) et INRA(2009), la rhizosphère est la région du sol directement forme et influencée par les racines et les micro-organismes associés .Cette zone est réduite a une ou deux dizaines de centimètres sous des pelouses ou des prairies, mais elle est parfois beaucoup plus épaisse dans les forets des zones tempérées.

L`effet rhizosphère (Katznelson *et al* ; 1962) est un processus dynamique résultant d`interactions entre la plante hôte, le sol, les conditions climatiques, les pratiques culturales et les interactions au sein des communautés microbiennes. L`ensembles de ces processus induit des caractéristiques physico-chimique et biologiques différents du sol non rhizosphérique (Garbaye, 1991).



La source: [www. Agrireseau.qc.ca](http://www.Agrireseau.qc.ca)

Figure 01 : La région de rhizosphère.

I.2.1. Les micro-organismes de la rhizosphère

Selon(Florence ,2006) et (Faugier ,2011), la rhizosphère est considéré est comme l'un des environnements les plus complexes des biosphères et a titre un réservoir majeur de la diversité microbienne.

La richesse de la rhizosphère en sucre , aminoacide , acides organiques , iso flavonoïdes , régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plantes (Pierson et Pierson , 2000) ,rend ce microenvironnement un site d'une remarque activité biologique et d'une richesse naturelle en vers de terre , nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries .Ces êtres vivants , les microorganisme en particulier, sont requis dans le processus de la décompositions et recyclage des nutriments dans la rhizosphère de la plants (Germida *et al.*1998). Ils jouent aussi un rôle significatif dans l'état de la sante des plantes , certains sont nuisibles , d'autre sont bénéfiques et certains ne semblent avoir aucun effet.

I.2.2. Les bactéries de la rhizosphère

Dans la rhizosphère, les bactéries constituent les microorganismes le plus nombreux (leur densité est de l'ordre de $10^9/g$ et de sol) et les plus varies. Elles sont fortement stimulées par l'effet rhizosphérique que les actinomycètes, les champignons, les algues et les protozoaires (Dommergues et Manganot, 1970).

Ces bactéries ont des relations directe ou indirectes avec la plante et selon leur relation, les bactéries peuvent être saprophyte, délétères, bénéfiques pour la dont les PGPR.

I.2.3. Les besoins nutritifs pour les bactéries :

Toutes les bactéries ont d'eau, d'une source de carbone (C) d'oxygène, d'hydrogène (H) d'azote (N), de soufre (S) et de phosphore (P) qui sont les constituants des glucides, lipide, protéines et des acides nucléiques (C, O, H, N, S et P sont des macroéléments ou macronutriments); des ions (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} ...) et d'une source d'énergie (Rescott *et al*; 2000).

A. Limitation de fer

Bien qu'il soit le quatrième élément le plus abondant dans la croûte terrestre, le fer est très peu soluble en milieu aérobie et à pH physiologique et est de ce fait très peu bio disponible, la concentration de l'ions Fe^{3+} accessible dans l'organisme humain durant une infection est d'environ 10^{-8} M. Cette concentration est bien trop basse pour les micro-organismes qui exigent entre 10^{-7} et 10^{-5} M de fer pour pousser et se multiplier (Guerinot, 1994).

I.3. Interaction PGPR/plante :

I.3.1. Renforcement de la capacité défensive de l'hôte :

D'autre part, certaines souches de PGPR peuvent protéger les plantes d'une façon indirecte par la stimulation de mécanismes de défense inductibles dans la plante, ce qui peut rendre l'hôte beaucoup plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes.

Partie II : Généralité sur le *Pseudomonas* spp. fluorescents

II.1. Genre *Pseudomonas*

II.1.1. Historique

En raison de leur présence généralisée dans l'eau et des graines de plantes telles que les dicotylédones, les *Pseudomonas* ont été observés au début de l'histoire de microbiologie. Le nom générique *Pseudomonas* créé pour ces organismes a été défini en terme assez vague. En 1894 par Migula, comme un genre de bactéries à Gram négatives. En forme de tige et possédant des flagelles polaires. Peu de temps après, les *Pseudomonas* ont été isolées de nombreuses niches et un grand nombre de noms d'espèces a été initialement attribuée au genre. Selon la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1986"

II.1.2. Les caractères généraux

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe γ des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis *et al* ; 2000 ; Palleroni *et Moore*, 2004). Cependant, depuis la découverte du genre *Pseudomonas* (Migula, 1894), beaucoup de noms d'espèces lui ont été assignés. Le nombre d'espèces a subi de nombreuses variations principalement dues à la description de nouvelles espèces et à divers changements de la définition du genre (Figure2.)

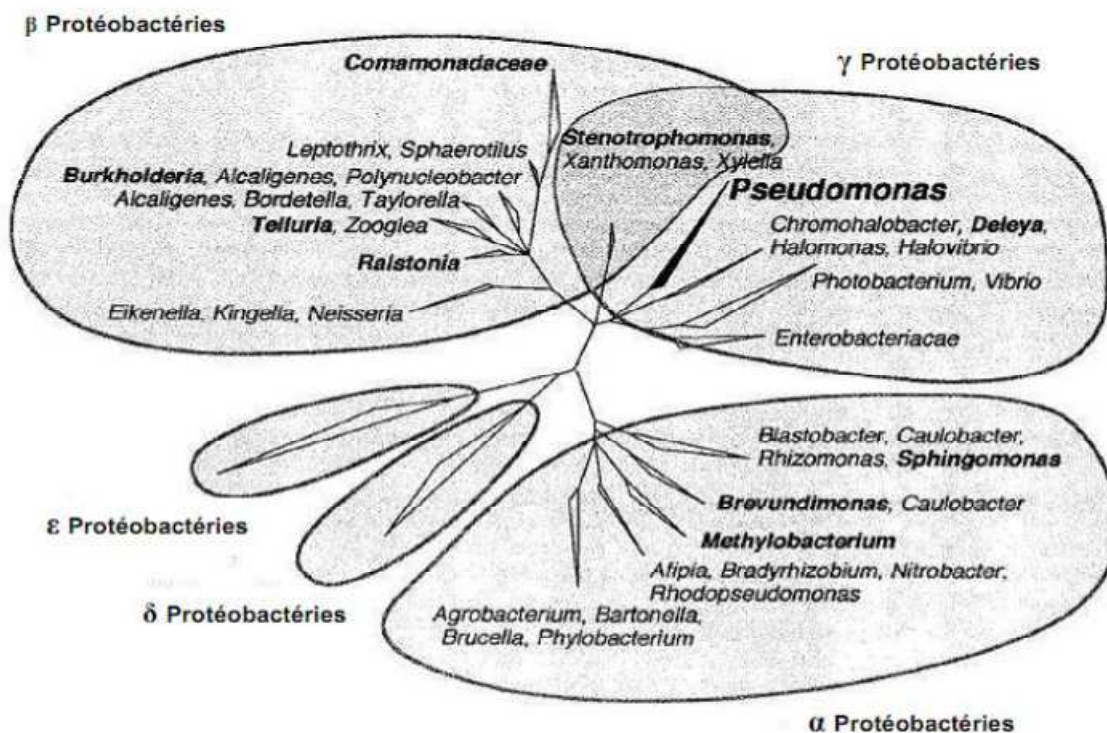


Figure 02: Relations phylogénétiques entre les différents groupes des protéobactéries contenant les genres bactériens actuellement ou anciennement (en gras) associés aux *Pseudomonas* (Bossis *et al*, 2000).

II.1.3. Les caractères métaboliques

Le genre *pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif non fermentatif, utilisant l'oxygène accepteur final d'électrons, et même quelque souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose)(Palleroni,1984).

De nombreux isolats de *P. fluorescens* et *P. utida* ont été cités en exemple comme souches capables de dégrader des molécules aromatique plus ou moins complexes.

Ces bactéries contribuent donc, de façon significative, à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques (Latour et Lemanceau, 1997). En raison de la richesse de leurs voies métaboliques, elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques ce qui explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier où elles peuvent être isolées de l'environnement humide (Euzeby, 2008).

II.2.Pseudomonas fluorescens :

Les Pseudomonas fluorescens est une bactérie à gram négatif, aérobie strict qui se présente sous forme de bâtonnet. Elle évolue à pH neutre et sa température optimale de croissance est de 25 à 30 °C (Palleroni, 1984) mais elle peut aussi se développer à une température aussi basse que 4 °C. La souche de *Pseudomonas fluorescens* ne forme pas de spores ou d'autre structure de survie et ne peut pas se développer dans des conditions acides (inférieur pH 4.5). Comme sa demande nutritionnelle est modeste, elle peut survivre et se multiplier pendant plusieurs mois dans des environnements humides. La plupart des souches sont des chimio-organotrophes strictement aérobies nécessitant à la fois de l'oxygène et du carbone organique pour leur croissance (Holt, 1994).

Ces espèces présentent en effet un intérêt potentiel pour l'environnement et l'agriculture, certaines souches améliorent la croissance et la santé des plantes, et contribuent donc à réduire l'utilisation d'intrants de synthèse en agriculture, d'autres sont capables de réduire les oxydes d'azote et de dégrader les composés xenobiotiques (Bossis et al ; 2000).

Ce groupe bactérien est nommé PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), à cause de ces propriétés prometteuses dans les actions biocontrôle et stimulation de la croissance végétales (Klopper et Schroth, 1978 ; Weller, 1978 et 1988).

II.2.1. Classification :

Le groupe de *Pseudomonas fluorescens* est composé de bactéries qui, dans des conditions de carence de fer, produisent des pigments jaune-vert fluorescente. Huit espèces différentes appartiennent à ce groupe : *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène de l'homme, *P. syringae*, *P. viridiflava*, et *P. cichorii*, espèce phytopathogène et enfin *P.*

fluorescens, *P. putida*, *P. aureofaciens* et *P. chlororaphis*, qui rassemblent des organismes saprophytes. La classification des *Pseudomonas* est la suivante :

Regne : *Bacteria*

Division: *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre: *Pseudomonadales*

Famille: *Pseudomonadaceae*

Genre: *Pseudomonas*

II.2.2. Caractéristiques généraux

Les Pseudomonas spp. fluorescents forment un groupe appartenant au genre *Pseudomonas* sensu stricto (groupe ARN isensu palleroni). Les membres de ce groupe se caractérisent par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des siderophores présentant un groupe chromophore jaune-vert, fluorescent sous rayonnement ultraviolet (Palleroni, 1984, 1992). L'étude des cytochromes respiratoires permet ainsi de distinguer d'une part *P. aeruginosa* et les espèces saprophytes, qui possèdent une cytochrome C oxydase (Stanier et al., 1966), et d'autre part la plupart et des espèces phytopathogènes dépourvues de cette enzyme (Lelliot et al., 1966 ; Sands et al., 1967). La présence ou non de cette enzyme clé est donc considérée comme un caractère taxinomique permettant de discriminer aisément les espèces fluorescentes étudiées. Généralement, les espèces oxydase-positive présentent un métabolisme plus varié que les espèces oxydase-négative qui sont toutes phytopathogènes (Misaghi et Grogan, 1969 ; Palleroni, 1984).

Les Pseudomonas spp. fluorescents stimuler la croissance et / ou d'améliorer l'état sanitaire des plantes (LEMANCEAU, 1992). De plus, la résistance naturelle de certains sols à diverses maladies d'origine tellurique (Lucas et al., 1989 ; Lemanceau et Alabouvette, 1993). L'aptitude de certains isolats à dégrader des substances Xenobiotique a également retenu l'attention de différents chercheurs.

Pseudomonas spp. fluorescents ont la possibilité de dissimiler l'azote (Gamble et al., 1977 ; Clays –Josserand et al., 1995). Cette dissimilation est plus ou moins complète selon le groupe taxinomique considéré (Matsubara et Zumft, 1982). Ces bactéries contribuent donc, de façon significative, à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques.

II.2.3. La mobilité

Selon Weger *et al.* (1987) et scher *et al.* (1988) ont remarqué que la mobilité est nécessaire à la colonisation de la rhizosphère, en observant des mutants de *P. fluorescens* WCS374 dépourvus de flagelles, qui sont devenus incapables de coloniser les racines de pommes de terre et de soja respectivement.

II.2.4. Voies respiratoires

A - Respiratoires sur oxygène

Les *Pseudomonas spp.*, sont définies comme étant des microorganismes aérobies utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons (Pallero 1984). Cette respiration sur O₂ est celle qui présente le rendement énergétique le plus important suite au potentiel redox élevé de l'oxygène. Elle est caractérisée par des cytochromes oxydases, transporteurs d'électrons terminaux qui réagissent directement avec l'oxygène. Les *Pseudomonas spp.* fluorescents saprophytes possèdent tous un cytochrome oxydase c présentant un pic d'absorption caractéristique à 552/554 nm. Cette enzyme est mise en évidence par l'oxalate de N,N-diméthyl-paraphénylène diainine (Lelliot *et al.*, 1966 Stanier *et al.*, 1966).

B. Respiration sur nitrate et dénitrification dissimulatrice

Lorsque l'oxygène n'est plus disponible en quantité suffisante, certaines espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents font appel aux oxydes d'azote. La réduction des nitrates se fait à l'intérieur de la cellule au niveau de la membrane interne grâce à la nitrate réductase. Elle est généralement inhibée en aérobiose, (Tiedje, 1988). La réduction de NO₃⁻; NO₂⁻; NO et N₂O. Est sous le contrôle de réductases plus ou moins liées à la membrane plasmique et elle s'exprime côté péri-plasmique (Knowles, 1982). La respiration sur nitrates et la dénitrification présentent un rendement énergétique plus faible que la respiration sur oxygène.

II.2.5 Caractères phénotypiques :

Comprennent les tests tels que : la forme, le type de flagelle, l'utilisation des sources de carbone tel que : les acides organiques, les polyols, les acides amides, la capacité de croissance dans des conditions de culture variables, la synthèse d'exo-enzymes et la production d'antibiotiques (Palleroni, 1984).

II.3. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents agent de la stimulation :

Certaines souches de *Pseudomonas* possèdent le gène de l'ACC desaminase (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) qui implique dans l'amélioration de la croissance de plante hôte (Lemanceau, 1998). Cette enzyme peut cliver le précurseur de l'éthylène l'ACC et donc ainsi réduire le taux d'éthylène dans la plante. L'éthylène est une phytohormone qui inhibe la croissance racinaire.

II.3.1. La stimulation de croissance

Des nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plants et du rendement des cultures après bactérisation. Ces études ont été réalisées avec des plantes hôtes et des conditions expérimentales variées. Il apparaît clairement que l'augmentation de rendement, observé en conditions normales de production, est toujours inférieure à l'augmentation de croissance des plants cultivées en conditions contrôlées. (Lemanceau, 1998).

II.3.2. Stimulation de germination

Certaines souches bactériennes, appartenant au groupe de *pseudomonas* spp. fluorescents, semblent améliorer la germination des grains lorsque les conditions d'environnement sont défavorables. On montre que le taux de germination de graines de colza, semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation par certaines souches bactériennes. (Digat et Gardan, 1987).

II.3.3. Dénitrification

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. La dénitrification est composée de quatre réactions par lesquelles les nitrates sont réduits en diazote (N_2). Par des metallo-enzymes comme la nitrate réductase, la nitrite réductase, l'oxyde nitrique réductase, et l'oxyde nitreux réductase (Lemanceau, 1998).

II.4.L'effet de *Pseudomonas fluorescents* :

II.4.1.Effet directe :

A. La compétition :

Le premier type d'interaction mis en jeu entre les micro-organismes est le phénomène de compétition aussi bien pour les espèces que les éléments nutritifs. La compétition trophique exercée essentiellement pour les exsudats racinaires et pour le fer. En effet, ce dernier élément bien qu'abondant dans le sol, s'y trouve essentiellement sous forme oxydée (Fe^{3+}) non assimilable par les micro-organismes telluriques (Kloeppel *et al.*, 1990).

B. La production des substances inhibitrices de la croissance des pathogènes

Les *Pseudomonas fluorescents* produisent un grand nombre de métabolites secondaires qui jouent un rôle dans l'effet antagonisme.

La production d'acide cyanhydrique (HCN) est nécessaire à la protection de la plante vis-à-vis de l'agent de la pourriture noire du tabac. Les souches *Pseudomonas fluorescents* produisent des antibiotiques et jouent un rôle important dans l'inhibition d'agents phytopathogènes tels que le 2,4-diacetylphloroglucinol.

II.4.2.Effet indirecte :

Il existe des interactions entre les *Pseudomonas* et les cellules racinaires, qui permettent d'augmenter la résistance de celles-ci à l'infection par des micro-organismes. La réduction du manganèse par les *Pseudomonas fluorescents* pourrait jouer un rôle. Cette réduction augmenterait la quantité de manganèse disponible pour la plante (Digat *et al.*; 1990).

Ce mode d'action des PGPR antagonistes est expliqué par l'induction de la résistance naturelle des plantes contre les maladies. Cette induction peut se faire par différents mécanismes :

A- L'inoculation par les bactéries antagonistes peut induire des modifications morphologiques chez la plante la rendant ainsi moins sensible à l'attaque de pathogène.

B- L'inoculation par les antagonismes peut induire la synthèse de molécules dans les tissus interne des plantes ce qui leur confère une certaine immunité contre les agents pathogènes (Rezzonico *et al* .2005).

Partie III: Généralité su la plante hôte

1 -Pistachier .

1.1- Définition :

La pistachier est originaire d'Asie Centrale .Présent en Turquie depuis 7000 ans avant J.C.Il a été introduit en Italie des le premier siècle avant J .C .Et par la suit , sa culture s'est et étendue aux autres pays méditerranéens et aux USA en 1854 (Moghtader, 2010).



(Source : original, 2015)

Figure 03 : la plante pistacia atlantica

1.2- Taxonomie

La classification admise actuellement est rapportee par JUDD *et al* . (2002),LIEUTAGHI (2004) et Yaagobi et al .(2009) in Benabdallah F Z ,(2012).

Règne : Plantae

Class : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : Pistacia

Une étude monographique du pistachier a été réalisée par Zohary(1954), Khelil et Kellal (1980) montrant que le genre *pistacia* comprend 11 espèces à savoir :

Pistacia atlantica Desf. Ou pistachier de l'Atlas.

Pistacia lentiscus L. Ou lentisque : fruit aigrelets comestibles.

Pistacia terebinthus L. ou therebinthe : fruit aigrelets comestibles.

Pistacia afghanistania *P.chinensis*, *P.mexicana*.

Pistacia vera ou pistachier cultivé.

Le pistachier de l'Atlas peut être classé en 4 sous-espèces, à savoir *mutica*, *calibula*, *qui* se trouve au Pakistan, Afghanistan et au sud de l'Iran, *kurdica* qui se répartit dans la région de Zagros (ouest de l'Iran), au sud de la Turquie, en Syrie et en Palestine et enfin *atlantica native* du Maghreb (Belhadj *et al*, 2008 et Yaagobi *et al* ; 2009). Ces sous-espèces présentent la même formule chromosomique de $2n=28$ (Ghaffari *et al* ; 2003).

1.3- Présentation de l'espèce :

Pistacia atlantica est une espèce arborée, appelée **Elbetoum**, **Botma**, **Betouma**, **Btouma** ou **Boutmaia** en arabe local : **lebtem**, **lebtom**, **betum** ou **btomau** Maroc (Bellakhdar, 1997) et **Iggh**, **Eger**, **Iguer**, **Egeghou** **Tisemlal** en berbère local (Blanguernon, 1955 ; Quezel et Médial (2003), **iggou** **ijjen** berbère au Maroc Bellakhdar, (1997).

D'après Quezel et Médail, (2003) cette espèce est commune à la région méditerranéenne et à la région irano-touranienne par contre Monjauze (1980) et Ozenda (1983), la décrivent comme endémique de l'Afrique du Nord. L'arbre ressemble au frêne, il peut supporter des vents violents et des sols très pauvres et de longues périodes de sécheresse. À l'état adulte, la silhouette du *Batoum* est impressionnante, il présente un port massif et un feuillage dense (Monjauze, 1980). *Pistacia atlantica* varie beaucoup phénotypiquement selon l'aridité des sites (Danine, 1983). Ce bel arbre est caractérisé par une très longue longévité (Zohry, 1987). Selon (Monjauze 1968), les individus de 2.5m de circonférence ont un âge voisin de 200 ans et les plus vieux pieds connus atteignent environ 300 ans. Durant nos prospections, nous avons pu observer des individus aux dimensions imposantes (circonférence >5m et 15m) dans la région de Tilemt, Messaad et Ain Oussara, dont on peut penser qu'ils atteignent des âges bien supérieurs à 300 ans Belhadj. (2001 ; 2002).

1.4- Systématique

La classification acquise actuellement est rapportée par (Bouderbala .2012) :(voir la classification précédente).

1.5- Principaux caractères morphologiques

Le pistachier de l'atlas est une espèce dioïque, ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 à 20 mètres de haut, à tronc bien individualisé et à frondaison hémisphérique.

1.5.1 Les feuilles

Les feuilles sont composées, alternées, pennées, les folioles sont en nombre impair et ovales lancéolées, glabres et avec un rachis finement ailé (Iagha, 1993 et Baba Aïssa, 2011). Elles sont caduques (Alyafi, 1979, Seignue, 1985 et Belhadj, 2001) en période où les températures sont basses.

1.5.2 Les fleurs

Les fleurs sont apicales, de couleur brunâtre, arrangées en panicule, avec un court pédicelle, les fleurs mâles terminales tandis que les femelles sont groupées en grappes axillaires (Monjouze, 1890 et Belhadj, 2007).

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont sur des pieds différents (Qzenda, 1983). La pollinisation est cependant anémophile (Alyafi, 1979).

1.5.3. Les fruits

Le fruit selon Ozenda, 1977 et Alyafi, 1979 est une drupe monosperme mesurant 6 à 8 mm de long et 5 à 6 mm de largeur, de couleur rougeâtre. Il atteint sa maturité à partir du mois de septembre.



(Source : original, 2015)

Figure 04 : Les fruits de *pistacia atlantica*

1.5.4-Les racines

Le pistachier de l'atlas est une espèce xérophile, dont les racines peuvent aller jusqu'à 5 à 6 m de profondeur. Le système racinaire présente un pivot important (Belhart et Ettekke, 2004).

L'étude des adaptations de son système racinaire en réponse aux variations texturales de son sol sous-jacent au niveau des individus de la population d'El-Guerssa (réserve nationale d'El Mergueb) a permis de déduire que le jeune pistachier émet un pivot séminal orthogéotrope d'où émanent beaucoup de ramifications secondaires. Avec l'âge, ce pivot disparaît et laisse les racines secondaires s'organiser selon la texture du sol. Si celui-ci est sableux, donc potentiellement moins humide et moins compact, quelques racines s'enfoncent vers des profondeurs plus humides et d'autres, se ramifient en surface pour exploiter les opportunités hydrominérales. S'il est limoneux, donc potentiellement plus humide et plus compact, ces racines tendent à développer un réseau horizontal peu profond. Avec l'âge, chez les plus vieux adultes, même en sol limoneux peuvent s'enfoncer des racines puissantes vers les profondeurs à la recherche d'humidité et d'ancrage (Belhart et Ettekke, 2004).

1.6- Aire de répartition géographique de *Pistacia atlantica* Desf.

1.6.1 Répartition dans le monde

P. atlantica, espèce héliophile rencontre du bassin méditerranéen jusqu'à l'Afghanistan et le Pakistan (Jafri et el-gadi, 1978 ; Alyafi, 1979 ; Zohary, 1996) in Boudebala (2012).

Largement répartie au sud de la Méditerranée et au Moyen-Orient, *Pistacia atlantica* est présente dans la partie sud de la Grèce, la partie ouest et sud de la Turquie. Il est signalé

également en Palestine, Jordanie .Syrie, Tunisie, Lybie Et Egypt. (Alyafi, 1979) in BouderbalaR(2012).

Le pistachier de l'atlas est associé dans le proche orient à *Quercus ithabuensis*, en Afrique du nord à *Zizyphus lotus* (Seigue, 1985). C'est une essence ubiquiste du nord de l'Afrique (Monjauze, 1980), *Pistacia atlantica* est répandue depuis les îles canariennes à l'ouest jusqu'aux Palmyres vers l'est, il se trouve au Maroc en compagnie de l'arganier ; de même en Algérie, il peut accompagner le Thyade Barbarie

1.6.2 En Algérie

L'aire de *Pistacia atlantica* Desf. Au Maghreb et plus particulièrement en Algérie a été décrite par Monjauze(1968), en montrant que la densité de *Pistacia* augmente du nord au versant sud de l'atlas tellien, s'étend de Mitidja aux régions arides (Dayas) où, on le rencontre à l'état de pieds isolés formant des peuplements clairs, particulièrement dans la région des dayas entre Djelfa et Tilremt en passant par Laghouat (Monjauze, 1968).

IV.2.- *Zizyphus lotus*(jujubier)

2.1- Description botanique du *Zizyphus lotus*

Le *Zizyphus lotus* (**jujubier**) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnaceae (Rsaissi et Bouchache, 2002). Communément appelé en Afrique du Nord

"Sedra" (Borgi *et al* ;2007(a)). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres pouvant atteindre 2m de haut.

Ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épine inégale et vulnérable. Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuses. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg"**(Figure05)** (Rsaissi et Bouchache, 2002).



Figure 05. Les différentes parties du *Zizyphus lotus* (Rsaissi et Bouchache, 2002).

2.2- Classification botanique

Embranchement : *Spermatophytes*.

Sous embranchement : *Angiospermes*.

Sous classe : *Dicotylédone*.

Ordre : *Celastrales*

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus lotus* L. (Quezel et Santa, 1962).



(Source : original, 2015).

Figure 06 : la plante de *Zizyphus lotus*.

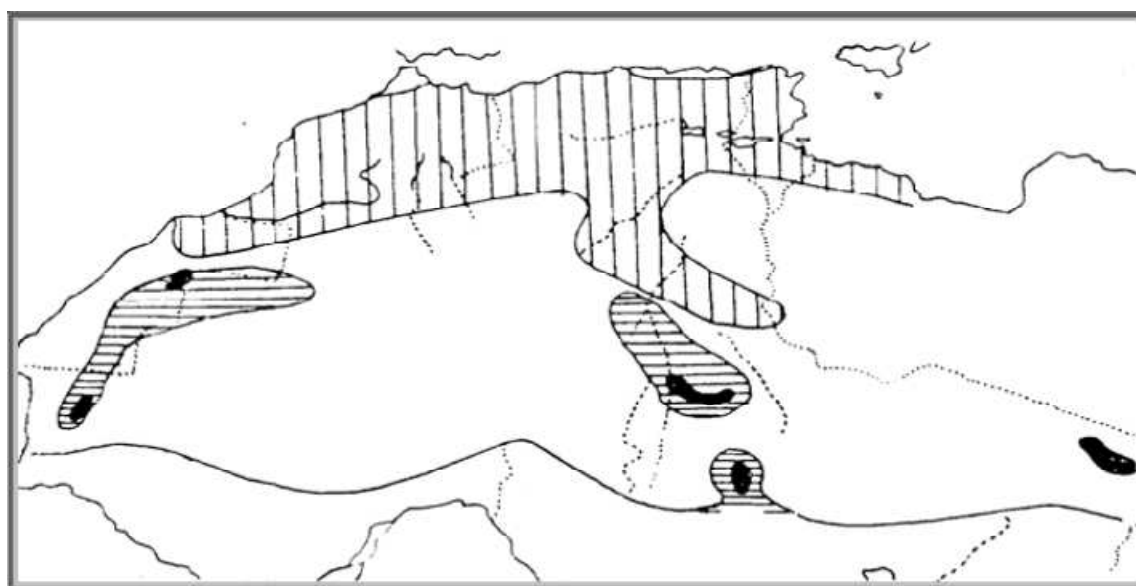
2.3- Répartition géographique

2.3.1 Dans le monde

Le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud d'Espagne, et du Portugal, en Sicile, en Grèce (Bross, 2000). On le rencontre aussi dans les steppes Désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann, 1960).

2.3.2 En Algérie

Le *Zizyphus lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962).



 Aire de *Zizyphus lotus* L.

Figure 07 : Aire de répartition du *Zizyphus lotus* L en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

2.4- Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus lotus*

Les différentes espèces du *Zizyphus* sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies comme : les troubles digestives, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Abu-Zarga *et al* ;1995, Abdel-Zaher *et al* ; 2005 ; Suksamrarn *et al* ; 2005). Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Parmi ces effets on souligne les plus importants :

2.4.1 Activités anti-inflammatoires et analgésiques

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une Activité anti-inflammatoire significative (Borgi et Chouchane, 2006).

Le *Zizyphus lotus* inhibe la production de monoxyde d'azote (NO), cette activité apparaît

Potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source possible De l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par oxazolone (Borgi et al ; 2008).

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines (Borgi et al ; 2007 (a). Borgi et al ; 2008).

Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses (Borgi et al ; 2007(a).

2.4.2 Activités anti-fongiques et anti-mollusques

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanolique) de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs *in vitro* vis-à-vis de neufs souches des champignons pathogènes et des mollusques *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et al ; 2002).

2.4.3 Activités anti-ulcérogéniques

Le *Zizyphus lotus* (les feuilles, l'écorce des racines) possède une importante activité anti-ulcérogéniques attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effets gastroprotecteur (Borgi et al ;2007(b)).

Matériel et méthodes

1. Prélèvement des échantillons

Les isollements bactériens de ce travail ont été effectués en printemps 2015 à partir de la partie sol rhizosphérique des Pistachier (*Pistacia atlantica*) et de *Zizyphus lotus* (*Jujubier*) prélevés à partir de deux sites différents (Daya de Laghouat et Daya de Sidi Makhloof) dans la wilaya de Laghouat.

Après l'élimination de quelques centimètres de la surface de sol, nous avons prélevé une profondeur de 15 à 20 cm des échantillons de sol rhizosphérique de différentes plantes, puis nous avons formé des échantillons de 400g.

Les échantillons prélevés ont été mis dans des sacs en plastique stérile portant la date, le nom de région et un code pour chacun d'échantillons. Puis ont été transportés au laboratoire pour subir l'analyse.

2. Méthode d'isolement

L'isolement des bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* rhizosphérique a été effectué par la méthode des suspensions-dilutions (Klement *et al*; 1990). Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillé stérile, nous avons ajouté une quantité représentative 1g de sol de chaque échantillon pour préparer la solution mère.

Après l'agitation par le vortex, nous avons prélevé un(1) ml de solution mère pour chaque échantillon et mis dans des tubes contenant 9ml d'eau distillé stérile. Les opérations d'isolement ont été effectuées avec les dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-5} .

Nous avons étalé à l'aide de pipette de Pasteur 0,1 ml de chaque dilution sur deux milieux de culture, un milieu sélectif King B (King *et al*; 1954) et un milieu général LPGA (Smidi, 1982). En réalisant deux répétitions pour chaque dilution.

L'ensemble des boîtes a été incubé à une température de 28 ± 2 °C pendant 24h à 48h.

3. Dénombrement des bactéries

Pour estimer le nombre des bactéries viables sur les deux milieux en Unité Formant Colonie (UFC), nous avons effectué le comptage des colonies bactériennes à l'aide de l'appareil compteur des colonies après 24h et 48h d'incubation (Klement *et al*; 1990). Seules les boîtes ayant 30 à 300 colonies sont retenues. Pour le calcul nous avons utilisé la formule suivante

$$\text{UFC} = \mathbf{N \times 10^n \times 10} \text{ (cellule.ml}^{-1}\text{)}$$

N : La moyenne entre le nombre de colonies dans les boites de la même dilution

n : le nombre de dilution.

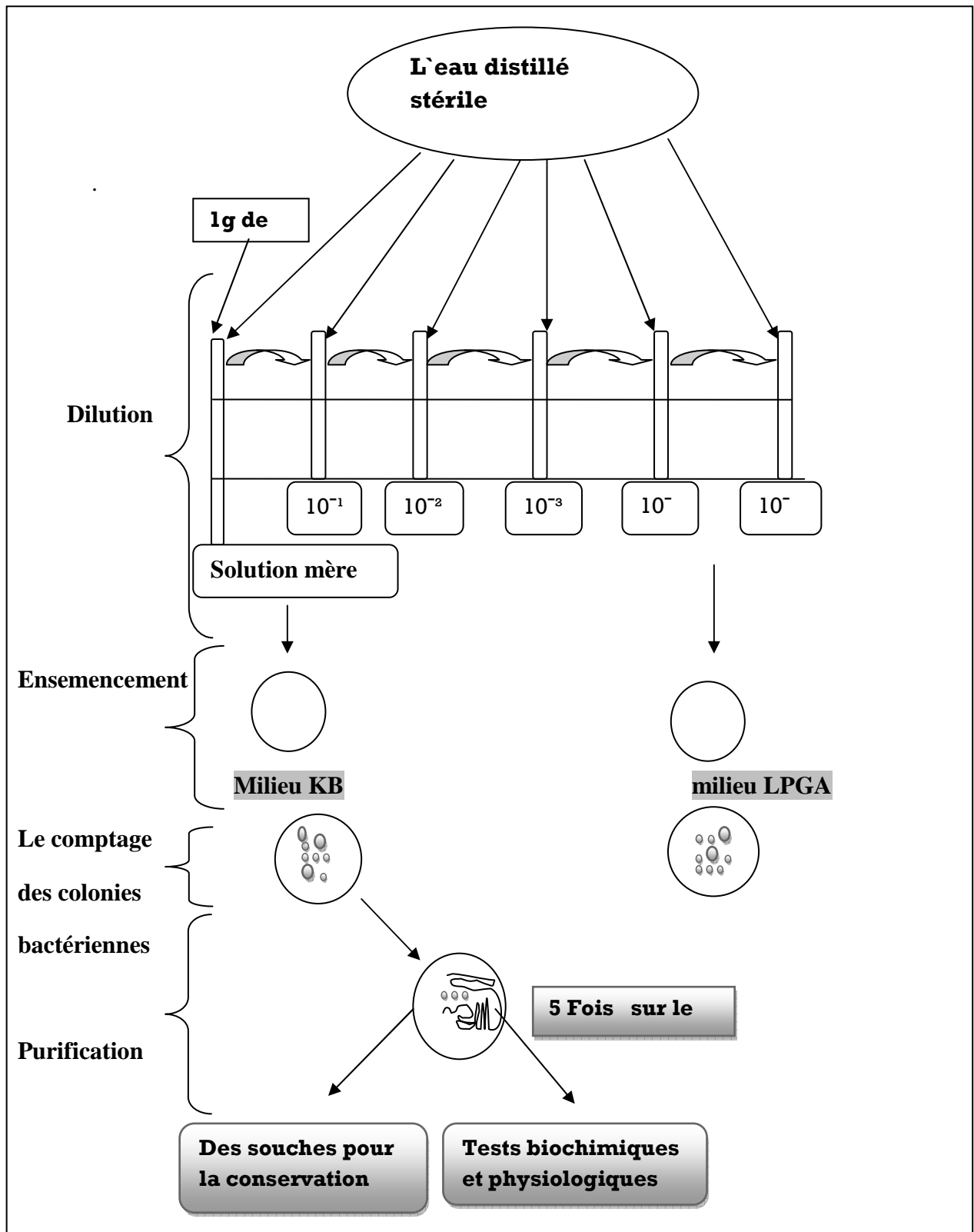
4. Méthode de purification

Après 48h d'incubation en se basant pour le choix des colonies bactériennes sur les différents critères macro-morphologiques reconnus des *Pseudomonas* spp. fluorescentes, en plus de ces critères nous avons recherché des colonies fluorescentes sur le milieu KB.

Pour la purification des colonies, nous avons effectuée des opérations de repiquages successives (05 fois) jusqu'à obtention des cultures bactériennes pures.

5. Conservation des isolats bactériens

Après l'obtention des isolats bactériens pure et pour la conservation de ces isolats nous les avons repiqués dans des tubes contenant le milieu KB additionné de glycérol et nous les avons mis au réfrigérateur à 4 ± 2 °C pour les utiliser ultérieurement.



(source : originale, 2015).

Figure 08: Isolement et purification des bactéries.

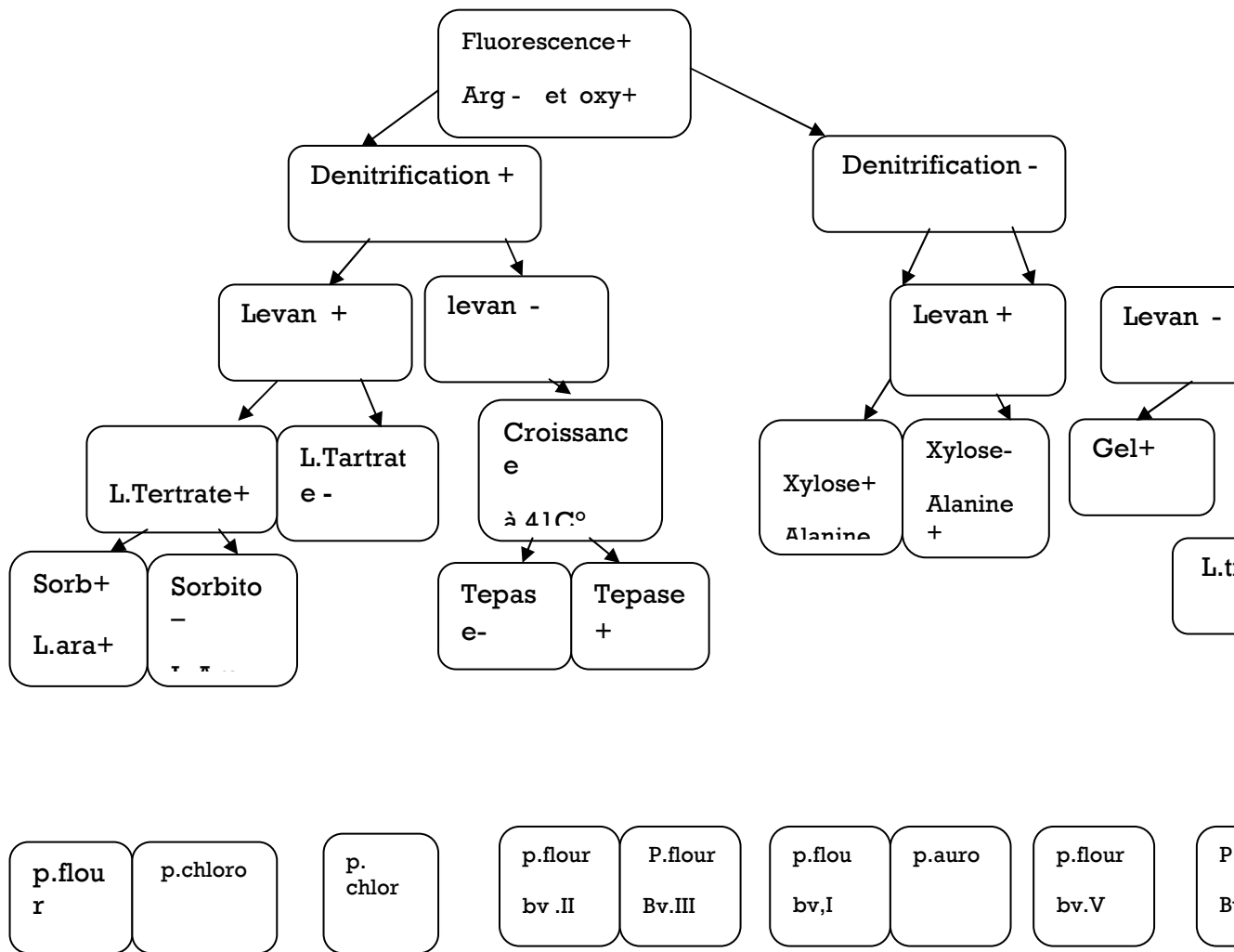


Figure 9:Clé dichotomique (A) propose par Jaque(1994) pour identification des souches appartenant espèces P.flourscents

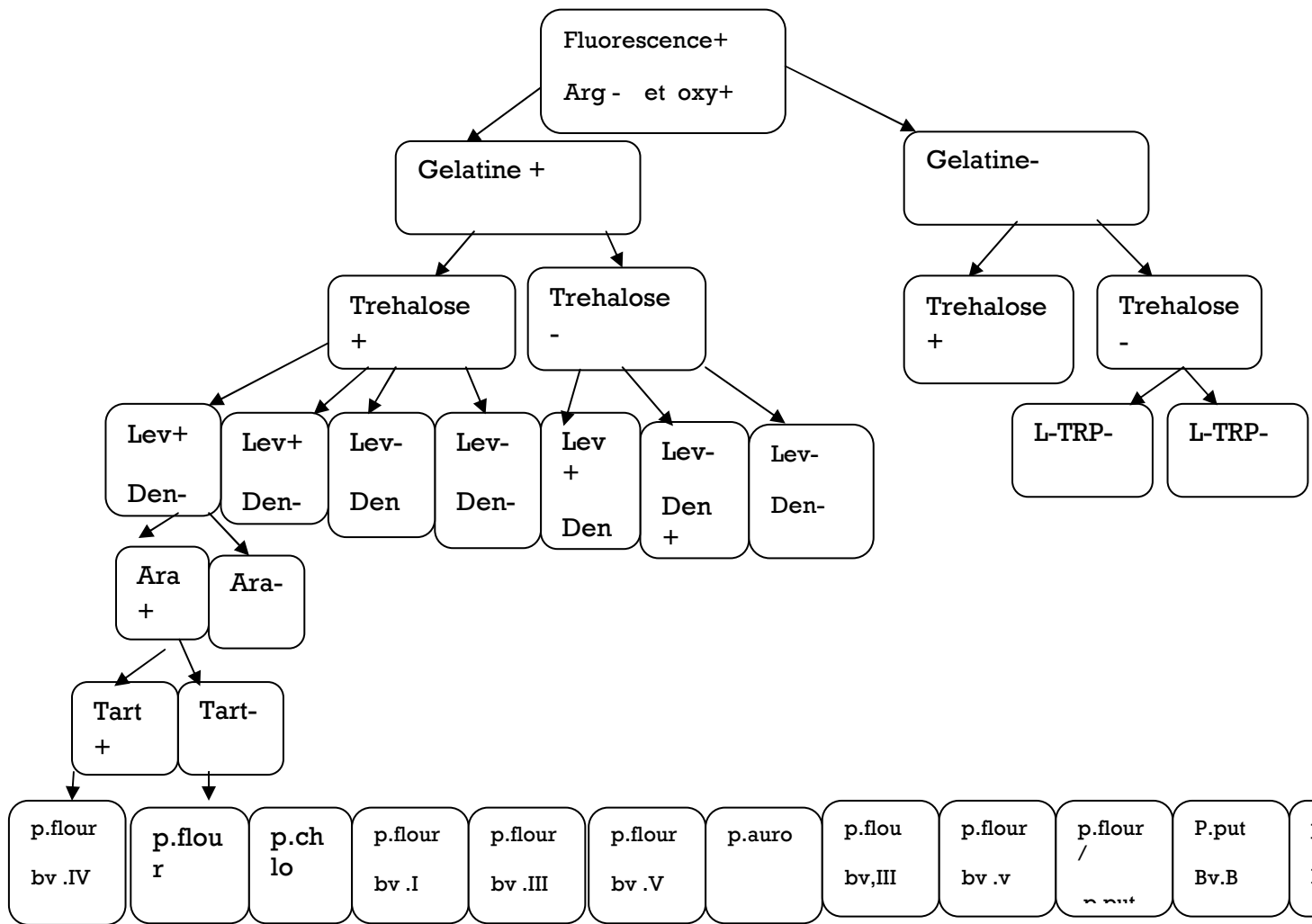


Figure 10: Clé dichotomique (B) proposée par Bossis (1995) pour l'identification des souches appartenant aux espèces *P. fluorescens*

6. Identification des isolats

Pour l'identification des isolats bactériens nous nous sommes basés sur la production du pigment fluorescent et les tests biochimiques et physiologiques.

6.1. La production du pigment fluorescent

La production du pigment fluorescent sur le milieu KB est l'un des critères d'identification de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, après une période d'incubation de 24h à 96 heures à une température de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, à l'œil nu nous avons recherché la production du pigment fluorescent.

6.2. Tests biochimique et physiologiques

Les tests biochimiques et physiologiques présentent une méthode utilisée pour identifier des bactéries isolées et connaître les différents caractères des *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

6.2.1 Test de Gram

Le test de Gram a été effectué par deux tests, le test de différentiation KOH et la coloration de Gram.

A. Test de KOH

Le test KOH nous a aidé à différencier entre les deux types de Gram, les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Pour effectuer ce test nous avons mis la colonie bactérienne sur une lame en contact avec deux ou trois gouttes d'hydroxyde de potassium (KOH) à 3%, en effectuant un mouvement circulaire par une anse de platine. Après 30 s la solution de KOH devient visqueuse (la réaction positive) indique que la bactérie est un Gram négatif si la solution de KOH ne devient pas visqueuse (réaction négative) indique que la bactérie est un Gram positif.

B. Coloration de Gram

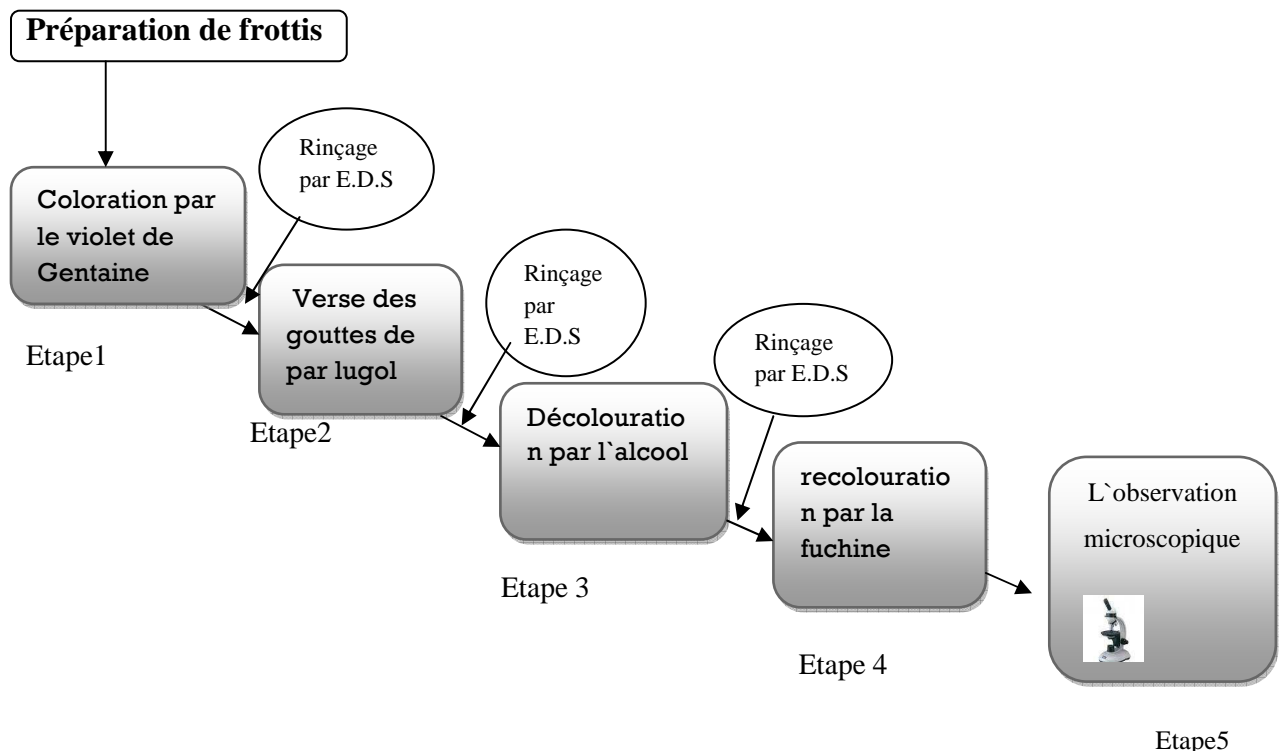
La coloration de Gram est une méthode pour étudier la structure des bactéries. Les résultats du test de coloration de Gram dépendent de plusieurs facteurs : la structure et la perméabilité de la paroi bactérienne.

Pour la préparation d'un frottis, nous avons prélevé et étalé une couche mince de bactérie pure sur une lame qui contient une goutte d'eau distillée stérile. Pour fixer ce frottis nous avons fait plusieurs passages sur la veilleuse du bec Benzène.

Ensuite, nous avons ajouté le Violet de Gentiane et laissé agir une minute ; puis rincé à l'eau distillée stérile. Après nous avons versé sur la lame des gouttes de Lugol et laissé agir une minute, après un rinçage nous avons incliné la lame et laissé tomber goutte à goutte l'éthanol pure jusqu'à l'apparition d'un film clair. Pour stopper l'opération, un lavage abondant à l'eau distillée est effectué, une recoloration par la Fuschine est réalisée pendant une minute, à la fin nous avons rincé par l'eau distillée stérile.

Après le séchage des frottis, l'observation microscopique par microscope optique est effectuée sous un objectif de grossissement : 10x100x1.25. En utilisant l'huile à immersion.

Le changement de couleur des cellules bactériennes est la clé de la consultation de la coloration de Gram, donc les germes qui ont pris une couleur violette sont des Gram positive (+). Les autres germes qui ont pris une couleur rose sont des Gram négatifs.



(Source : original :2015)

Figure11 : Le protocole de coloration de Gram

6.2.2 Test de LOPAT

Le test de LOPAT, c'est l'ensemble de tests (test levane , test oxydase , test pectinase ,test arginine et test d'hypersensibilité sur le tabac) utilisé pour étudié la pathogénèse des isolas bactéries , malheureusement nous avons pas effectué le teste de l'hypersensibilité sur le tabac et le test arginine a été réalise sur les plaque API20NE .

A. Test oxydase

Le teste oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme Cytochrome C oxydase, par une pipette de Pasteur stérile nous avons prélevé une colonie bactérienne et tracé un trait sur ce disque oxydase.

Après quelques secondes nous avons remarqué l'apparition d'une couleur bleu c'est la réaction positive(+), et l'absence de coloration indique de réaction négative (Schaad *et al*, 2001).

B. Test Pectinase

Le test pectinase est un test utilisé pour **évaluer** la capacité de dégrader la pectine par des isolats bactéries.

Après la désinfection des tubercules de pomme de terre par l'éthanol pure puis l'eau de javel 3%, suivie par 3 rinçages successive à l'eau distillée stérile, nous les avons coupé en tranches de 7mm de hauteur et placé chacun tranche dans un boite de Pétri sur du papier Buvard stérile imbibé d'eau distillée.

La suspension bactérienne a été préparé à une concentration supérieure à 10^8 UFC/ml, en mettant de des colonies bactériennes jeune âgée de 24 h dans de l'eau physiologique stérile.

Nous avons réalisé un petit creux au centre des tranches et le rempli avec un volume de 0.1 ml de suspension bactérienne de isolat testé qui déjà préparé .L'incubation des boites a été effectué à une température de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 10 à 14 jours.

La présence d'une couleur marron sur la surface des tranches accompagné d'une odeur c'est la réaction positive(+) (la dégradation de pectine), pour la réaction négative aucun changement est observé sur le tranche de pomme de terre (pas dégradation de pectine).

C. Production de levane sucrase

Pour vérifier la polymérisation du fructose en poly-fructose par les isolats, nous avons lancé le teste de levane sucrase comme suit :

Dans une boîte de Pétrie contenant le milieu levane (annexe). Nous avonsensemencé les isolats jeunes par l'anse de platine en forme de strie. L'incubation des boîte a été faite à $28 \pm 2 \text{ C}^\circ$ pendant 24h.

Pour la réaction positive une strie partiellement saillante est observe en vue dessus, ainsi que la présence d'une zone opaque et luisante en marge de la strie en vue du dessous. Par contre la réaction négative s'exprime par une strie prostrée et non luisante (Ielliot ,1987).

7. Galerie API 20 NE

Le but d'utilisation des plaques Galerie API 20 NE est l'identification des bactéries a Gram négatif, de forme, bacilles, non enterobacteries comme : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

La galerie API 20 NE est un système standardisée combinant 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation .les réactions produite pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleur spontanée ou révèles par l'addition de réactifs. Pour l'inoculation des galeries nous avons suivie les institutions du fabricant (Bio Mérieux).

7.1. Préparation de l'inoculum

Pour lancer l'inoculations des plaque API 20 NE nous avons préparé deux suspensions bactériennes.

La suspension bactérienne (A) a été préparé comme suit, nous avons prélevé des colonies bactérienne jeune et les homogénéisé avec 2 ml d'eau physiologique stérile à (0.90%).

Pour préparer la suspension bactérienne (B), nous avons mis 200µl de la suspension bactérienne (A) dans l'ampoule du milieu AUX.

7.2. Inoculation de galerie :

Avec la suspension bactérienne (A) nous avons rempli tous les micr-tubes (de test NO₃, test TRP, test GLU ,test ADH, test URE , test ESC , test GEL, et test PNPG) ,pour les test GLU , ADH , URE , nous avons crée une anaérobiose en remplissant la cupule par l`huile paraffine.

Les micr- tubes et les cupules des tests GLU jusqu`a PAC nous les avons rempli par la suspension bactérienne (B).L`incubation des plaques est effectué à la température 28 ±2°C.

Après incubation de 24 h à 48h, nous avons procédé la lecture des résultats, en se réfèrent au tableau 2 .Pour les deux tests NO₃ et TRP, nous avons ajouté les réactifs correspondant pour chacun test, qui sont respectivement (NIT1, NIT2,et Zn) et réactif de James.

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTIONS/ENZYME S	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	Potassium nitrate	0.136	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1+ NIT 2/ 5 min Incolore / Rose-roug	
			Réduction des nitrates en azote	Zn/ 5min Rose incolore	
TRP	L-tryptophane	0.2	Formation d'indole	TRP / 3-5 mn Incolore /Goutte rouge	
GLU	D-glucose	1.92	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	L-arginine	1.92	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
URE	urée	0.76	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine Citrate de fer	0.56 0.072	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl	0.22	B-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	1.56	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose	1.4			
MNE	Mannose	1.4			
MAN	Mannitol	1.36			
NAG	N-acétylglucosamine	1.28			
MAL	Maltose	1.4			
GNT	Gluconate	1.84			
CAP	Caprate	0.78			
ADI	Adipate	1.12			
MLT	Malate	1.56			
CIT	Citate	2.28			
PAC	Phényl-acétate	0.8			
OX	(voir notice du test oxydase)	-	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tableau 2 : Tableau de lecture (API20NE) (bio Mérieux).

8. Essai d'antagonisme *in vitro*

Pour tester l'activité antagonisme de 6 isolas, nous avons réalisé une confrontation avec un champignon phytopatogène le *Fusarium oxysporum* f.sp *albbedeinis* ; isolé et identifié au niveau de laboratoire de université de Laghouat

Ce test d'antagonisme effectué sur deux milieux différents : KB et PDA (annexe), dans chaque boîte de Pétri nous avons placé des isolats bactériens à 1 cm de l'extrémité de la boîte, après 24 h d'incubation à 28°C, nous avons mis un disque de 4mm du champignon au centre de la boîte (Figure12).

Dans d'autre boîte contenant le milieu KB et PDA nous avons placé le disque de chacun champignons seule comme témoins. Toutes les boîtes préparées sont incubées à 25 ±2 °C.

La comparaison entre la croissance de champignon en présence des bactéries avec la croissance du champignon sur les boîtes témoins après 5 jours d'incubations, permet de distinguer les zones d'inhibition.

Le taux d'inhibition $I(\%)$ de la croissance mycélienne du pathogène a été évaluée selon la formule suivante (Hamouni *et al.*,1996) :

$$I(\%) = (1 - DPA/DT) * 100.$$

DT : croissance radiale de témoin.

DPA : croissance mycélienne radiale du pathogène en présence de bactéries.

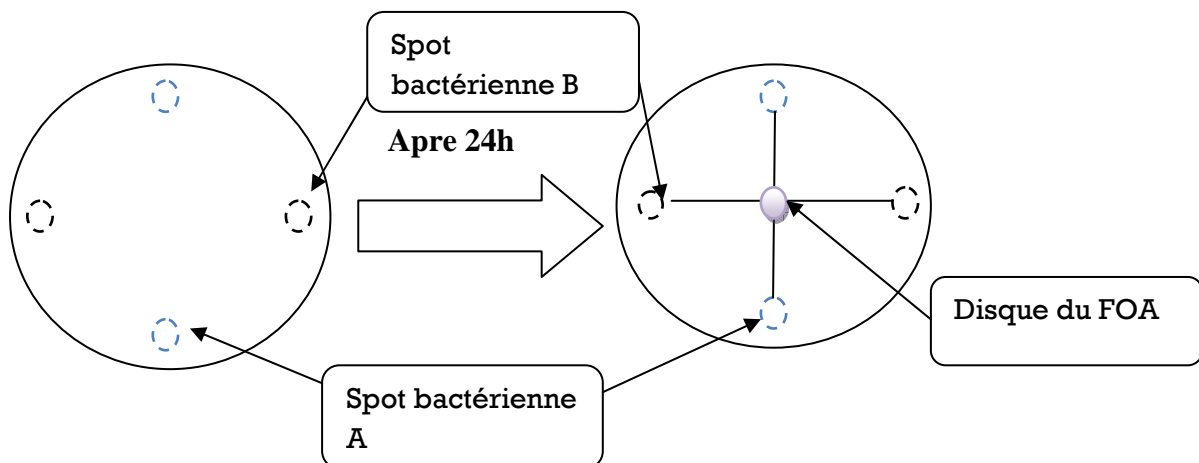


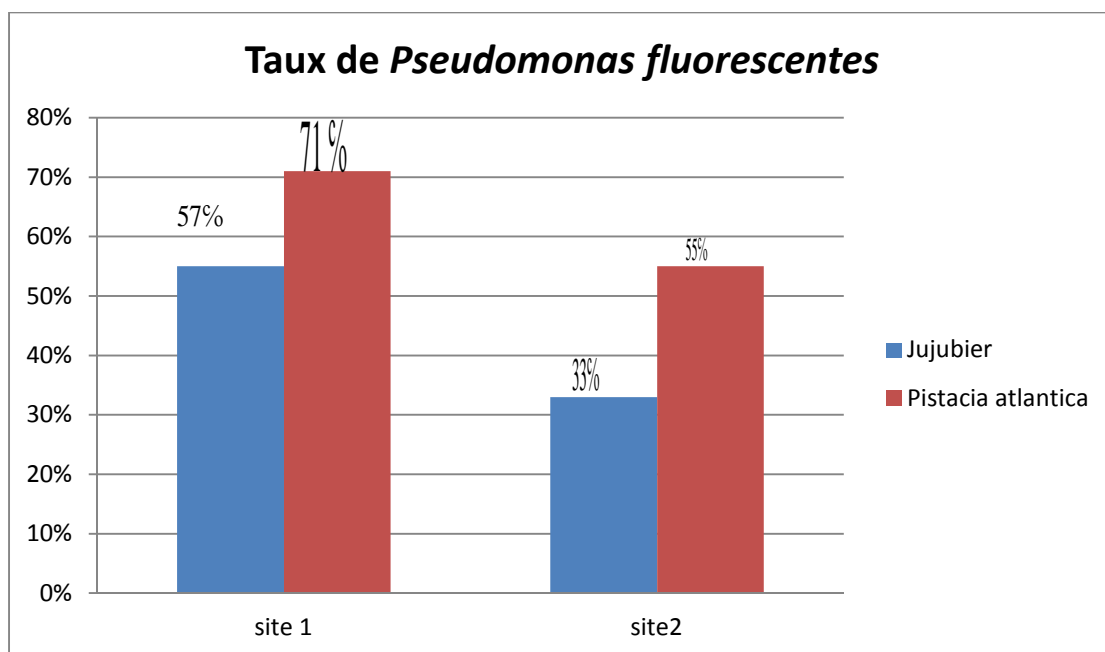
Figure 12 : La méthode d'antagonisme *in vitro*.

1. Les résultats

1.1. Dénombrement bactériens

Le comptage des colonies bactériennes sur les deux milieux KB et LPGA a été réalisé après 24 à 48 d'incubation. Nous avons utilisée la formule de (Klement *et al* ; 1990), pour calcule le taux de *Pseudomonas* spp .fluorescentes présent dans nos échantillons rhizosphérique.

Dans le première site, (daya Laghouat) le taux de présence des le *Pseudomonas* spp. fluorescentes dans la rhizosphère de *pistacia atlantica* est de 71 %, alors qu'il dans la rhizosphère de *Zizuphus lotus* (j jubier) est de 57%. Toute fois il est respectivement de 55% et 33% dans le deuxième site (daya sidi Makhloof).



Site 1 : daya Laghouat Site2 : daya sidi Makhloof

(Source : originale, 2015).

Figure13: Le taux des *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

1. 2. Caractérisation morphologique des *Pseudomonas* spp. fluorescentes

Après 24h à 48h d'incubations sur le milieu KB et LPGA nous avons remarqué la présence des plusieurs colonies bactériennes, dont nous avons retenu 32 isolats de *Pseudomonas* spp. fluorescentes est basé essentiellement sur l'observations à l'œil nu de fluorescence sur le milieu KB et selon les caractéristiques morphologique (petite taille, rondes brillants, bombe avec un surface lisse).



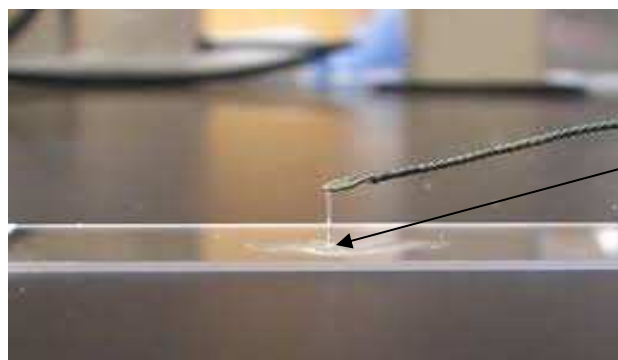
(Source : Auteur 2015)

Figure14 : culture pure des isolats.

1.3. Test de Gram

1.3.1. Test de KOH

Le principe de test KOH c'est la formation d'un fil visqueux ,après l'applications de ce test pour les 32 isolats, nous avons observé la présence de fil visqueux pour 15 isolats (réactions positifs) donc ces isolats sont des Gram négatifs, alors que les 17 autres isolats ont des réactions négatifs ils n'ont pas formé le fil visqueux donc sont des Gram positifs(Figure 15).



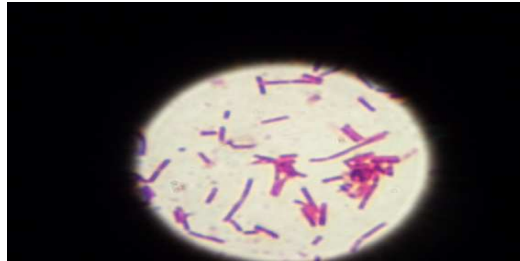
La formation d'un fil visqueux

(Source : Auteur2015).

Figure 15: les résultats du test KOH pour les isolats à Gram négatif.

1.3.2. La coloration de Gram

Après l'application du protocole de la coloration de Gram pour tous les isolats retenus après le test de KOH. Nous avons confirmé que les 15 isolats testés sont des bacilles à Gram négative (Figure 16).



(Source : Auteur 2015).

Figure 16 : Les isolats Gram négatif sous microscope optique (G10X100x1.5).

1.4. Test de LOPAT

Le test de LOPAT permet de distinguer les espèces non pathogènes et des espèces phytopathogènes de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (Semal, 1989).

1.4.1. Test d'oxydase

Le test d'oxydation est basé sur la production d'une enzyme cytochrome C oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique.

Après l'application de ce test sur les isolats bactériens, nous avons remarqué l'apparition d'une couleur bleu violète sur le disque pour tous 15 isolats (Tableau 4).

1.4.2. Production de levane sucrase

Nous avons fait la lecture des résultats du test levane après 48h d'incubations à 28 ± 2 C°, dans ce test nous avons observé la présence de culture saillante et luisante pour 11 isolats c.-à-d sont capables de dégradations du fructose. Chez 4 isolats, nous avons observé l'absence des stries prostrées non luisantes donc ils sont incapables de dégrader le fructose (Tableau 4).



(Source : Auteur 2015).

Figure 17: Résultats du test levane

Tableau 3: les résultants des tests KOH, coloration de Gram et la fluorescence.

Les tests Les isolats	Test KOH	Coloration de Gram	Fluorescence sur KB
BP	+	G ⁻	+
AP	-	EL	EL
1P	+	G ⁻	+
CP	-	EL	EL
DS	+	G ⁻	+
CS	+	G ⁻	+
EP	-	EL	EL
FP	-	EL	EL
AS	+	G ⁻	+
DP	+	G ⁻	+
HP	+	G ⁻	+
GP	-	EL	EL
AS	-	EL	EL
4P	+	G ⁻	+
8S	+	G ⁻	+
BS	-	EL	EL
GS	-	EL	EL
ES	+	G ⁻	+
2P	-	EL	EL
4P	-	EL	EL
6P	-	EL	EL
3P	+	G ⁻	+
9P	-	EL	EL
7P	+	G ⁻	+
1S	-	EL	EL
2S	-	EL	EL
8P	+	G ⁻	+
9s	-	EL	EL
5s	-	EL	EL
4s	-	EL	EL
SP	+	G ⁻	+
FS	+	G ⁻	+

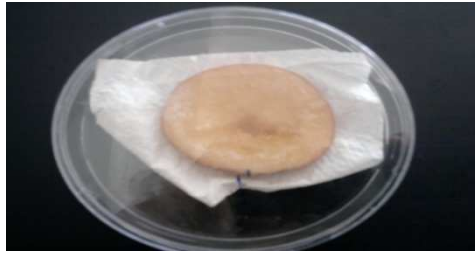
+: réaction positive

-: réaction négative

EL: éliminé par le test précédent

1.4.3. Test pectinase :

Après 14 jours d'incubation sous une température de 28 ± 2 , nous n'avons pas remarqué de changement sur les tranches des la pomme de terre, c'est un résultat négative (-). Les bactéries étudiées ne dégradent pas la pectine (Tableau 4).



(Source : Auteur 2015).

Figure 18: résultats de test pectinas

Tableau 4 : Les résultats du test de LOPAT.

les tests \ les isolats	Test levane	Test oxydase	Test pectinase	Test d`arginine deshydrolase	Test d`hypersensibilité sur Tabac
HP	+	+	-	+	NR
3P	+	+	-	+	NR
4P	-	+	-	+	NR
7P	+	+	-	+	NR
8S	+	+	-	+	NR
BP	+	+	-	+	NR
ES	-	+	-	+	NR
1P	+	+	-	+	NR
CS	+	+	-	+	NR
FS	-	+	-	+	NR
AS	+	+	-	+	NR
8P	+	+	-	+	NR
DP	+	+	-	+	NR
DS	+	+	-	+	NR
SP	-	+	-	+	NR

- : réaction négative

NR : Test non réalisée

+ : réaction positive

1.5. Galerie API NE 20

Après 24h et 48h nous avons fait la lecture de galeries en se référant au tableau de lecture (Bio Mérieux) , pour le test NO₃ nous avons ajouté une goutte de réactif NIT1 puis une goutte de réactif NIT2, après 5 min nous avons observé la couleur rose ou rouge c`est

une réaction positive ,si il n`ya pas de changement de couleur (réaction négative) nous avons ajouté 2-3 mg de Zn ,après 5 min si le tube reste incolore cela indique une réaction positive , alors que l`apparition d`une couleur rose est une réaction négative .Pour le test de TRP nous avons ajouté une goutte de réactif de James, après 5 min l` apparition de la couleur rose indique une réaction positive , l`observation de couleur vert pale, jaune cela indique une réaction négative (Figure 19).



(Source : Auteur 2015).

Figure 19: Les résultats d`une plaques API20 NE après 48h

Pour le test NO₃ nous avons remarqué que tout les isolats ont une réaction positive ce qui indique le réduction des nitrates par l`enzyme nitrate réducteur et la production de nitrite NO₂ sauf les souches DP, AS et ES ont fait une dénitrification .

Pour le test TRP nous avons remarqué que tous les souches incapable d`assimiler le tryptophane.

Pour la réaction de GLU tous les isolats testé sont inactives ou inertes (incapable d`oxydant le glucide en absence d`oxygène).

Le test ADH c`est un test utilisé pour rechercher l`arginine dihydrolase , nous avons remarque les isolats ont une réaction ADH positive donc ces isolats sont capable de transformer de l`arginine à acide aminé . En absence d`O₂ la chaine respiratoire est totalement bloquée c`est la seul voie fermentative connue chez ces bactéries (Schaad et *al* ; 2001).

Pour le test ESC nous avons remarqué des réactions positive chez quelques isolats indique de production d`esculetine qui a réagi avec le Fer (hydrolise d`esculine), nous avons remarque chez les 5 isolats une réaction négatives, ils sont incapables de la production d`esculetine.

Pour le test URE nous avons remarqué qu'une seule bactérie est capable d'alcaliniser le milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium.

Pour le test GEL nous avons remarqué que les 8 isolats sont des Gélatine négative incapable de dégrader la gélatine, mais les isolats BP, HP, 8S, 3P, ES, 1P, et DP qui sont de gélatine + donc la gélatine a été dégradée par protéase gélatinase.

Le test PNPG utilisé pour tester la dégradation de galactose, pour les résultats obtenus nous avons remarqué que tous les isolats sont incapables de dégrader le galactose sauf BP et 1P.

Les tests d'assimilation composés de 12 sucres (Glucose, Arabinose, Mannose, mannitol, N-acetylglucosamine, Maltose, Gluconate, Caprate, Adipate, Malate, Citrate, phenyl-acetate) permettant de voir si la bactérie est capable d'assimiler tel ou tel glucide. Nous avons remarqué que presque toutes les bactéries sont capables d'assimiler tous les glucides sauf le Adipate (ADI) qui n'est pas consommé chez la plupart des isolats examinés (Tableau 5).

Tableau 5: Les résultats de la galerie API 20 NE.

souches tests	BP	HP	4P	8S	3P	7P	ES	1P	CS	FS	AS	8P	DP	DS	SP
No3 ⁻	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
TRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ADH	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
URE	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ESC	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
GEL	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
PNPG	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<u>GLU</u>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>ARA</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>MNE</u>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>MAN</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>NAG</u>	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
<u>MAL</u>	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
<u>GNT</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>CAP</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<u>ADI</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
souches test	BP	HP	4P	8S	3P	7P	ES	1P	CS	FS	AS	8P	DP	DS	SP

<u>MLT</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>CIT</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>PAC</u>	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
<u>OX</u>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tableau 5 (suite):Les résultats de la galerie API 20 NE.

A l'aide d'un logiciel d'identification (identification microbienne via les API Microsoft Excel) nous avons obtenu les résultats qui sont présentés dans le tableau 6. Dans les résultats nous avons obtenu 10 souches *Pseudomonas fluorescens* avec différentes probabilités, les isolats :4P,SP, SC et7P ont une très bonne identification avec des probabilités supérieures à 99,4%, alors que les souches ES, 8P,FS,HP, 3P et 8S n'ont pas donné une bonne identification. Les autres souches sont avérées être des *Burkholderia cepacia* avec des probabilités allant : 96.2% et 88.9%(Tableau 6).

Tableau 6 : les résultats d'identification de galerie API 20 NE.

souches	Taxon le plus probable	remarque	Indice de typicité	Probabilité
7P	<i>P. fluorescens</i>	Très bon	0.51	99.7%
4P	<i>P. fluorescens</i>	Très bon	0,51	99,4%
SP	<i>P. fluorescens</i>	Très bon	0.49	99.5%
SC	<i>P. fluorescens</i>	Très bon	0.37	99,4%
3P	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	0.32	55%
8S	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	-0,47	55,5%
ES	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	-1,14	93,4%
8P	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	-0,03	69%
FS	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	0.12	50%
HP	<i>P. fluorescens</i>	Pas bon	0.47	57,5%
BP	<i>Burkholderia cepacia</i>	Pas bon	-0,27	94,9%
DS	<i>Burkholderia cepacia</i>	Pas bon	1.12	92,9%
1P	<i>Burkholderia cepacia</i>	Pas bon	0.83	88.9%
DP	<i>Burkholderia cepacia</i>	Bon	0,80	96.2%
AS	<i>Burkholderia cepacia</i>	Pas bon	2.33	53.3%

Pour faire une identification inter et intra spécifique, nous avons utilisé les résultats des tests LOPAT et les résultats des tests gélatine, test NO₃, tests Arabinose et test

Tryptophane sur la galerie API20NE et aussi la clé dichotomique (A) proposée par Jacque (1994) et la clé dichotomique (B) proposée par Bossis (1995) pour l'identification des *Pseudomonas*

Selon la clé (A) proposée par Jacque (1994) nous avons classé toutes les souches en deux biovars de *Pseudomonas fluorescens*, le biovar III regroupe les souches : 4P, FS, SP et SC. Les autres souches nous les avons classées dans le biovar IV (Tableau 7).

Selon la clé (B) proposée par Bossis (1995), avec test Gélatine positif et test levane négatif et dénitrification positive nous avons classé la souche ES dans le biovar III avec indépendamment des résultats du test Tréhalose, mais pour la souche HP,3P,8SetSC, où les tests (Gélatine, levane, dénitrification et L-arabinose) sont positifs il est difficile de les affilier dans le biovar IV ou II à cause du manque du test Tartase, pour les autres souches 7P,CS,FS,8P et SP où la réponse du test gélatine est négative a été basée sur l'identification des résultats de la galerie API 20NE avec le logiciel d'identification qui nous a identifiés ces isolats comme des *Pseudomonas fluorescens*, nos souches peuvent être affiliées au groupe intermédiaire *P. fluorescens* /*P. putida* (Tableau 8).

Tableau 7 : la classification selon la clé dichotomique (A) proposée par Jacque (1994) pour l'identification des *Pseudomonas* spp. fluorescents

souches tests	HP	3P	4P	7P	8S	FS	SP	SC	8P	ES
KING B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(NO ₃)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levane	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
tartrat	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
sorbitol	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Arabinos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gélatine	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
	P.fluore,bv.IV	P.fluore,bv.IV	P.fuore,bv.III	P.fluore,bv.IV	P.fluore,bv.IV	P.fuore,bv.III	P.fuore,bv.III	P.fuore,bv.III	P.fluore,bv.IV	P.fluore,bv.IV

(+) : réaction positive

(-) : réaction négative

NR : test non réalise

Tableau 8: La classification selon la clé dichotomique (B) proposé par Bossis (1995) pour l'identification des *Pseudomonas* spp. fluorescentes

souches \ tests	HP	3P	4P	7P	8S	FS	SP	SC	8P	ES
King B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Levane	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-
NO3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GEL	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
Trp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L(+)-tart	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	P.fluore..bv.IV, P. bv II	P.fuore..bv.IV, P. bv II	P.fluore .	P.fluore.	P.fluore..bv.IV, P. bv II	P.fluore	P.fluore..	P.fluore .	P.fluore	P.fluore. bvIII

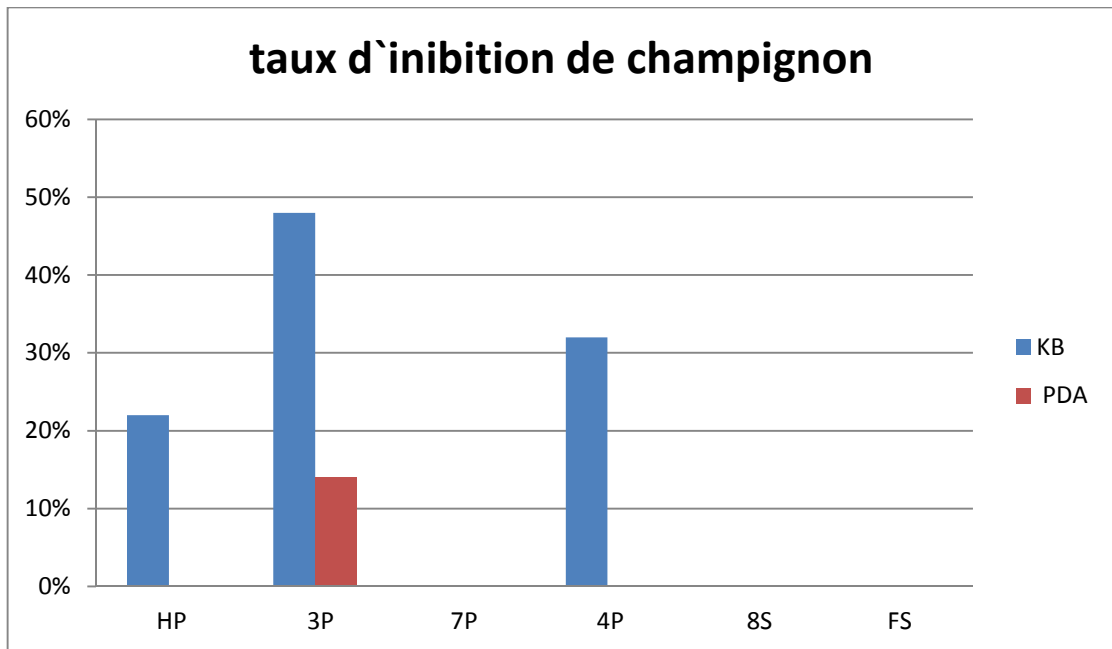
(+) réaction positive

(-) réaction négative

1.6. Essai d'antagonisme *in vitro*

L'essai antagonisme c'est l'essai qui nous a permis de sélectionner des souches antagonistes de *Pseudomonas* spp. fourescents. Nous avons utilisé la méthode de confrontation entre le champignon de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sur le milieu KB et PDA (figure 20).

Après 5 jours d'incubation nous avons obtenu des taux d'inhibition de 0 à 48% sur le milieu KB. Sur le milieu PDA la même souche (3P) a qui donné le taux le plus élevé sur le KB (48%) présente un taux de 14%. Nous constatons aussi que les taux les plus élevés ont été enregistrés sur le milieu KB.



(Source : originale, 2015).

Figure 20 : la présentation résultats de l'essai d'antagonisme *in vitro*

2. Discussion

Nous sommes intéressés à la flore bactérienne rhizosphérique, les *Pseudomonas* spp. fluorescentes, colonisant la rhizosphère des plantes spontanées *Pistacia atlantica* et *Zizyphus lotus* dans deux dayas de la wilaya de Laghouat : daya de Laghouat et daya de Sidi Makhloof.

Pour dénombrer le taux de *Pseudomonas* spp. fluorescentes dans les deux sites, nous avons cités des échantillons à partir de la zone rhizosphérique des deux plantes déjà déterminé et procédé au dénombrement sur deux milieux KB et PDA.

Nous avons obtenu un taux des bactéries *Pseudomonas* spp. fluorescentes importants au niveau de la rhizosphère de la plante de Pistachier le taux varie entre 71% et 55% et le de la rhizosphère de *Zizyphus* varie entre 57% et 33% respectivement dans les deux sites. Ce résultat lie aux caractères botaniques, de Pistachier et *Zizyphus*.

Selon Chin-A-Woeng *et al.* 2002 les *Pseudomonas fluorescentes* vient sans doute de leur taux de croissance plus élevée que celui de la plupart des autres rhizobactéries et de leur capacité à métaboliser plusieurs composés des exsudats racinaires,

Nous avons remarqué que la présence de taux *Pseudomonas* spp. *fluorescentes* dans la région de Laghouat est supérieure par rapport à la région de Sidi Makhloof.

Selon les données de Bureau nationales des études pour le développement rural (BNEDER) la région de Sidi Makhloof située en étage bioclimatique semi aride, les conditions plus favorables à une activité biologique alors que la région de Laghouat est située dans un étage bioclimatique aride, les conditions plus dures.

Nous avons choisi une gamme de 32 colonies bactériennes en se basant sur les caractères macromorphologique (petite taille, rondes brillantes avec des pigments jaune à vert et des reliefs bombés et lisses) (Pallerni, 1984), nous avons utilisé des méthodes de caractérisations bactériologiques et de tests biochimiques pour confirmer l'aspect de ces bactéries.

Après 5 purifications successives de ces isolats sur le milieu KB, nous avons utilisé le test de KOH, ce test est utilisé comme clé pour la différenciation entre les isolats de Gram négative et Gram positive. Par ce test KOH nous avons éliminé 17 isolats et gardé 15 isolats de Gram négative.

Pour confirmer les résultats du test KOH nous avons utilisé le test de coloration de Gram. Tous les isolats ont la forme bacille avec une couleur rose. Les parois cellulaires des bactéries Gram négative, avec une couche plus mince de peptidoglycane avec une paroi fine et élastique cette caractéristique permet à la paroi des bactéries à Gram négative par la **perméabilité à l'alcool**, qui ont été décolorées et **recolorées par la fuchsine** (Ghafir, 2007).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries de bacilles Gram négative ayant une taille de 0,5 à 1 µm sur 1,5 à 5 µm, sont des bactéries arabiques strictes. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de mobilité avec flagelles polaires, la mobilité est très importante pour coloniser la zone rhizosphérique de plants hôtes (Ghafir, 2007).

Pour le test de LOPAT Nous avons réalisé test levure sucrose, test oxydase, test pectinase et test arginine sauf le test de l'hypersensibilité sur tabac.

Pour le test oxydase tous les 15 isolats ont des réactions positives par la présence d'une couleur bleue violette sur le disque oxydase de . Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de catalyser l'oxydase grâce à un cytochrome oxydase par l'oxygène moléculaire. Le cytochrome oxydase oxyde le cytochrome C qui va, à son tour, oxyder le tétraméthyle 1-1, 4-

phenylène diamine, le substrat qui prend une coloration bleue violette ((Avril et al ; 1992). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries oxydase positives (Ghafir ,2007).

Les résultats de test levane permet de différencier entre les souches de *Pseudomonas fluorescents* qui sont capable de la produire le levane sucrase extracellulaire et les autres ne possède pas cette caractéristique (Lelliot ,1987). Dans notre cas le test levane positive chez 11 isolats qui capable de dégradé le fructose par un enzyme monosaccharides et négative chez 4 isolats.

Le test pectinase permet de distinguer entre les bactéries qui possède ou pas l'activité pectinolytique .Le test pectinase montre que tous nos isolats sont des bactéries saprophytes puisque nous n'avons pas observé une pourriture sur les tranches de pomme de terre après 14 jour d'incubation.

Pour le test d'arginine qui été effectué sur le plaque API20 NE. Tous les bactéries testé donne une réaction positive .La dégradation de l'arginine est une voie caractérisation des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophyte (Schaad et al ; 2001).

Pour la classification intra spécifique des souches bactéries nous avons utilise les résultats des plaque API 20NE et les testes physiologiques et biochimiques avec la clé (A) proposé par Jacque(1994) et la clé (B) proposé par Bossis (1995).

Nous avons remarqué selon le clé A propose par Jaques (1994), tous les souches de *Pseudomonas* sont fluorescent sur le milieu KB avec un réaction positive de tests NO₃ mais La capacité de dégradation de fructose varie selon le boivare des *Pseudomnas fluorescent*, nous avons affilié 4 souche(4P, FS, SP et SC) dans biovar III .Les autre bactéries de *Pseudomonas* spp. fluorescentes sont capable de dégrade le fructose classe dans biovar IV.

Les différentes espèces de *Pseudoumonas* qui coloniser la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agent de lutte biologique (Whipps J.2001).

Pour tester la capacité de nos souche nous avons utilise un essai d'antagonisme par confrontation directe sur les deux milieu KB et PDA, les résultats de l'essai de l'antagonisme contre le *Fusarium oxysporum f.sp albedinis* l'agent causal de maladie de bayode chez les palmier dattiers donné des taux déférents selon la souche et selon le milieu de culture .Le taux d'inhibitions pour l'ensembles des isolats ne pas dépassé le 48%.

La souche 3P la seul qui présenté un zone d'inhibition contre le FOA sur les deux milieux, par la comparaison l'activité d'antagonisme entre le milieu KB et PDA nous avons remarque que l'activée sur le milieu KB est supérieure par apport au milieu PDA par ce que le milieu KB est un plus favorable que le PDA pour le *Pseudomonas* spp. fluorescent (Defago, 1993).

Certain souches des *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capable de secrété des métabolites antifongiques comme : la pyrrolnitrine , les phenazines , les butyrolaxtose et par la sécrétion d'enzyme hydrolytique tel β -1-3-gluacnase , cellulases et chitinas certains souches de PGPR ont la capacité à dégrader la parois cellulaires des agents phytopatogenes (whippes , 2001).

Sur le milieu PDA toutes les souches ont aucun activée antagonisme sauf la souche 3P. Ces les résultats du milieu PDA favorisent boucaux plus le développement de champignon.

mais la souche 3P utilisé autre mécanismes d'action que la fluorescence signe de synthèse des siderophores Donc la souche 3P possède d'autre mécanismes inhibiteur dans leur pouvoir d'antagonisme comme la synthèse des antibiotique et d'autre type des métabolites(Mezaache , 2012).

La souche 3P sont stoppé le développement de champignon sont possible utilise dans le cadre de lutte biologique.

La conclusion

Au terme de notre étude sur les isolements et identification des *Pseudomonas* spp. fluorescents à partir de la rhizosphère de Pistachier et Jujubier dans deux différentes régions de la wilaya de Laghouat.

Nous avons constaté que le taux de *Pseudomonas fluorescents* de la rhizosphère de Pistachier est supérieure à celui du Jujubier dans la région de Laghouat. La région de Sidi Makhloof, quelle que soit la plante, le dénombrement des colonies bactériennes sur le milieu KB et LPGA, ont été basés sur les caractères morphologiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents nous avons sélectionné 32 isolats.

Nous avons utilisé les tests physiologiques et biochimiques qui nous ont permis de garder isolés 15 isolats.

Les résultats obtenus nous n'ont pas permis de faire une identification précise. Il faut utiliser des tests génétiques pour confirmer les caractères phénotypiques (PCR).

La classification interspécifique des isolats est basée sur la galerie API20NE et deux clés dichotomiques la clé (A) proposée par Jacques (1994) et la clé (B) proposée par Bossis (1995).

La classification interspécifique nous a permis de classer 10 isolats qui sont des *Pseudomonas* spp. fluorescentes et la classification intraspécifique nous a permis de classer des souches de boivars différents.

Les isolats identifiés comme des *Pseudomonas fluorescents* (6 isolats choisis aléatoirement) ont montré une activité antagoniste différente contre le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Les résultats de ce test montrent que la souche 3P a une activité antagoniste importante par rapport aux autres souches, ces résultats doivent être pris en considération dans les futurs travaux sur la lutte biologique.

Perspective :

Les résultats obtenus dans ce travail sont des résultats préliminaires. Nous conseillons :

- 1- faire des travaux supplémentaires pour comprendre la relation entre ces plantes.

- 2- l'utiliser les identifications génétiques pour confirmées les caractères phénotypiques .
- 3- faire des essais in vivo et in situ pour la mise en évidence de les effets bénéfiques
Des souches *Pseudomonas flourescents*, étudier ces mécanismes d'action et extraire les métabolites de *P.flourescents* surtout la souche 3P.

- Abdel-Zaher A ., Salim Y-S ., Assaf M-H ., Abdel-hady R-H.** (2005). Antidiabetic activity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**:129-138
- Abu-Zarga M ., Sabri S ., Al-Boudi A ., Ajaz S ., Sultana N ., Rahman A-U.** (1995). New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, **58**:504-511.
- Alyafi.J (1979).** *Approche systématique et écologique du genre Pistacia L. dans la région méditerranéenne* .Thèse Doct .Es Science .Univ. Aix Marseille III.
- Amkarz , N.2013.** *Utionas spp. lisation des pseudomonas fluorescents et des plantes aromatique et médicinales contre clavibacter michiganensis subsp. Michganensis , agent du chancre bactérie de la tomate . thèse de doctorat : université de zhor agadir . maroc . 263p*
- Baba Aissa F.(2000).** *Encyclopedie des plantes utiles :Flore d`Algérie et du Maghreb . Ed :EDAS .217P.*
- Bellakhdar J.(1997).***La pharmacopée marocaine traditionnelle .Médecine arabe ancienne et savoirs populaires .IBIS Press.764p.*
- Belhadj S. (2001).**Les pistacheraies algériennes :Etat actuel et dégradation .*Cahiers option méditerranéennes ,septembre 1999,n°.56,p.107-109.*
- Belhadje S.(2007).***Etude éco-botanique de pistacia atlantica Desf.(Anacardiaceae)en Algérie , préalable a la conservation des ressources génétiques de l`espèce et a sa valorisation , Thèse de doctorat d`E`tat en Science Agronomique ,Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.*
- Benabdallah Fatima Z.(2012).***Etude morphologique des feuilles et des fruits du pistachier et de L`atlas .et valorisation des huiles essentielles des feuilles et de l`oléorésine .Magistère en Biologie .Universite Mohammed KHeider Biskra .*
- Bloemberg, G. and Lugtenberg, B. 2001.** molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Cur. Opin. Plant Biol.* **4**: 343-350.
- Bossis E., Lemanceau P., LatourX., Gardan L .,2000.***The taxonomy of pseudomonas fluorescensand pseudomonas putida : current status and need for revision .Agronimie 20.INRA, EDP sciences .P:51-63.*

- **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.

Bouderbala R.(2012).*Les dayas a pistacia atlantica Desf. Des hautes plaines du sud Algérois (Messaad) :Ecologie , diversité floristique et valeur patrimoniale* .Magistère en Science de la nature. Université Des Science et De la Technologie <<Hourri Boumediene>> .

Borgi W et Chouchane N .(2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.).*Revue des Régions Arides* ,283-286.

Borgi W., Ghedira K., Chouchane N.(2007(a)). Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks . *Fitoterapia*.78:16-19.

Borgi W ., Recio M-C ., Rios J-L ., Chouchane N. (2008).Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 14:320-324.

-**Bross J. (2000).** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed) Canada .576p

-**Clays- Josserand, A., Lemanceau,p. Philippot ,L.and Lensi,R.,1995.***Influence of two plant species (flax and tomato) on the distribution of nitrogen dissimilative abilities within fluorescent pseudomonas spp.* *Appl.Environ .Microbiol.* 61:1745-1749.

-**Davet P.,1996.***Vie microbienne du sol et production végétale* . Institut national de la recherche agronomique ,INRA,75338 Paris Cedex 07, ISBN 2-7380-0648-5 , 383 PP .

Defago G. (1993). Les bacteries auxiliaires de la mycorhization du Douglas (*pseudosugamenzieissii*) par *laccarialaccata* souche S 238 . Thèse de doctorat : université de Nancy.

Digat, B.and Garden , L.1987.Caractérisation , variabilité et sélection des souche bénéfique des *pseudomonas fluorescens* .*Bull OEPP*.17 :559-568.

-Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y., 2003. Plant growth- promoting effects of daizotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant science* 22: 107-149.

-Dommergues , Y ., Mangenot , F (197). *Ecologie microbienne du sol* .Paris : Masson, 76p.

-Euzeby, J.P., 2008. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>.

Esitken ,A., Karlidag, H., Ercisli , S. and Sahin , F.(2000). effects of foliar application of bacillus subtilis osu 142 on the yield m growth and control of shot-hole disease of apicot .67 (4):139-142.

Ghaffari S M ,Shabazaz M. Et Behbood B S.(2003). *Chromosome variation in pistacia genus .13 eme reunion de GREMPA sur l'amandier et le pistachier* .Portugal .Options méditerranéennes , série A , Séminaire méditerranéen 63.

-Gamble TN ,Betlach MR, Tiedje JM .19977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils .Appl Environ microbial 33,926-939.

-Garbaye , J ., 1991. Helper bacteria : a new dimension to the mycorrhizal symbiosis .New phytol.128: 197- 210.

Gardan L., Bollet C., Abu Ghorrah M., Grimont F. and Grimont P.A.D., 1992. DNA relatedness among pathovar strains of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* Janse(1982) and proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp.nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **42**: 606–612.

-Gobran ,GR, Clegg S ., Courchesne , F.1988. Rhizospheric processes influencing the biogeochemistry of forest ecosystems .biogeochemistry .42.p 107-120.

-Guerinot M., 1994. Microbial iron transport .Annu Rev Microbiol ,48.p 743-772.

-Holt ,J. G., Krieg,N.R., Sneath,P.H.A., Staley ,J.T. and Williams, S .T., 1994. Genus pseudomonas . In:

-Heinaru, E., Truu, J., Stottmeister, U. and Heinaru, A., 2000. Three types of phenol and p-cresol catabolism in phenol- and p-cresol-degrading bacteria isolated from river water continuously polluted with phenolic compounds. *FEMS Microbio. Ecol.* **31**(3): 195-205.

-holt ,J.G ., Krieg ,N.R., Sneath ,P .H. A ;Staley, J .T ., Williams ,e.t.(Eds) diversity patterns along a gradient of primary productivity .Ecol .lett .6 : 613- 622.

- Johnsen, K., Andersen, S. and Jacobsen, C.S., 1996.** Phenotypic and genotypic characterization of phenanthrene-degrading fluorescent *Pseudomonas* biovars. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 3818–3825.
- Khelil A., Et Kellal A. (1980).** Possibilité de culture et délimitation des zones a vocation pistachier en Algérie. *Fruit.* Vol .35, p. 177 -185.
- Klement z.(1990)**Methods in phltobacteriology . Ed printed : hungary . 568p.
- King eet al.(1954).**two simple media for the demonstration of pycianin and flourescin . 44eme edition : l clin med . p 301 – 307.
- Knwales .R.1982.** Denitrification .Microbiol .Rev 46 .p 43- 70.
- Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1978.** Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. *Conf. Plant Pathogen. Bacteria.* Angers France, **2**: 879-882.
- Lahlou M ., El Mahi M ., Hamamouchi J. (2002).**Evaluation des activités antifongiques et molluscide de *Zizyphus lotus* (L.) Desf.du Maroc.*Journal des annales pharmaceutiques française*
,**60** :410-414
- Latour, X. and Lemanceau, P., 1997.** Carbon and energy metabolism of oxidase-positive saprophytic fluorescent *Pseudomonas* spp., *Agronomie*, **17**: 427–443.
- Lelliot ,R.A.and Stead, D .E.1966.**In : T .F. Preece (Ed). Msthods in plant pathology .Vol2 : Methods for diagnosis of Bacterial Diseases of plants .Blackwell . Oxford .UK , 212P.
- Lemanceau P, Alabouvettev C .1992.** Suppression of fusarium wilts dy fluorescent pseudomonads : *mechanisms and applications* . Biocontrol Technol 3 . P 219-234.
- Lucas P, Sarniguet A, Collet JM , Lucas M .1989.** Réceptivité des sols au piétin-echaudage (*Gaeumannomycesgraminis* var . tritici) : influence de certains techniques culturales .Soil Biol Biochem 21 .P 1073 -1078.
- Lemanceau P., Heulin ,T. 1998.**La rhizcsphere dans "Scl:interface fragile "INRA , PARIS, FRANCE P 93-106.

- **Matsubara ,T .and Zumft , W.G.,1892.** *Identification of a copper protein as part of the nitrous oxide- reducing system in nitrite- respiring (dentifying) pseudomonads* .Arch Microbiol .132: P 322-328.
- Mezaache ,M .2012.** *Localisation des déterminant de la suppression de quelques souches de pseudomonas isolees de la rhizosphere de la pomme de terre* . thèse de doctorat : l`uni Palleroni, N.J., 1993. *Pseudomonas* classification. A new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, **64**: 231–251.versité de Ferhat Abbas Sétif . 221p.
- Misaghi I, Mrogam RG(1969)** . Nutritional and biochemicalcomparisons of planthogenic and saprophytic fluorescencent pseudomonads .Phytopathology 59 , 1436- 1450.
- Monjauze A.(1968).** Répartition et écologie de pistacia atlantica Desf : en Algérie .*Bulletin de la Société d`Histoire Naturelle de l`Afrique du Nord* . Tome 56. 128 p.
- Monjauze A . (1980).** *Connaissance du Betoum Pistacia atlantica Desf : Biologie et foret* . p.357-363.
- Monjauze A .(1982).***Les pays des dayas et Pistacia atlantica Desf . Dans le Sahara Algérien* .Rev. For .France .n°4, p277-291.
- Moghtader M.(2010).***Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruit of Pistacia mutica fisher Kerman Province* . Meadle east journal of scientific research, Vol .5 n°4, p291-297.
- Ozenda P. (1977).** Flore du Sahara 2e Ed .CNRS .Paris .622p.
- Ozenda P .(1983)** . Flore du Sahara. Deuxième édition. Centre national de la recherche scientifique. Paris, P.338-339.
- Palleroni N.J.1984.***Pseudomonas(Migula)* . In bergey`s manual of systematic bacteriology. Edited by N.R. Krieg and J.G. Holt. Baltimore , MD: Williams and Wilkins.(1):141-199.
- **Palleroni NJ.1992.**Intoduction to the family pseudomonadaceae .In : The Prokaryotes (MP Balows ,ed), Spriger –verlag , New York , 3071-3085.

- **Palleroni, N.J. and Moore, E.R.B., 2004.** Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. In "Pseudomonas", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis, pp. 3-44.

Palleroni, N.J., 1984. Genus I. Pseudomonas Migula 1894. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141-171.

Perrier, T. 2004. Etude théorique et expérimentale du comportement biogéochimique de l'américium-241 en condition rhizosphérique simplifiées. Application dans un sol agricole calcaire. Thèse de doctorat : l'Université Henri Poincaré Nancy I .337P.

Quezel P et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.

-**Recott, M, Lansing, Harley, John., Klein, Donald., 2000.** Microbiologie .2eme edition. Paris :boek .P. 153-204

Rezonico, F., Binder, C., Defago, G., Moenne-Loccoz, Y. 2005. The b type III secretion system of biocontrol pseudomonas fluorescens KD target the phytopathogenic chromista *pythium ultimum* and promotes cucumber protection .18,pp.991-1001.

Rsaissi N et Bouhache M. (2002). La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed).n0 94.Rabat ,4p.

-**Sands DC, Gleason FH, Hildebrand DC .1967.** Cytochromes of *Pseudomonas syringae* .J bacterial. Vol . 94 ,P . 1028-1032.

-**Scher, F. M., Kloepper, J.W., Singleton, C., Zaleska, I., Laliberte, M. 1988.** Colonization of soybean roots by pseudomonas and Serratia species : relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time, 78,pp 1055- 1059.

-**Schaad Net al. (2001).** Initial identification of commugenora . in SCHAAN . N (ED.Lab). Guid for identification of plant pathogenic bacteria . 2eme Ed . st .paul M.N.APS PRESS P. 1-15.

- Sarniquet ,A., Barret ,M, Lebreton ,L.,Daval , S.2008.**Bactéries et champignons interagissent pour la sante des plantes . biofutur , 284,pp.30-33.
- Stanier , R . Y , Palleroni N. J. And Doudoroff, M ., 1966.**The aerobic pseudomonads ,a taxonomic study J. Gen .Microbiol . 43. P 159- 271.
- Suksamrarn S ., Suwannapoch N ., Aunchai N ., Kuno M ., Ratananukul P ., Haritakum R ., Jansakul C ., Ruchirawat S. (2005).**Ziziphine N, O, P, new antiplasmodial cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus oenoplia* var. *brunoniana*.*Tetrahedron*, **61** :1175-1180.
- Tiedjejm M .1988.**ecology of dentitrification and dissimilatory nitrite reduction to ammonium. In :biology of anaerobic microorganism,wiley interscience publications , New York, 179-244.
- Weller , DMet COOK RJ .1986.** Increased growth of wheat by seed treatments with flourescent pseudomonads , and implication of pythium control . can J plant pathol 8 .
- Whipps J.(2001)** . Microbial interactions and bio control in the rhizosphere J . exp BOT . n 52.p.487-511.

Annexe 1 : compositions des milieux de culture

1. Milieu LPGA : King B :

Extrait de levure	5g
Bactopeptone	5g
Glucose	10g
Agar bactériologique	18g
Eau distillée	1L

3. Milieu PDA : levane :

Agar	20g
Glucose	20g
Pomme de terre	200g
Eau distillée	1L

2 .Milieu

peptone	20g
Glycerol	15ml
K ₂ HPO ₄	1.5g
MgSO ₂	1.5g
Agar	20g
Eau distillé	1L

4. milieu

Extrait de levure	20g
Bactopeptone	15g
NaCl	1,5g
Saccharose	1,5g
Agarbactériologique	1g
Eau distillée	1L

