

EFFET DE DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* SUR LA GÉRMINATION DU CÈDRE (*CEDRUS ATLANTICA MANETTI*) ET D'UNE LÉGUMINEUSE (*ACACIA NILOTICA*)

LARBAOUI-DAHOUMANE Akila^{1,2*} et BENCHABANE Messaoud²

1. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou - Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques - Département d'Agronomie - Algérie

2. Université de Blida 1 - Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie - Département de Biotechnologie et Agro-Écologie - Laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques (LPVRAB) – Algérie

Reçu le 03/12/2022, Révisé le 22/05/2023, Accepté le 05/06/2023

Résumé

Description du sujet : Étude de la stimulation de la germination *in vitro* de *Cedrus atlantica* et d'*Acacia nilotica* par deux souches de *Pseudomonas fluorescens*.

Objectifs : Mettre en évidence la capacité de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* à synthétiser des métabolites phyto-stimulateurs (indole acétique, sidérophores, acide cyanhydrique et phosphatases) et évaluer leurs effets sur l'amélioration de la germination de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.

Méthodes : Des graines du cèdre et d'acacia ayant subi une bactérisation par les souches BB10 et F 21 sont mises à germer à 25°C. Les performances germinatives (taux et vitesse de germination) et de croissance (indice de vigueur) sont mesurées quotidiennement pour chaque traitement.

Résultats : Les résultats de l'essai montrent que les graines bactérisées germent plus rapidement avec des taux de germination plus élevés (supérieurs à 50%). Une meilleure croissance de la radicule (4,4cm) et de la plumule (3,87cm) a été observée chez le cèdre. Les rhizobactéries sont plus efficaces dans l'amélioration de la germination des graines du cèdre que celles d'acacia.

Conclusion : Les souches bactériennes BB10 et F 21 de *Pseudomonas fluorescens* sont productrices d'acide indole acétique, de sidérophores, d'acide cyanhydrique et sont solubilisatrices de phosphore tricalcique. La bactérisation est plus favorable sur le cèdre en induisant une amélioration remarquable de tous les paramètres de germination.

Mots clés : *Pseudomonas fluorescens* ; *Cedrus atlantica* ; *Acacia nilotica* ; Bactérisation ; Phytostimulation.

EFFECT OF FLUORESCENT PSEUDOMONAS SPP. STRAINS ON THE GERMINATION OF ATLAS CEDAR (*CEDRUS ATLANTICA MANETTI*) AND GUM ARABIC TREE (*ACACIA NILOTICA*) SEEDS

Abstract

Description of the subject: Study of the stimulation *in vitro* germination of *Cedrus atlantica* and *Acacia nilotica* by two strains of *Pseudomonas fluorescens*.

Objectives: Highlight the ability of strains of *Pseudomonas fluorescens* to synthesize phyto-stimulatory metabolites (indole acetic acid, siderophores, hydrocyanic acid and phosphatases); and to evaluate their effects on improving the germination of *Cedrus atlantica* and *Acacia nilotica*.

Methods: Cedar and acacia seeds that have undergone bacterization by strain BB10 and F 21 are germinated at 25°C. Germination performance (germination rate and speed) and growth (vigor index) are measured daily for each treatment.

Results: The results of the trial show that bacteriated seeds germinate faster with higher germination rates exceeding 50%. Better radicle (4.4cm) and plumule (3.87cm) growth was observed in cedar. Rhizobacteria are more effective in improving cedar seed germination than those of acacia.

Conclusion: Bacterial strains BB10 and F 21 of *Pseudomonas fluorescens* are producers of indole acetic acid, siderophores, hydrocyanic acid and are solubilizers of tricalcium phosphorus. Bacterization is more favorable on cedar by inducing a remarkable improvement in all germination parameters.

Keywords: *Pseudomonas fluorescens*; *Cedrus atlantica*; *Acacia nilotica*; Bacterization; Phytostimulation.

* Auteur correspondant: LARBAOUI-DAHOUMANE Akila, E-mail: akilalarbaoui@gmail.com

INTRODUCTION

L'Algérie recèle d'importantes réserves naturelles où la diversité des espèces forestières est d'un rôle moteur dans le maintien de l'équilibre écologique des écosystèmes naturels et dans le développement économique et social du pays [1]. Les essences forestières sont soumises constamment au processus d'érosion qui commence à devenir irréversible. Les causes de la déforestation et de la disparition de ces formations végétales sont principalement dues à l'agressivité du climat, aux incendies répétés des forêts, aux défrichements, aux maladies et autres ravageurs. La situation est devenue critique notamment avec le processus actif de la désertification qui s'accroît dans les forêts de pins, de cèdre, de chêne et dans les formations steppiques [2]. L'aménagement des bassins versants, la lutte antiérosive, l'augmentation des surfaces forestières sont parmi les objectifs assignés à tout programme de reboisement [3].

Le cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* Manetti est une essence qui a toujours suscité un grand intérêt dans la reconstitution et la revalorisation des peuplements forestiers en raison de ses nombreuses qualités telles que sa faible inflammabilité, sa production d'un bois de qualité, sa tolérance aux stress climatiques et son intérêt paysager [4]. Les acacias sont également des essences qui présentent un intérêt économique et écologique très important. Leur rusticité, leur résistance à la sécheresse et leur capacité à développer une double association symbiotique avec des bactéries rhizobiennes d'une part et des champignons mycorhiziens d'autre part, leur confèrent une importance environnementale très prometteuse surtout en zones arides et semi-arides [5]. Le reboisement constitue une action déterminante dans le programme de protection du patrimoine forestier algérien et sa biodiversité [3]. Même si les programmes de reboisement sont pratiqués et reconduits chaque année, néanmoins des échecs répétés sont constatés à cause de l'insuffisance du développement racinaire et de la mauvaise qualité morpho-physiologique des plants utilisés en reboisement [6]. L'obtention de plants de bonne qualité est inéluctablement liée à la réussite des phases de la germination et de développement d'un système racinaire suffisant pour assurer une continuité des différentes phases de la croissance végétale.

Outre les démarches classiques appliquées en matière de production végétale, de nombreuses

études ont démontré les prouesses et les performances de certaines catégories de microorganismes, notamment les bactéries rhizosphériques comme alternative biologique dans la stimulation et l'amélioration de la croissance des plantes, que ce soit en développement racinaire dans leur activité physiologique ou en augmentation des biomasses végétales [7]. Les rhizobactéries phyto-stimulatrices de la croissance des plantes (ou PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria) sont très connues par leurs aptitudes et éco-biologiques et interviennent activement dans l'amélioration des performances d'adaptation et de la croissance de diverses espèces végétales appartenant à différentes familles botaniques [7, 8]. Ces rhizobactéries appartenant pour la plupart au groupe des *Pseudomonas spp.* Fluorescents, en plus de leurs activités phytobénéfiques, présentent des aptitudes antagonistes vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes [9, 10]. Les PGPR agissent directement ou indirectement sur la croissance des plantes par plusieurs modes d'actions tels que : la synthèse de phytohormones, de sidérophores, la solubilisation du phosphate inorganique, la production de l'acide cyanhydrique...etc [11]. Également, elles améliorent la tolérance des plantes aux stress biotiques et abiotiques [12]. Dans des travaux antérieurs, il a été mis en évidence le rôle phytobénéfique de souches de *Pseudomonas* d'origine rhizosphérique sur la croissance de diverses espèces végétales telles que la tomate, le haricot, la pomme de terre, le blé dur et la fève [13, 14, 15]. Globalement, les actions de phyto-stimulation de ces bactéries sur l'amélioration des espèces ligneuses restent peu connues. Chez les espèces forestières, la phase de germination constitue un indicateur précoce et fiable du comportement de la plante adulte. Dans ce contexte, s'inscrit notre étude pour évaluer les aptitudes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* dans la stimulation de la germination *in vitro* des graines du cèdre (*Cedrus atlantica*) et d'une légumineuse arborescente (*Acacia atlantica*). En vue de leur application dans la bactérisation des semences, l'objectif est de mettre en évidence leurs potentialités en synthèse de métabolites secondaires impliquées dans le processus de phyto-stimulation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes BB10 et F21 de *Pseudomonas fluorescens* (Tableau 1) proviennent du laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Agrobiologiques (LPVRAB – Université de Blida 1). Dans des

travaux antérieurs, ces souches ont montré des potentialités appréciables de biocontrôle et de biostimulation de la croissance végétale [13, 14, 15]. Les cultures bactériennes pures sont obtenues après incubation de 24 à 36 heures sur milieu King B en vue de préparer l'inoculum bactérien et sa conservation à 4°C [16].

Tableau 1 : Origines des souches de *Pseudomonas fluorescens*

Souches	Plantes hôtes	Origine
BB10	Palmier dattier	Bechar (Beni Abbas)
F21	Palmier dattier	Ouargla

2. Synthèse de métabolites secondaires

L'étude porte sur la mise en évidence des aptitudes des deux souches de *Pseudomonas* (BB10 et F21) dans la synthèse de métabolites secondaires reconnus dans les mécanismes d'action en phytostimulation.

2.1. Production de l'acide indole acétique (AIA) :

La production de l'acide indole acétique (AIA) est mise en évidence selon la méthode colorimétrique décrite par Ahmed et al. [17]. Les souches bactériennes sont cultivées dans le milieu NB (Nutrient Broth) additionné de L-Tryptophane à des différentes concentrations (1 ; 2 et 5mg/ml). Après incubation à 25°C pendant une semaine, les suspensions bactériennes sont centrifugées (300 rpm, 30 minutes), 2 ml de surnageant ont été supplémentés de deux gouttes d'acide orthophosphorique et de 4 ml de réactif Salkowski (35% d'acide perchlorique ; 2% de FeCl₃ (0.5 M)). Le milieu NB non inoculé est utilisé comme témoin négatif. L'apparition d'une couleur rose indique la présence de l'acide indole dans le milieu.

2.2. Solubilisation du phosphore (les phosphatases)

La capacité des souches bactériennes BB10 et F21 à dissoudre le phosphate tricalcique Ca₃(PO₄)₂ a été testée selon la méthode décrite par Gupta et al. (1994). Les bactéries sont déposées sous forme de spots sur le milieu solide Pikovskaya (PVK) [18]. Après incubation à 28°C pendant 5 jours, le diamètre du halo clair ainsi formé, indicateur de phosphatase, qui entoure la colonie bactérienne est mesuré.

2.3. Production de sidérophores

La production des sidérophores a été réalisée selon les techniques d'Alexander et Zuberber [19]. Les cultures bactériennes sont déposées en

spots sur le milieu Chrome Azurol S (CAS) et incubées pendant 72 heures à 28°C. L'apparition d'un halo orangeâtre sur le fond bleuté du milieu indique la synthèse de sidérophores.

2.4. Production de cyanure d'hydrogène

La production de cyanure d'hydrogène (HCN) a été recherchée par la technique de Voisard et al. [20]. Les souches bactériennes de 24 heures sont ensemencées sur milieu King B supplémenté avec 4.4 g/l de glycine. Du papier Whatman (N°1) imprégné d'une solution de couleur jaune (acide picrique à 0.5% et 2% de bicarbonate de sodium) est déposé aseptiquement sur la face interne du couvercle de la boîte de Pétri et scellé par le para film. Après incubation à 28°C pendant 4 jours, la production d'HCN se traduit par le virage du papier du jaune à l'orange.

3. Stimulation de la germination

Les essais de la germination sont réalisés avec des graines du cèdre d'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), issues de la cédraie de Tikdjda (Parc national de Djurdjura, Algérie) et sur les graines de la légumineuse arborescente (*Acacia nilotica*) provenant d'une région saharienne (Tamanrasset, Algérie). Les graines des deux espèces forestières proviennent de la collection de l'institut de la recherche forestière (INRF) Institut National de la Recherche Forestière (Baynem - Alger).

3.1. Prétraitement des graines

Afin d'éviter une éventuelle dormance tégumentaire, une légère scarification mécanique des graines d'acacia avec du papier abrasif a été effectuée. Les graines du cèdre ont subi un traitement chimique par trempage des graines dans de l'eau oxygénée (30% pendant 30 minutes).

Les graines prétraitées sont désinfectées par trempage dans l'hypochlorite de sodium (6°, 20 minutes), et rincées trois fois à l'eau distillée stérile.

3.2. Mise en germination

Les graines bactérisées par les inoculas de *Pseudomonas* (10^8 UFC/ml) sont déposées aseptiquement sur une double couche de papier filtre Whatman N°1 dans des boîtes de Pétri. Nous avons utilisé pour chaque traitement étudié, 100 graines réparties sur 10 boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre (à raison de 10 graines par boîte). Ces boîtes sont mises dans une chambre de culture à 25°C. Afin de maintenir une humidité relative suffisante, 3ml d'eau distillée stérile sont apportés pour chaque boîte de Pétri. Les graines témoins (non bactérisées) sont conduites selon le même protocole. Le dispositif expérimental adopté est une randomisation totale de six traitements avec 10 répétitions : Témoins non inoculés (*Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*), BB10-*Cedrus atlantica*, BB10-*Acacia nilotica*, F21-*Cedrus atlantica*, F21-*Acacia nilotica*. Le nombre de graines germées est noté quotidiennement pendant une période de 7 jours pour l'acacia et de 18 jours pour le cèdre. La graine est considérée germée à l'apparition de la radicule.

3.3. Paramètres de germination

-Le taux de germination (G %) est calculé selon la formule suivante: $G (\%) = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre total des graines testées}} \times 100$
 -La vitesse de germination est calculée selon la formule appliquée par Sadeghi et al. [21] : $TMG (\text{jours}) = \sum (Gi$

$X Ji) / Gt$. Avec : **Gi** : Taux de germination du jour i, **Ji** : nombre de jours depuis le semis, **Gt** : Nombre total des graines germées.

A la fin de l'expérimentation, la longueur de la radicule et de la plumule sont mesurées à l'aide d'une règle graduée. Ces paramètres morphologiques nous ont permis de calculer l'indice de vigueur (VI : Vigour index) [22].
 $VI = \text{Taux de germination} \times [\text{Longueur de la radicule (cm)} + (\text{Longueur de la plumule (cm)})]$

4. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats est basée sur l'analyse de la variance à l'aide du logiciel STAT-BOX végétal version 6.9. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test de Newman-Keuls à seuil de probabilité de 5% [23].

RÉSULTATS

1. Métabolites secondaires

Les souches BB10 et F21 de *Pseudomonas fluorescens* sont productrices d'AIA (Acide Indole Acétique), de sidérophores, d'HCN (Cyanure d'Hydrogène) et de phosphatases (Tableau 2). La capacité de production est révélée suite à l'apparition de la couleur rose à rouge dans le milieu de culture après l'addition du réactif Salkowski. L'intensité est variable selon les souches et la concentration du L-tryptophane; elle est beaucoup plus importante avec les concentrations les plus élevées. La production maximale de l'AIA est notée chez la souche BB10.

Tableau 2 : Production de métabolites secondaires par les souches de *Pseudomonas fluorescens*

Souches	AIA	Sidérophores	Solubilisation du phosphore	HCN
BB10	++	++	+ (22,5mm)*	++
F21	+	++	++ (27,5mm)*	+

AIA : Acide indole acétique, HCN : Acide cyanhydrique, + : moyennement productrice ; ++ : fortement productrice ; * : Diamètre de l'halo de solubilisation du phosphore.

Les deux souches bactériennes (BB10 et F21) solubilisent le phosphore dans le milieu solide PVK contenant des phosphates tricalciques comme seule source de phosphore. La formation d'un halo clair autour des colonies indique la présence de substance dissolvant le phosphore; sa solubilisation est plus prononcée avec la souche F21 (27.5mm) par rapport à la souche BB10 (22.5mm). Les deux souches bactériennes ont montré un halo orangeâtre net sur le milieu Chrome Azurol S (CAS) indiquant la production de sidérophores.

La production d'acide cyanhydrique est observée chez les deux souches bactériennes (BB10 et F21). Après 72 Heures d'incubation, la souche BB10 a montré une production plus importante que la souche F21, en virant la couleur du papier imprégné d'acide picrique vers l'orangée foncée.

2. Stimulation de la germination

La bactérisation des semences des deux espèces forestières, avec les souches BB10 et F21 de *Pseudomonas fluorescens*, a induit un effet significatif sur le taux de germination par rapport aux témoins non bactérisés (Figure 1).

L'effet positif est plus perceptible sur les graines de cèdre bactérisées avec la souche BB10 dont le taux de germination est plus élevé (67%) par rapport à la souche F21 (50%). Le

plus faible taux de germination a été enregistré chez les témoins (37%). Avec les graines d'acacia, nos essais n'ont pas pu mettre en évidence des différences significatives.

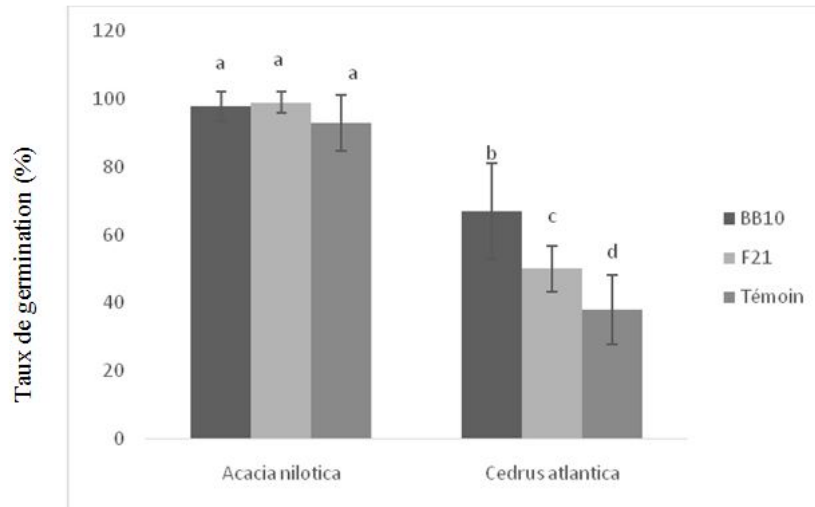


Figure 1: Effet de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (BB10 et F21) sur le taux de germination de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.
 Les traitements désignés avec la même lettre ne présentent pas de différences significatives à $\alpha=5\%$.
 Les valeurs avec la même lettre (a, b, c ou d) ne révèlent pas de différence significative ($\alpha\leq 5\%$)

La bactérisation a induit une diminution de la durée de germination par rapport aux témoins non inoculés. En effet, la germination est plus précoce dans le cas des graines de cèdre bactérisées avec la souche BB10 où la durée moyenne de germination est de 14, 15 jours, alors qu'elle est relativement plus lente (15, 55

jours) chez les témoins et même avec l'application de la souche F21 (Figure 2). En moyenne, les taux de germination restent similaires avec les graines d'acacia bactérisées par les deux souches bactériennes et les traitements témoins.

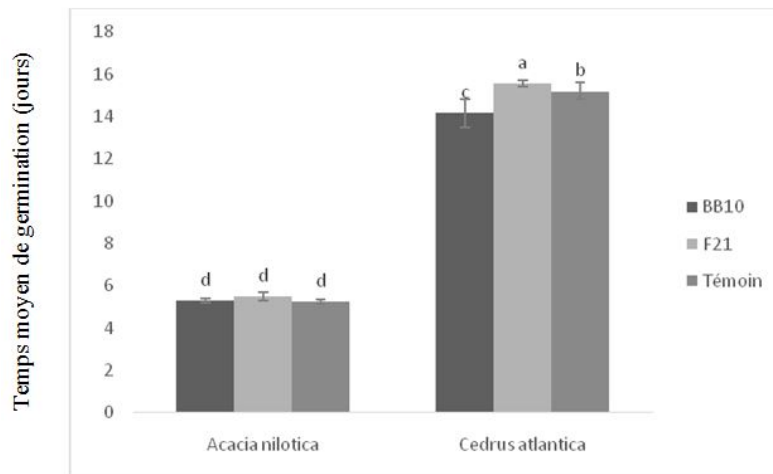


Figure 2: Effet de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (BB10 et F21) sur le temps moyen de germination de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.
 Les traitements désignés avec la même lettre ne présentent pas de différences significatives à $\alpha=5\%$.
 Les valeurs avec la même lettre (a, b, c ou d) ne révèlent pas de différence significative ($\alpha\leq 5\%$)

La croissance racinaire est significativement stimulée chez les graines bactérisées (Figures 3 et 4). Une augmentation notable en longueur racinaire (4,4 cm) est observée après bactérisation des graines de cèdre avec la souche F21 par rapport à celles inoculées avec

la souche BB10 (3,7 cm), qui restent supérieures aux témoins (3 cm). Chez les graines d'acacia, la bactérisation n'a pas induit des effets significatifs sur le développement racinaire.

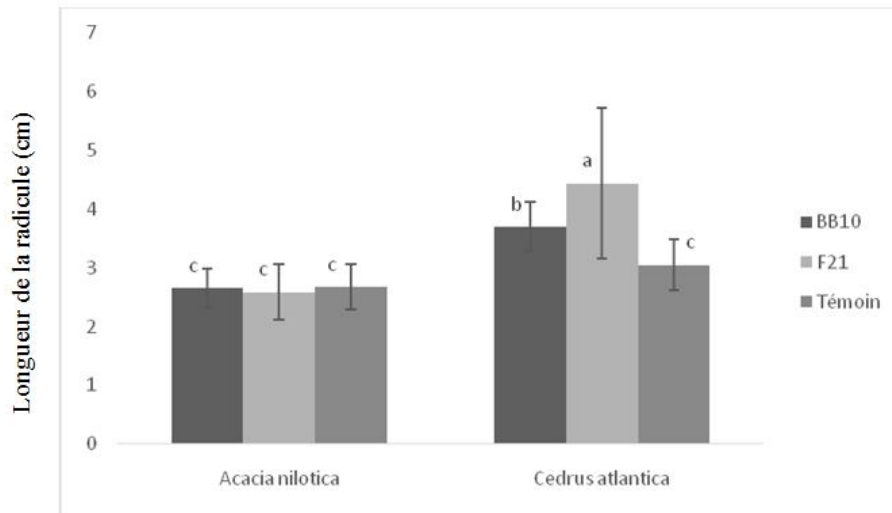


Figure 3: Effet de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (BB10 et F21) sur la croissance racinaire de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.

Les traitements désignés avec la même lettre ne présentent pas de différences significatives à $\alpha=5\%$.
Les valeurs avec la même lettre (a, b, c ou d) ne révèlent pas de différence significative ($\alpha\leq 5\%$)

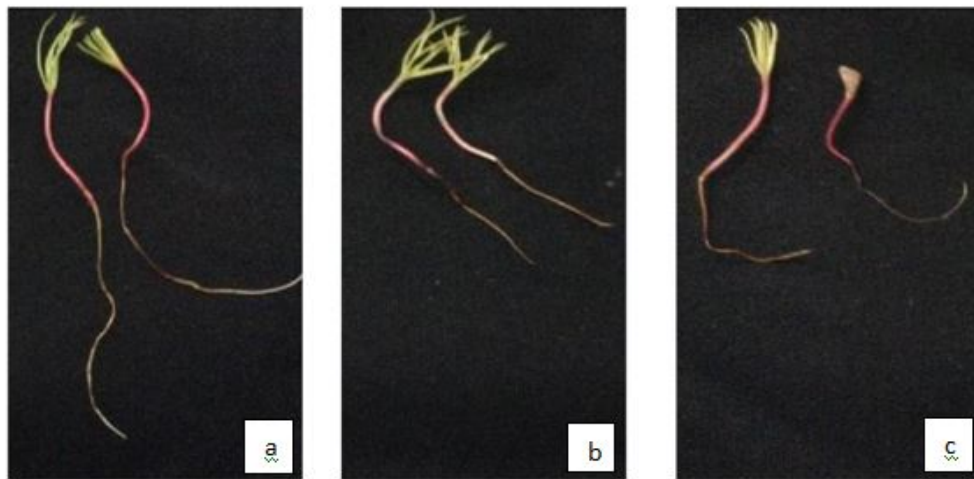


Figure 4 : Stimulation de la croissance du cèdre

(a): bactérisé par la souche F21; (b): bactérisé par la souche BB10; (c): témoin non bactérisé.

Après la germination, nous avons constaté également que la bactérisation a un effet stimulant sur la hauteur de la plumule du cèdre (Figure 5). En effet, la hauteur de la plumule chez les graines du cèdre bactérisées avec la souche F21 est de 3,87 cm. Chez les témoins et les graines inoculées par la souche BB10, les hauteurs respectives sont de 2,66 cm et de 2,92 cm. Concernant les graines d'acacia, les effets ne sont pas significatifs, d'ailleurs c'est chez les témoins que nous avons relevé la valeur la plus élevée (2,42cm). Du fait que les hauteurs moyennes sont plus faibles chez les traitements bactérisés (F21 = 1,79 cm; BB10 = 1,95 cm),

nous pouvons dire qu'il peut y avoir un effet inhibiteur interactif avec les graines d'acacia. L'activité germinative a été influencée positivement, suite à la bactérisation des graines, en se traduisant par l'augmentation des valeurs de l'indice de vigueur (Figure 6). Ainsi, la vigueur exprimée est très apparente chez le cèdre bactérisé avec la souche F21 (497,29), suivie par la souche BB10 (327,83). Les graines d'acacia bactérisées ont également montré des valeurs inférieures (BB10 = 449,03; F21 = 446,92) par rapport aux témoins respectifs, naturellement conduits sans bactérisation (466,90).

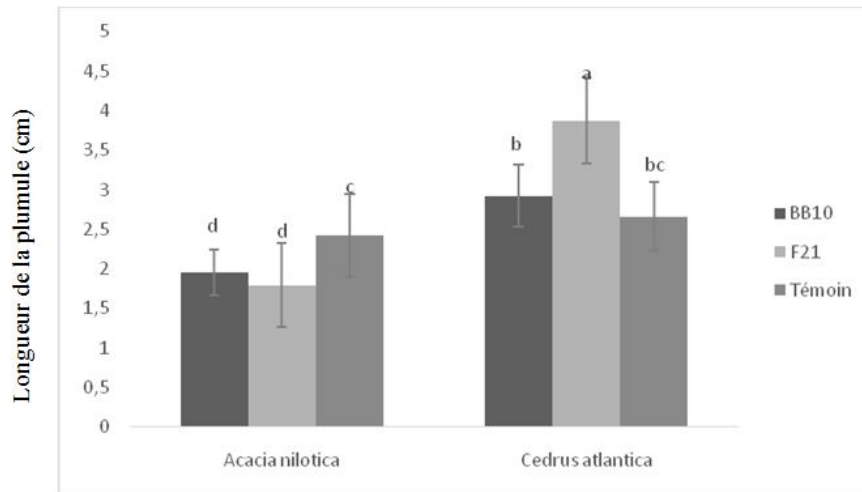


Figure 5: Effet de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (BB10 et F21) sur la croissance de la plumule de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.

Les traitements désignés avec la même lettre ne présentent pas de différences significatives à $\alpha=5\%$.
Les valeurs avec la même lettre (a, b, c ou d) ne révèlent pas de différence significative ($\alpha\leq 5\%$)

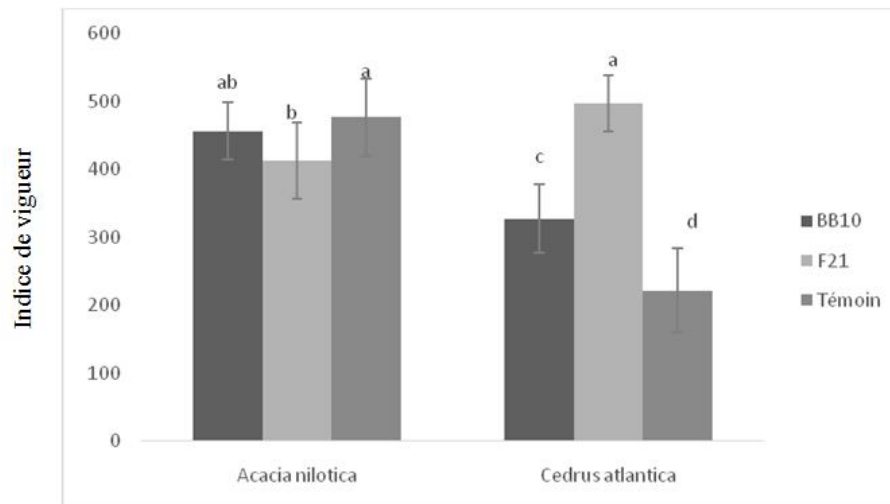


Figure 6: Effet de la bactérisation par les souches de *Pseudomonas fluorescens* (BB10 et F21) sur l'indice de vigueur de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*.

Les traitements désignés avec la même lettre ne présentent pas de différences significatives à $\alpha=5\%$.
Les valeurs avec la même lettre (a, b, c ou d) ne révèlent pas de différence significative ($\alpha\leq 5\%$)

DISCUSSION

Les rhizobactéries bénéfiques peuvent être utilisées comme biofertilisants efficaces pour l'amélioration des paramètres de croissance, notamment le taux de germination des semences. Notre étude a pour objectif d'estimer les effets de l'inoculation de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* sur la phase de germination des graines de *Cedrus atlantica* et *Acacia nilotica*. Les résultats obtenus ont démontré l'aptitude des souches bactériennes à synthétiser des métabolites secondaires en l'occurrence l'acide indole acétique, les sidérophores, l'H₂CN et les phosphatases. La

bactérisation des semences avec les deux souches de *P. fluorescens* a révélé des effets phytobénéfiques notables particulièrement sur l'amélioration de la germination des graines de *Cedrus atlantica*. Ces effets positifs sont d'autant plus marqués sur le taux de germination et la durée moyenne nécessaire au déclenchement de la germination suite à l'application de la souche BB10. L'amélioration des paramètres de croissance, notamment la longueur de la racine, la hauteur de la plumule et de l'indice de vigueur est induite par l'inoculation avec la souche F21. Dans de nombreux travaux, il a été mentionné des effets de phytostimulation, induite par la

bactérisation de diverses espèces végétales avec des souches de *Pseudomonas*, notamment dans les cas du sorgho [24]; de la tomate, de la laitue [25]; du blé [26]; du maïs [27]; de la betterave à sucre [28]; du soja [29]; du riz [08] et du pin d'Alep [30].

La stimulation de la germination et l'amélioration de la croissance végétale par les rhizobactéries (BB10 et F21) peuvent être liées à leur capacité de produire des hormones de croissance ou régulateurs de croissance analogues aux phytohormones, telles que l'acide indole acétique (AIA), et les gibbérellines, ...etc. Bien qu'au stade de germination, la plupart des éléments nutritifs proviennent des réserves de la graine, les auxines et gibbérellines produites par les rhizobactéries peuvent agir comme stimulants [31]. La présence du L-tryptophane dans le milieu est indispensable pour la biosynthèse de l'acide indole acétique par les bactéries rhizosphériques [32]. Ces derniers auteurs ont signalé que la production de l'AIA par la souche WCS365 de *P. fluorescens* dépend de la concentration de L-tryptophane présente dans les exsudats racinaires des plantes. Notre étude a démontré que l'intensité de production de l'AIA par les souches bactériennes est influencée par la concentration du L-tryptophane dans le milieu de culture. Ce même constat est déjà rapporté par Ahmad et al. [17] et Gupta et Pandey [33]. Pendant la germination, les régulateurs de croissance d'origine bactérienne pénètrent à travers les téguments de la semence, après leur dissolution dans l'eau, et accélèrent la croissance racinaire en facilitant l'absorption des substances du milieu environnant [34]. Selon Patten et Glick [35], l'inoculation des graines de *Brassica rapa* par la souche GR12-2 de *P. putida* a induit des formations racinaires plus longues, avec des gains variant de 35 à 50 % par rapport à l'application de souches bactériennes déficientes en AIA ainsi que chez les témoins non inoculés. L'augmentation du volume racinaire (surface et longueur) permet à la plante d'élargir son plan d'occupation du sol où le rhizoplan exploité devient plus accessible à l'exploitation et à l'acquisition des éléments nutritifs telluriques. Il est rapporté que l'AIA provoque un relâchement des parois cellulaires au niveau des radicelles [36], ce qui permet de faciliter les exsudations, sources d'énergie pour le développement des populations bactériennes [37].

Les graines de *C. atlantica* bactérisées avec les souches BB10 et F21 ont germé plus rapidement. Les auxines et les gibbérellines synthétisées par les rhizobactéries sont responsables de l'activation des enzymes spécifiques favorisant une germination précoce [38]. L'auxine d'origine bactérienne peut favoriser la croissance directe des racines, en stimulant directement l'élongation et la division des cellules végétales, ou indirectement en influençant l'activité de l'acide 1-aminocyclopropane 1-carboxylate (ACC) désaminase [39]. L'acide 1-aminocyclopropane 1-carboxylate (ACC) (précurseur immédiat de la biosynthèse de l'éthylène dans les plantes) est métabolisé en alpha-ketobutyrate et en ammoniac par l'enzyme ACC désaminase synthétisée par les rhizobactéries [40]. Ainsi, le niveau d'éthylène dans la plante est réduit, ce qui permet d'accroître la croissance racinaire. De même, l'AIA synthétisé par les souches de *Pseudomonas* stimule la prolifération latérale des racines, ce qui augmenterait les surfaces d'absorption, permettant ainsi une grande assimilation de l'eau et des éléments nutritifs du sol et donc une meilleure tolérance au stress salin, à la sécheresse et aux sources de pollution [12]. La stimulation de la croissance du système racinaire permet une nutrition améliorée donc un meilleur développement de la partie aérienne. D'après nos résultats, nous avons remarqué que l'élévation de la partie racinaire est corrélée à l'augmentation de la longueur de la plumule chez le cèdre inoculé par la souche F21. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Satrani et al. [41]. Cette influence très positive, induite par la présence de la souche F21, sur la longueur racinaire du cèdre pourrait avoir également un effet favorable sur l'implantation des microorganismes symbiotiques au niveau de la plante hôte tels que les mycorhizes [41]. Nos deux souches bactériennes (BB10 et F21) agissent positivement sur le développement de diverses espèces végétales, telles que la tomate, le concombre, la pomme de terre, le blé et la fève [13, 14, 15]. Donc, elles peuvent promouvoir de manière non spécifique la croissance des plantes. Il a été rapporté que de nombreuses souches de *Pseudomonas* spp fluorescents présentent un bon potentiel d'adaptation et de colonisation rhizosphérique [42], additionné à leur capacité de métaboliser une large gamme d'exsudats racinaires [43].

Nos résultats montrent que l'effet de phytostimulation est très prononcé sur le cèdre que sur l'acacia. L'inoculation des graines d'acacia par les souches bactériennes (BB10 et F21) a montré un effet inhibiteur pour certains paramètres de croissance (longueur de la racine, la hauteur de la plumule et l'indice de vigueur). L'effet inhibiteur peut être dû à l'HCN produit par les souches bactériennes. L'HCN a un rôle dans la suppression des microorganismes et affecte aussi négativement le développement et la croissance végétale [44]. Il a été démontré que l'HCN a un effet délétère sur la biosynthèse de l'auxine provoquant ainsi une inhibition de la croissance des racines primaires d'*Arabidopsis* [45]. Les acacias présentent une certaine dépendance vis-à-vis des souches de *Rhizobium* [5], ceci peut supposer que l'association *Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* permettra dans nos conditions expérimentales une meilleure amélioration. Les effets phytobénéfiques incluent l'amélioration de l'alimentation minérale de la plante en phosphore, en azote et en fer. Nos résultats ont montré la capacité des souches BB10 et F21 à solubiliser le phosphate tricalcique et à synthétiser les sidérophores. Les rhizobactéries augmenteraient la concentration en phosphore soluble assimilable par les plantes, soit par minéralisation des phosphates, ou par solubilisation des phosphatases inorganiques sous l'effet des acides [9]. *Pseudomonas putida* solubilise le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et de l'acide 2-cétogluconique [46]. L'inoculation par les bactéries solubilisant le phosphore est une technique efficace permettant d'atténuer la carence en phosphore, la réduction de la quantité des engrais chimiques et l'utilisation du phosphore déjà présent dans le sol [47]. Les sidérophores (pyoverdines) synthétisés par les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont sécrétés dans le milieu pour chélater et transporter le fer à proximité des racines. Une amélioration du taux de germination, de la croissance de la longueur racinaire et de la hauteur de la tige a été observée chez le blé inoculé par les souches productrices de sidérophores [48]. En outre, la production de l'acide cyanhydrique a été confirmée chez nos souches BB10 et F21 de *P. fluorescens*. L'HCN produit par les souches de *Pseudomonas* est impliqué dans la suppression de différents agents pathogènes en agissant directement sur les cellules en bloquant les cytochromes oxydases dans la chaîne

respiratoire [49]. Cette substance volatile peut agir comme un inducteur de la résistance systémique [50]. Dans des travaux précédents, l'activité inhibitrice de la souche BB10 et de la souche F21 a été démontrée vis-à-vis de *Fusarium* f.sp *lycopersici* [14]. Ainsi, la bactérisation des semences, des plantules ou des substrats de cultures induit une colonisation précoce, ce qui assure au système racinaire une protection éventuelle contre les agents pathogènes du sol [51].

CONCLUSION

Notre étude démontre que les deux souches *Pseudomonas fluorescens* BB10 et F21 synthétisent l'acide indole acétique, des sidérophores, de l'HCN et solubilisent le phosphate tricalcique. La bactérisation a induit une amélioration de l'ensemble des paramètres de germination notamment le taux de germination, le temps moyen de germination et l'indice de vigueur. Cet effet positif est très remarquable sur le cèdre. Dans ce travail préliminaire, l'importance réside dans ces résultats d'interactions positive phytobénéfique, non symbiotique, entre *Pseudomonas fluorescens* et les essences forestières, notamment le cèdre. Certes l'étape de germination n'est pas suffisante, mais il s'agit bien d'une garantie indiscutable quant au devenir des futurs plants et de leur développement dans des conditions leur permettant une meilleure tolérance aux stress biotiques et abiotiques. Une investigation des stades phénologiques ultérieurs de ces espèces végétales en conditions contrôlées et non contrôlées est nécessaire. Les retombées d'une telle étude, complèteraient ces résultats et contribueraient à mieux appréhender l'exploitation de ces rhizobactéries, ressources biologiques durables, comme biostimulants et bioprotecteurs afin d'obtenir des plants de bonne qualité pour les programmes de reboisement en pépinière forestière.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1].F.A.O. **Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (2012)**. L'état des ressources génétiques forestières mondiales. Rapport national ALGERIE. Edition 2012. 58p.
- [2].Arfa AMT., Benderradji MEH., Saint-Geraud T & Alatou DJ. (2019). Cartographie du service du feu de forêt le nord-est algérien : Cas de la wilaya d'El Taraf. *European Journal Geography Environnement, Nature, Paysage*, document 899.

- [3].Rabhi KH., Akli A., Yahi N., Boudedja S., Messaoudene M. (2018). Bilan et croissance des reboisements de cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* (Endl) Carrière, en Algérie: cas du Djurdjura et de l'Atlas blidéen. Bois et Forêts des Tropiques. Vol.337, 3^e trimestre. pp. 3-15.
- [4].Messaoudene M., Loukkas A., Janin G., Tafere M., Dilem A., González J. (2004). Propriétés physiques du bois d'éclaircie des cèdres (*Cedrus atlantica*), contenant du bois de compression, provenant de l'Atlas du Djurdjura (Algérie). *Annals of Forest Science*, 61: 589-595.
- [5].Fikri-Benbrahim K., Berrada H., Elghachtouli N. & Ismaili M. (2014). Les acacias: des plantes fixatrices d'azote prometteuses pour le développement durable des zones arides et semi-arides. *International Journal of Innovation and App Studies*. Vol. 8 n°1, pp. 46-58.
- [6].Lamhamedi MS., Ammari Y., Fecteau B., Fortin JA., Margolis HA. (2000). Problématique des pépinières forestières en Afrique du Nord et stratégies de développement. *Cah Agric*, 9:369-380.
- [7].Singh P., Kumar Singh R; Zhou Z; Wang J., Jiang Y., Shen N., Wang Y., Jiang M. (2022). Unlocking the strenght of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review. *Journal Plant interactions* Vol.17 N°1, 220-238.
- [8].Etesami H., Hosseini HM., Alikhani HA., Mohammadi L. (2014). Bacterial Biosynthesis of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Deaminase and Indole-3-Acetic Acid(IAA) as Endophytic Preferential Selection Traits by Rice Plant Seedlings. *J Plant Growth Regul*, 33:654-670.
- [9].Alabouvette C. & Cordier C. (2018). Fertilité biologique des sols: des microorganismes utiles à la croissance des plantes. *Innovations Agronomiques*, 96, 61-70.
- [10].Jiao X., Takishita Y., Zhou G. & Smiyh DL. (2021). Plant Associated Rhizobacteria for Biocontrol and Plant Growth Enhancement. *Forest Plant Sci* 12:634796.
- [11].Sharma S., Rochlani A., Dalwani A., Shaikh NB., Shaikh N. & Saraf M. (2022). Plant Growth promoting rhizobacteria as biofertilizers: Application in agricultural sustainability. *Acta Scientific Microbiology*, 5,4: 12-21.
- [12].Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T., Bakaeva M., Loginov O., Dodd IC. (2019). Phytohormone mediated of interactions between plant and no symbiotic growth promoting rhizobacteria under edaphic stresses. *Front Plant Sci*, 10:1368.
- [13].Benchabane M. (2005). Caractérisation des effets d'antagonisme microbien et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Thèse Doctorat d'état FSB- UTHB, Alger, Algérie 23Op.
- [14].Benoussaid N. (2018). Etude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolisme secondaire lié au biocontrôle et la phytostimulation chez les *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Thèse Doctorat. USD, Blida, Algérie 185p.
- [15].Ouserir S., Chennaoui N. & Benchabane M. (2018). Effets de la bactérisation par *Pseudomonas* et *Rhizobium fabae* sur la stimulation de la nodulation et de la croissance de la fève (*Vicia faba* L. Var.Histal). *Rev Agrobiologia* 8 (1): 775-785.
- [16].King EO., Wark MK. & Raney DE. (1954). Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal Laboratory and Chemical medicine*, 44:301-307.
- [17].Ahmed F., Ahmed I., Khan MS. (2005). Indole acetic production by indigenous of *Azobacter* and Fluorescent in the presence and absence of tryptophan. *Turk J Biol*, 29:29-34.
- [18].Pikovskaya RL. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*:17, 362-370.
- [19].Alexander DB. et Zuberer DA. (1991). Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol Fertil Soils*, 12, 39 - 45.
- [20].Voisard C., Keel C., Haas D. & Défago G. (1989). Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO.J*, 8:351-358.
- [21].Sadeghi H., Fardin K., Leila Y. & Saman S. (2011). Effect of seed osmopriming on seed germination behavior and vigor of soybean (*Glycin max* L.). ARPN. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(1): 39-43.
- [22].Abdul-baki AA., Anderson JP. (1973). Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Sci*, 13: 630-633.
- [23].Dagnelie P. (2003). Principes d'expérimentation. Planification des expériences et analyse de leurs résultats. Les presses agronomiques de Gembloux. 397p.
- [24].Ameer Bacha S., Raghavendra M., Nagesh kumar V., Dharma Reddy K & Sudhakar R. (2013). Performance of native Fluorescent *Pseudomonas* on in vitro seed germination and seedling vigour of *sorghum bicolor* (L.) Moench. *Internotionnal Journal Bioressources and Stress Management*, 4(4): 487-491.
- [25].Mangman JS., Deaker R., Rogers G. (2014). Effets of Plant Growth Rhizobacteria on seed germination characteristics of tomato and lettuce. *Journal of Tropical Crop Science*, Vol.1 N°2.
- [26].Egamberdieva D., Kucharova Z. (2009). Selection root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol Fertil Soil*, 45, 563-571.
- [27].Egamberdieva D. (2007). The growth and nutrient uptake of maize inoculated with plant growth promoting bacteria affected by different soil types. *App Soil Ecol*, 36, 184-189.
- [28].Cakmakci, R., Kantar F. & Sahin F. (2001). Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J Plant Nutr Soil Sci*, 164:527-531
- [29].Cattelan AJ., Hartel PG., Fuhrmann JJ. (1999). Sreening of plant growth promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci Soc Am J*, 63, 1670-1680.
- [30].Dominguez JA, Delgado-Alvez D., Berrocal-Labo M., Anriquez A.& Albanesi A. (2015). Controlled-release fertilizers combind with *Pseudomonas fluorescens* rhizobacteria inoculum improve growth in *Pinus halepensis* seedling. *Forest. Biogeosciences and Forestry*, 8(1), P.12.
- [31].Minaxi, Nain L., Yadav RC., Saxena J. (2012). Characterization of multifaceted Bacillus sp RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts. *App Soil Eco*, 59, 124-135.

- [32].Kamilova F., Kravchenko LV., Shaposhnikov AI., Azarova T.,Makarova N., Lugtenberg BJJ. (2006). Organic acids, sugars and L- tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol Plant Microbe Interact*, 19: 250-256.
- [33].Gupta S. & Panty S. (2019). Unravelling the biochemist try and genetics of ACC deaminase- an enzyme alleviation the biotic and abiotic stress in plants. *Plant Gene*, 18: 100175.
- [34].Cassan F., Perrig O., Sgroi V., Masciarelli O., Penna C & Luna V. (2009). *Azospirillum brasilense* AZ39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combinaison, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45, 28-35.
- [35].Patten CL & Glick BR. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indol acetic acid in development of host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*,68, 3795-3801.
- [36].Glick BR. (2012). Plant Growth Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, Vol. 2012. 15p.
- [37].Etesami H., Alikhani H.A & Hosseini HM. (2015). Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agent. *Methods X2*, 72-78.
- [38].Taiz L.& Zeiger E. (2010). "Plant Physiology", 690p. Sunderland: Sinauer Associates, 5th edition, Sunderland, USA.
- [39].Jacobson CB., Pasternak JJ., Glick BR. (1994). Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can J Microbiol*, 40:1019-1025.
- [40].Glick B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol Res*, 169, 30-39.
- [41].Satrani B., El Ouadihi N., Guedira ABDH., Frey-Kle P., Arahou M., Garbaye J. (2009). Effet de la bactérisation des graines sur la croissance des plants de *Cedrus atlantica* Manetti. *Biotech Agron Soc Environ*, 13(3), 367-372.
- [42].Hernández-Leon R., Rojas-Solis D., Contreras-Pérez M., Orozco-Mosqueda M. del.C., Macias-Rodriguez LI & Reyes de la Cruz H. (2015). Characterization of antifungal and plant growth – promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol Control*, 81: 83-92.
- [43].Chin-A-Woeng TF., Bloemberg GV. , Mulders IH., Dekkers IC. & Lugtenberg BJ. (2000). Root colonization by phenazines-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 is essential for biocontrôle of tomato foot and root. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 1340-1345.
- [44].Siddiqui IA., Shaikat SS., Sheikh IH.& Khan A. (2006). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6: 641-650.
- [45].Rudrappa T., Splaine RE., Biedrzycki ML. & Bais HP. (2008). Cyanogenic pseudomonads influence multitrophic interactions in the rhizosphere. *PLOS One3*: e 2073.
- [46].Khan A, Jilani G., Akhtar MS., Naqvi SMS. , Rasheed M. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria: Occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J Agric Biol Sci*, 1(1): 48-58.
- [47].Verma RK., Verma SK., Pankaj U., Gupta AK., Khan K. & Shankar. (2015). Improvement in the yield and quality of kalmegh (*Andrographis paniculata* Nees) under the sustainable production system. *Nat Prod Res*, 29, 297-300.
- [48].Sayed R., Badgujar MD., Sonawane HM., Mhaske MM & Chincholkar SB. (2005). Production of microbial iron chelators (siderophores) by fluorescent *Pseudomonads*. *Indian J Biotech*, 4: 484-490.
- [49].Panpatte DG., Shlat HN., Vyas RV.& Jhala YK. (2014). Plant growth promoting rhizobacteria- A promising tool for eco-friendly agriculture. *J Pure App Microbiol*, 8(6).
- [50].Kumar A., Devi S., Patil C & Negi S. (2012). Isolation screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an *in vitro* study. *Recent Res Sci Technol*, 4: 01-05.
- [51].Asharafuzzaman M., Akhtar Hassan F., Razi Ismail M., Anamul Hoque MD., Zahurul Islam M., Meon S. (2009). Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal Biotechnology*, 8(7), 1247-1252.