



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DES RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB_BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE DES PRODUCTIONS VEGETALES
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master II académique en

Phytopharmacie et protection des végétaux

Thème

**Incidence des extraits aqueux sur la flore microbienne du sol
Cas de l'olivier**

Par

Mlle : AHMED SEGHIR Sihem et Mlle : ADADAINE Hassina

Devant le Jury :

M. MOUSSAOUI K.	MAA	U. Blida 1	Président
M. DJAZOULI Z. E.	Pr.	U. Blida 1	Promoteur
Mme SELAHI KH.	Doctorante	U. Blida 1	Co-promotrice
Mme. BRAHIMI L.	MCB	U. Blida 1	Examinatrice

Année Universitaire 2019-2020

Sommaire

Remerciement.

Dédicace.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations.

Introduction générale.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.	Présentation de l'olivier.....	2
I.1.	Historique de l'olivier.....	2
I.2.	Caractéristiques biologique et morphologique de l'olivier.....	2
I.3.	Systématique de l'olivier.....	2
I.4.	Cycle végétatif de l'olivier.....	3
I.4.1.	Cycle de développement	3
I.4.2.	Cycle végétatif annuel	4
I.5.	Répartition géographique	4
I.5.1.	Dans le monde	4
I.5.2.	En Algérie	5
I.6.	Principales variétés d'olivier algériennes	6
I.7.	Les exigences économiques de la culture d'olivier	7
I.7.1.	Les exigences climatiques	7
I.7.2.	Les exigences en eau	8
I.7.3.	Exigences édaphiques	8
II.	La nutrition des plantes	8
II.1.	Eléments majeurs	9
II.2.	Eléments mineurs	10
III.	Les biofertilisants	11

III.1.	Les engrais d'origine végétale	12
III.2.	Le vermicompost	12
IV.	La fertilité et les microorganismes du sol	12
IV.1.	La fertilité du sol	12
IV.2.	Les microorganismes existant dans le sol et leur rôle	13

Chapitre II : Matériels et méthodes.

Objectif.....	14	
II.1.	Présentation du site d'étude et conditions expérimentales	14
II.2.	Méthode d'étude	15
II.2.1.	Analyse de sol	15
II.2.2.	Préparation des extraits aqueux	16
II.2.3.	Flore microbienne	16
II.2.3.1.	Echantillonnage	16
II.2.3.2.	Isolement des microorganismes	16
II.2.3.3.	Enrichissement. Isolement des bactéries du sol	17
II.2.3.4.	Isolement des bactéries sur milieu solide	17
II.2.3.5.	Dénombrement des bactéries	18
II.2.3.6.	Observation macroscopique	19
II.2.3.7.	Observation microscopique	19
II.2.3.7.1.	Coloration de gram	19
II.2.3.7.2.	Purification des isolats	19
II.2.3.7.3.	Conservation des isolats	19
II.2.3.7.4.	Test biochimique.....	20

Chapitre III : Résultats et discussion .

III.1.	Caractérisation du sol	22
III.2.	Effet du sel sur les <i>pseudomonas</i> spp fluorescents	22
III.3.	Mise en évidence de l'effet du cuivre sur la croissance des <i>pseudomonas fluorescens</i>	24

III.4.	Produits Résiduaire Organique (PRO) et communauté microbienne	
	du sol : Quel effet un an après l'apport?.....	26
	Synthèse	28
	Conclusion.....	30
	Références.....	33

Incidence des extraits aqueux sur la flore microbienne du sol cas d'olivier.

Résumé

La fertilisation organique c'est une technique fondamentale dans la conduite des cultures, elle influence directement la microflore des plantes.

L'importance agronomique et économique de l'olivier (*Olea europaea. L*) nous à diriger à mener ce travail dont l'objectif est d'évaluer l'efficacité de la microflore de l'olivier en optimisant la fertilisation, pour cela nous avons testé l'efficacité de différents types des biofertilisants à base d'extrait végétales et de vermicompost en comparaison avec des engrais chimiques, en tant que pesticides de l'olivier.

Les résultats des expériences confirment l'importance des biofertilisants :

De plus, d'après ces expériences ont déjà étudié concernant l'effet du sel sur les *Pseudomonas* spp. Fluorescents, on constate que le comportement de *Pseudomonas* peut être directement influencé par la salinité.

Concernant l'effet de cuivre sur la croissance des *Pseudomonas* spp, ces derniers ayant le pouvoir de résister au cuivre et même de l'accumuler à des concentrations inférieures à 1.5 mM. Ils ont aussi démontré que le type de milieu de culture utilisé joue un rôle important dans la croissance des *Pseudomonas* spp fluorescents et même celui qui contient le cuivre.

L'évaluation de la rémanence des modifications des communautés induites par les PRO en d'autres termes, il s'agissait de déterminer si la modification des communautés par cette pratique est durable ou intervient seulement au moment de l'apport. Pour déterminer cela ils ont fait cette expérience pour déterminer si la modification des communautés par cette pratique est durable ou intervient seulement au moment de l'apport.

Dans ce travail, ils ont analysé l'impact à long terme de l'apport répété de PRO sur les communautés de bactéries du sol dans le cadre de deux sites expérimentaux du dispositif : le site de Feucherolles et le site de Colmar.

Pour conclure, sur le site de Feucherolles, l'apport de PRO conduit à une augmentation du niveau de biomasse un an après apport, A Colmar, un an après l'apport de PRO, le niveau de biomasse microbienne obtenue est comparable aux valeurs retrouvées sur les parcelles non amendées. Des études supplémentaires sont donc requises pour effectuer des recommandations en termes de fréquence d'apport des PRO

Mot clé : biofertilisant, extrait aqueux, flore microbienne, incidence, Olivier (*Olea europaea.L*).

Impact of aqueous extracts on soil microbial flora in the olive tree.

Abstract

Organic fertilization is a fundamental technique in the management of crops, it directly influences the microflora of plants.

The agronomic and economic importance of the olive tree (*Olea europaea*. L) lead us to carry out this work, the objective of which is to evaluate the effectiveness of the microflora of the olive tree by optimizing fertilization, for this we have tested the effectiveness of different types of biofertilizers based on plant extracts and vermicompost in comparison with chemical fertilizers, as pesticides of the olive tree.

The results of the experiments confirm the importance of biofertilizers:

In addition, according to these experiments, we have already studied the effect of salt on *Pseudomonas* spp. Fluorescent, it is observed that the behavior of *Pseudomonas* can be directly influenced by salinity.

Regarding the effect of copper on the growth of *Pseudomonas* spp, the latter having the power to resist copper and even to accumulate it at concentrations below 1.5 mM. They also demonstrated that the type of culture medium used plays an important role in the growth of fluorescent *Pseudomonas* spp and even that which contains copper.

Evaluating the persistence of OWP-induced community changes in other words, was to determine whether the change in communities by this practice is sustainable or only occurs at the time of intake. To determine this they did this experiment to determine if the modification of communities by this practice is sustainable or only occurs at the time of intake.

In this work, they analyzed the long-term impact of repeated intake of PRO on soil bacteria communities at two of the device's experimental sites: the Feucherolles site and the Colmar site.

To conclude, at the Feucherolles site, the addition of PRO leads to an increase in the level of biomass one year after the addition, In Colmar, one year after the addition of PRO, the level of microbial biomass obtained is comparable to the values found. on unamended plots. Additional studies are therefore required to make recommendations in terms of frequency of OWP intake

Keyword: aqueous extract, biofertilizer, incidence, microbial flora, Olive tree (*Olea europaea*.L)

تأثير المستخلصات المائية على الميكروبات في التربة في شجرة الزيتون.

ملخص

يعتبر الإخصاب العضوي تقنية أساسية في إدارة المحاصيل ، فهو يؤثر بشكل مباشر على النباتات الدقيقة

تقودنا الأهمية الزراعية والاقتصادية لشجرة الزيتون

إلى تنفيذ هذا العمل ، الذي يهدف إلى تقييم فعالية النباتات الدقيقة لشجرة الزيتون من خلال تحسين (*Olea europaea*. L) الإخصاب ، لذلك لدينا اختبارات فعالية لأنواع مختلفة من الأسمدة الحيوية المعتمدة على المستخلصات النباتية والسماذ الدودي بالمقارنة مع الأسمدة الكيماوية ، كمبيدات حشرية لشجرة الزيتون

نتائج التجارب تؤكد أهمية الأسمدة الحيوية

لوحظ أن سلوك الزوائف *Pseudomonas spp*.... بالإضافة إلى ذلك ، درسنا بالفعل تأثير الملح عليها بشكل مباشر

فإن هذا الأخير لديه القدرة على مقاومة لبكتيريا وحتى تراكمه *Pseudomonas spp* فيما يتعلق بتأثير النحاس على نمو بتركيزات أقل من 1.5 ملي مولار. كما أوضحوا أن نوع وسط الاستزراع المستخدم يلعب دورًا مهمًا في نمو البكتيريا

وحتى تلك التي تحتوي على النحاس *Pseudomonas spp*

هو تحديد ما إذا كان التغيير في المجتمعات من OWP بعبارة أخرى ، كان تقييم استمرار التغييرات المجتمعية التي يسببها. خلال هذه الممارسة مستدامًا أو يحدث فقط في وقت القبول. لتحديد ذلك ، قاموا بهذه التجربة لتحديد ما إذا كان تعديل المجتمعات من خلال هذه الممارسة مستدامًا أو يحدث فقط في وقت الاستيعاب

على مجتمعات بكتيريا التربة في اثنين من المواقع PRO في هذا العمل ، قاموا بتحليل التأثير طويل المدى للتناول المتكرر لـ Colmar. وموقع Feucherolles التجريبية للجهاز: موقع

إلى زيادة مستوى الكتلة الحيوية بعد عام واحد من الإضافة ، في PRO ، تؤدي إضافة Feucherolles في الختام ، في موقع ، يمكن مقارنة مستوى الكتلة الحيوية الميكروبية التي تم الحصول عليها بالقيم PRO ، بعد عام واحد من إضافة Colmar OWP الموجودة. على قطع الأراضي غير المعدلة. لذلك ، يلزم إجراء دراسات إضافية لتقديم توصيات من حيث تكرار تناول

(*Olea europaea*.L) الكلمة الرئيسية: سماذ حيوي ، مستخلص مائي الميكروبات، نسبة حدوث ، شجرة زيتون

Dédicace

Aujourd'hui et après toutes ces années j'ai l'honneur et surtout le plaisir de Dédier ce travail de master a toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en Moi et me donne des raisons de devenir meilleure.

A mes parents

A mes chers frères et ma sœur

Sihem

Dédicace

*A ma chère maman, que dieu la garde et la
protège.*

A ma famille (ma sœur et mon frère).

A toutes les personnes qui m'aiment.

Hassina

Remerciement :

Nous remercions DIEU tout puissant qui nous a donnés le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail ;

Nous remercions très sincèrement les membres de jury, le président : Monsieur MOUSSAOUI K et l'examinatrice : Madame BRAHIMI L, ayant acceptés d'évalué ce travail ;

Nous remercions chaleureusement notre promoteur Monsieur DJAZOULI Z pour sa disponibilité à toute épreuve, pour sa gentillesse et sa patience, pour ses orientations et ses remarques fructueuses. Tout notre respect et notre gratitude, merci ;

Nous remercions Madame SELAHI KH pour son aide dans ce travail

Nous remercions tous nos collègues de la promotion Phytopharmacie.

Merci

Liste des figures :

Numéro de figure	Titre	Page
1	Aspect général de l'olivier	3
2	Cycle végétatif annuel d'olivier	4
3	Répartition de la culture de l'olivier dans le monde	5
4	Carte oléicole d'Algérie	6
5	Présentation de parcelle expérimentale	13
6	Schéma hypothétique de l'étude	14
7	Dispositif expérimental	15
8	Dilution de solution mère et ensemencement sur milieu GN	17
9	Effet de différentes concentrations de NaCl sur le nombre de colonies de <i>pseudomonas</i> spp fluorescents	23
10	Evaluation de l'effet de sulfate de cuivre sur la croissance de de <i>pseudomonas fluorescens</i> dans le bouillon nutritif	24
11	Evaluation de l'effet de sulfate de cuivre sur la croissance de de <i>pseudomonas fluorescens</i> dans le milieu king B liquide	25
12	Evaluation de l'effet de sulfate de cuivre sur la croissance de de <i>pseudomonas fluorescens</i> dans deux milieux liquides (king B et bouillon nutritif)	25
13	Evaluation de croissance de <i>pseudomonas fluorescens</i> dans deux milieux liquides (king B et bouillon nutritif)	26
14	Effet des PRO sur la biomasse microbienne des sols provenant des SOERE de Colmar et Eucherolle	28

Listes des tableaux :

Nombre de tableau	Titre	page
1	Cycle végétatif de l'olivier	3
2	Résultats d'analyse de sol	22

Liste des abréviations.

BN : Bouillon Nutritif.

CMI : Concentration minimale d'inhibition

FAO : Food and Agriculture Organization

GN : Gélose Nutritif.

mM : Millimole par litre

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria

PRO : Produits Résiduaire Organiques

Introduction générale :

L'intérêt des biopesticides d'origine végétale, comme alternatifs aux applications fortuites d'une pharmacopée aveugle s'est développé, en particulier ceux qui préservent un environnement sain, biodégradables, non toxiques et spécifiques dans leur action, gagnent une attention considérable (**Sharma, 2008**). Ils sont également nécessaires pour combattre l'évolution de la résistance aux produits de synthèses (**Isman, 2000**). Les nouvelles recherches ont soulevé la possibilité d'employer de nouveaux composés naturels qui peuvent agir en tant que biopesticides (**Regnault, 2012 ; Kassi, 2014 ; Voldeng, 2014**). La lutte contre les microorganismes pathogènes par l'application de pesticides naturels a pris un envol très important dans les stratégies alternatives aux pesticides de synthèse. Ces derniers sont à l'origine de beaucoup de maladies de plantes. Ils causent de grandes pertes de rendement dans les champs et affectent la qualité des aliments en conservation (**Laplace, 2006**).

Les maladies causées par les microorganismes pathogènes telluriques ou foliaires sont de plus en plus problématiques. L'utilisation de compost et d'extrait végétaux peut représenter une solution intéressante, mais la limite de cette technique réside pour l'instant dans les variations de la qualité de ces produits (**Hoitink et Kutter, 1994 ; Hoitink et al., 1997**).

Dans les sols, il existe une diversité d'espèces de bactéries extrêmement forte de l'ordre d'un million d'espèces par gramme de sol. Elles peuvent être classées de plusieurs manières : sur la base de leurs caractéristiques (morphologie, métabolisme, ressources nutritives...), sur la base de leur génome ou par grandes catégories de fonctions (**München, 1958**). Avec les champignons, les bactéries du sol sont considérées comme les ingénieurs chimiques du sol. Elles réalisent un très grand nombre de fonctions impliquées par exemple dans la minéralisation des matières organiques, le cycle de l'azote, la disponibilité du phosphore ou encore la dégradation de molécules phytosanitaires. Par ailleurs, elles peuvent être impliquées dans la régulation de la croissance racinaire. Les bactéries du sol sont impliquées dans la décomposition de la matière organique, formant l'humus et libérant des nutriments disponibles pour les plantes (**München, 1958**). Les communautés microbiennes, et notamment bactériennes jouent un rôle dans le maintien de l'état structural du sol ce qui confère au sol à la fois une structure grumeleuse, une capacité à stocker de l'eau et une moindre sensibilité à l'érosion (**München, 1958**).

L'objectif de l'étude étant avant tout une potentielle utilisation des bioproduits par le secteur utilisateur, il nous est apparu capital de rester le plus proche possible de la réalité du terrain. Le but est d'évaluer l'efficacité des extraits aqueux en tant que régénérateur de la charge microbienne du sol .

I. Présentation de l'olivier

I.1. Historique de l'olivier

Les premières traces sauvages de l'olivier ont été retrouvées en Asie mineure. Des fouilles sur des sites préhistoriques ont permis de retrouver des feuilles fossilisées datant du paléolithique ou du néolithique ainsi que des traces de charbon et de pollens, en bordure du Sahara datant d'environ 12000 ans avant J-C. On ne connaît pas avec certitude le lieu où l'homme a commencé à cultiver l'olivier, mais on s'accorde à reconnaître que 3500 ans avant J-C, elle se serait faite en Syrie (**Loumou, 2003**). De la Grèce à l'Espagne en passant par l'Égypte, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et la France, l'olivier va s'implanter durablement sur tout le pourtour méditerranéen jusqu'au XIXe siècle. Avec la période des grandes découvertes puis de la colonisation, il traverse même le détroit de Gibraltar pour voyager vers des pays plus "exotiques" comme la Californie, le Mexique, le Chili, l'Afrique du Sud, l'Australie (**Moreaux, 1997**).

I.2. Caractéristiques biologiques et morphologiques de l'olivier

Sa nomenclature vulgaire dérive de deux souche méditerranéennes : d'une part le non grec: oléum d'origine égéenne passe directement au latin *Olea* et, d'autre part, le nom hébreux Zait ou Sait est passé dans l'arabe Zaitun (**Pagnol, 1975 in Bellahcene, 2004**).

I.3. Systématique de l'olivier :

Selon la classification de **Pagnol (1975)**, l'olivier présente la classification suivante :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Spermaphytes (Phanérogames)*

Sous-embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones (ou Thérébinthales)*

Sous-classe : *Astéridées (ou Gamopétales)*

Ordre : *Gentianales (ou Lingustrales)*

Famille : *Oleacées*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europea*

L'olivier (*Olea europea L.*), espèce caractéristique du paysage méditerranéen appartient à la famille des Oléacées, caractérisée par des fleurs hermaphrodites régulières, à pétales soudées, à deux étamines, à deux ovules par loge. Ce sont des plantes ligneuses à feuilles opposées et à fruits charnus (Fig. 1) (**Flahault, 1986 ; Morettini et al., 1972**). Le genre *Olea* regroupe 30 espèces différentes, la plupart sont des arbustes ou des arbres, originaires des régions chaudes où les conditions de croissance sont relativement difficiles (**Zohary, 1995**). Ces espèces sont réparties sur les cinq

continents : l'Afrique, l'Asie, l'Amérique, l'Europe et l'Australie (Tous et Ferguson, 1996).



Figure 1 : Aspect générale de l'olivier (Fouraste, 2002).

I.4. Le cycle végétatif de l'olivier

I.4.1. Cycle de développement

Le cycle de développement de l'olivier comprend à quatre périodes essentielles (Tableau 1) (ITAF, 2012)

Tableau 1 : Cycle végétatif de l'olivier .

Période	Caractéristique
Jeunesse	C'est la période de croissance du jeune plant, elle commence en pépinière pour se terminer au verger. Elle est caractérisée par une multiplication cellulaire très active, surtout au niveau du système racinaire. Elle s'étend de la première à la septième année.
Entrée en production	Elle s'étend de l'apparition des premières productions fruitières jusqu'à l'aptitude de l'arbre à établir une production régulière et importante.
Adulte	C'est la période de pleine production, car l'olivier atteint sa taille normale de développement ; et il y'a un équilibre entre la végétation et la fructification.
Sénescence	C'est la phase de vieillissement qui se caractérise par une diminution progressive des récoltes

I.4.2. Cycle végétatif annuel

D'après **Sebai et al. (2012)**, le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation, caractérisée essentiellement par le climat méditerranéen. Après la période de ralentissement des activités végétatives (repos hivernal) qui s'étend de novembre à février, le réveil printanier (mars-avril) manifeste par l'apparition de nouvelles pousses terminales et l'éclosion des bourgeons axillaires. Ces derniers, bien différenciés, donneront soit du bois (jeunes pousses), soit des fleurs. Au fur et à mesure que la température printanière s'adoucit, que les jours s'allongent et l'inflorescence se développe ; la floraison aura lieu en mai -juin. C'est en juillet –août que l'endocarpe se sclérifie (durcissement du noyau). Les fruits grossissent pour atteindre leur taille normale fin septembre-octobre. Suivant les variétés, la maturation est plus ou moins rapide (Fig. 2).

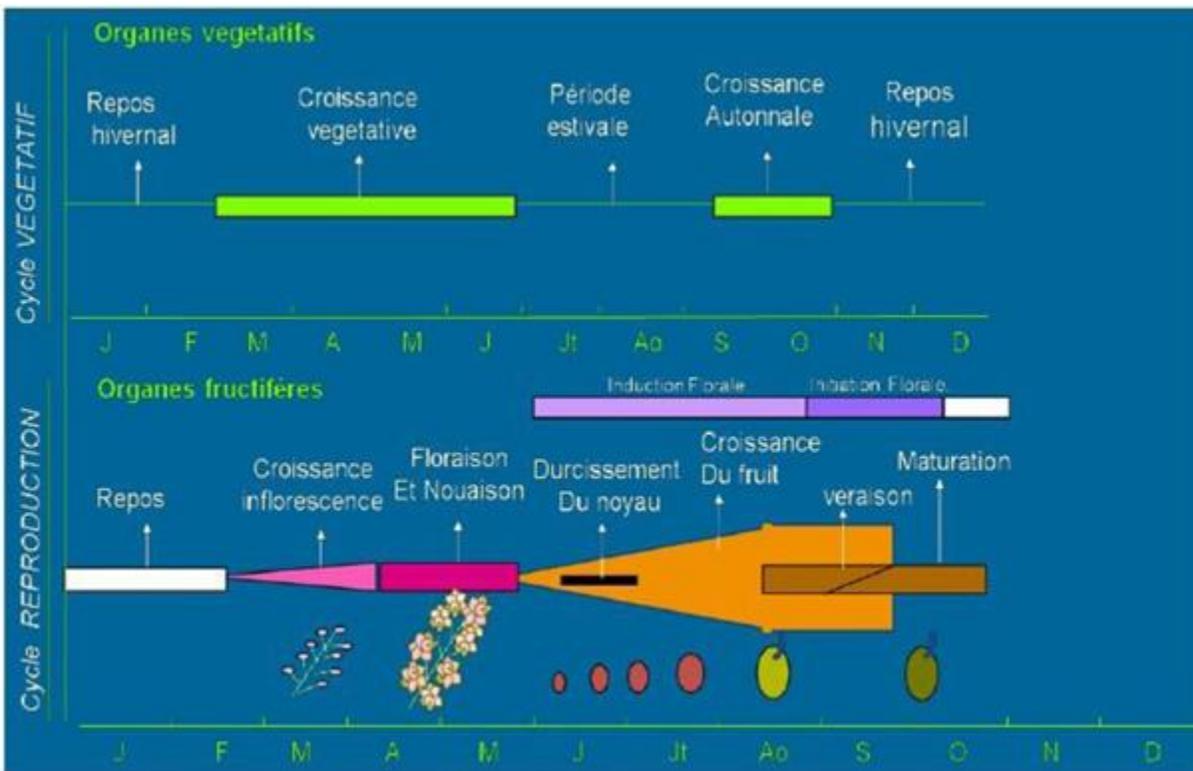


Figure 2 : Cycle végétatif annuel d'olivier (Rallo, 1998 ; Girona, 2001).

I.5. Répartition géographique

I.5.1. Dans le monde

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil,

Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Fig. 3) (Benhayoun et Lazzeri, 2007).



Figure 3 : Répartition de la culture de l'olivier dans le monde (COI, 2013)

La production mondiale est estimée en 2012 à 3.408.500 tonne Pour l'huile d'olive et 2.526.000 tonne d'olives de table (COI, 2013). Les dix premiers pays producteurs sont situés dans la zone méditerranéenne et fournissent 95% de la production mondiale. L'Espagne est le premier pays oléicole. Sa production moyenne d'huile d'olive a augmenté au cours des dernières années et sa production en 2012 est estimée à 1.613.400 tonnes d'huile d'olive. C'est également le premier producteur et exportateur d'olives de table, avec une production de 608.600 tonnes en 2008 (COI, 2013).

I.5.2. En Algérie

En 2000, la culture de l'olivier en Algérie occupait une superficie totale de 168080 hectares soit 33% des 500000 hectares de superficie arboricole nationale et 2% des terres agricoles cultivables. En 2010-2011, les prévisions de superficies oléicoles portent entre 325 000 à 350000 ha. La participation du secteur oléicole à la production finale agricole du pays était en moyenne de 21% en 1999-2005. La surface oléicole est répartie dans trois régions, la localisation est comme suit : 54% au Centre, 28% à l'Est où la variété chemlal domine dans ces deux régions et 17% à l'Ouest. La plupart des oliveraies (80%) sont situées dans des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux, peu fertiles et caractérisés par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900 mm/an. Le reste des oliveraies (20%) sont situées dans les plaines

occidentales du pays à savoir Mascara, Sig et Relizane où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300- 400mm. L'analyse des données statistiques de la superficie oléicole de la dernière décennie (1990/99) montre que la surface complantée a enregistré une baisse continue entre 1990 et 1995 en raison principalement de l'absence de soutien de l'État. La restructuration du secteur agricole en 1997 a permis d'augmenter de nouveau les surfaces oléicoles. Cette tendance s'est confirmée avec la relance du Plan National de Développement Agricole en 2000 et grâce au financement du secteur par le National de Régularisation et Développement Agricole. En 2005/2006 une superficie de 134520 ha étaient en production, 39497ha n'étaient pas encore entrés en production et 15449 ha devaient être plantés dans l'année. Actuellement la superficie est de l'ordre de 404784 ha (Fig. 4) (Anonyme, 2015).

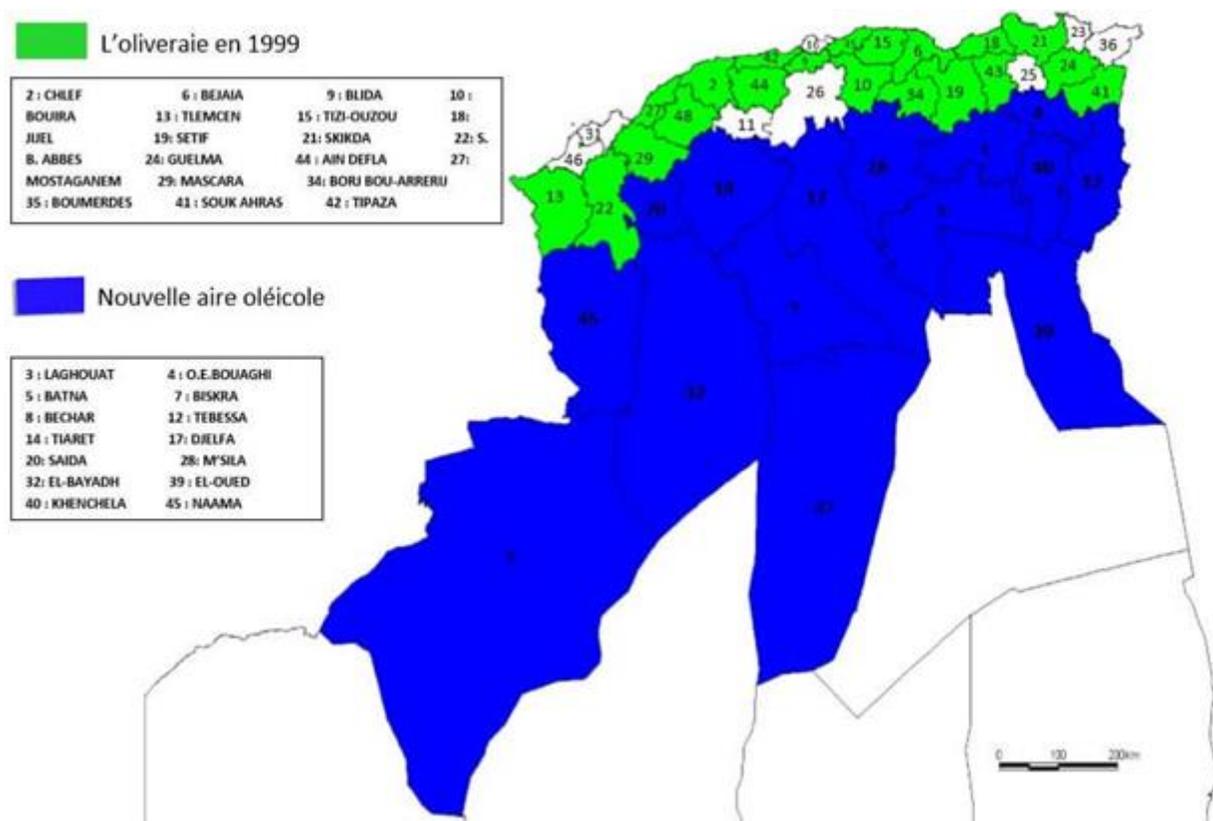


Figure 4 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)

I.6. Principales variétés d'olivier algériennes

L'Algérie dispose d'un patrimoine constitué de 164 cultivars autochtones et introduits de toute la méditerranée et même d'outre Atlantique. Les travaux de caractérisation entamés par **Mendil et Sebaï (2006)**, ont permis de répertorier 72 variétés autochtones dont 36 sont homologuées, le reste est en court de réalisation. Les variétés nationales

les mieux connues sont recommandées dans les régions d'origine. Selon l'utilisation il existe des :

-Variétés à huile : Abelout, Chemlal, Faneya, Haimel, Limli.

-Variétés à double aptitude ou double fin : Adzeradj, Blanquette de Guelma, Boechout de la Soummam, Bouchouk Lafayette, Sigoise (**Giuseppe Fontanazza et al., 1997**)

- **Azeradj** : Petite Kabylie (oued Soummam), occupe 10% de la surface oléicole nationale Arbre rustique et résistant à la sécheresse, utilisé pour la production d'huile et olive de table.
- **Blanquette de Guelma** : Originaire de Guelma ; assez répandue dans le Nord-est constantinois, Skikda et Guelma. Sa rigueur est moyenne, résistant au froid et moyennement à la sécheresse.
- **Bouricha,olive d'El-Ar rouch**: de El-Harrouch, Skikda. Arbre rustique, résistant au froid et à la sécheresse.
- **Sigoise**: cette variété est localisée au niveau des plaines de l'Ouest, et plus exactement dans la plaine de Sig dont elle porte le nom Sigoise. Elle dérive de la variété picholine française. La Sigoise est une variété fertile en culture soignée, tolérante aux eaux salées et moyennement résistante au froid et à la sécheresse. Elle se multiplie assez facilement par les techniques de bouturage classique tel que le bouturage herbacé ;(**Loussert et Brousse, 1978**). Cette variété est en extension sur tout le territoire national en particulier la steppe et les régions présahariennes grâce à son pouvoir d'adaptation aux conditions du climat rude de ces régions (**Mendil et Sebai, 2006**).

I.7. Les exigences écologiques de la culture d'olivier

I.7.1. Exigences climatiques

-La température

L'olivier est un arbre thermophile caractéristique des régions chaudes, malgré son aptitude à supporter les températures élevées de l'été, les températures supérieures à 40°C causeront des brûlures endommageant l'appareil foliacé ainsi que la chute des fruits (**Loussert et Brousse, 1978**). L'olivier ne supporte pas beaucoup le froid, en effet les températures négatives (-5 à - 6°C) peuvent être dangereuses (**Baldy, 1990**).

- **L'hygrométrie**, les fortes humidités de l'air peuvent être néfastes pour la croissance de l'arbre. Aussi, elles favorisent les maladies cryptogamiques comme elles gênent la

pollinisation anémophile, c'est pour cette raison que cette culture est à éviter à proximité immédiate de la mer (au moins 10 km) (**Lousert et Brousse, 1978**).

- **La lumière**, avec une bonne exposition au soleil, l'olivier donne des meilleurs rendements. Par ailleurs, les coteaux bien exposés au soleil (versant sud) présentent un meilleur développement (**Boukhari, 2014**). La lumière est un facteur déterminant au cours de la floraison. Selon **Daoudi (1994)**, l'évolution florale est inhibée sur les arbres qui ne reçoivent pas assez de lumière.

- **Le vent**, la pollinisation chez l'olivier est essentiellement anémophile. De ce fait, le vent joue un rôle primordial dans la production. Malgré son importance, l'olivier craint les vents chauds qui peuvent causer des brûlures sur les arbres et le dessèchement des stigmates au moment de la floraison ce qui engendrerait la destruction de la récolte (**Boukhari, 2014**).

I.7.2. Exigences en eau

Potentiels de l'olivier dépendent du climat et du type de sol de la région, ainsi que de la réserve d'eau disponible à la fin de l'hiver. L'olivier est un arbre typique du climat méditerranéen, étant assez résistant à la sécheresse (**Loussert et Brousse, 1978**). Enfin, une seule pluie courant le mois de septembre, favorise le grossissement et la maturation des fruits (**Laumonier, 1960**).

I.7.3. Exigences édaphiques

L'olivier connu pour sa plasticité, est cultivé dans toutes sortes de types de sol. Néanmoins, il préfère les sols légers à texture sableuse permettant le développement en profondeur et en largeur des racines. Selon **Lousert et Brousse (1978)** la profondeur du sol nécessaire à l'arbre doit être au minimum 1 à 1,5 m.

II. La nutrition des plantes

La nutrition des plantes est l'ensemble des processus qui permettent aux plantes d'absorber dans le milieu et d'assimiler les éléments nutritifs nécessaires à leur différente fonction physiologique : croissance, développement, reproduction. Le principal élément nutritif intervenant dans la nutrition des plantes est le carbone, tiré du dioxyde de carbone de l'air par les plantes autotrophes grâce au processus de la photosynthèse. Les plantes non chlorophylliennes, dites allotrophes ou hétérotrophes dépendent des organismes autotrophes pour leur nutrition carbonée. La nutrition fait appel à des processus d'absorption de gaz et de solutions minérales soit directement dans l'eau pour les végétaux inférieurs et les plantes aquatiques, soit dans le cas des végétaux vasculaires dans la solution nutritive du sol par les racines ou dans l'air par les

feuilles (**Peter, 1961**). Les racines, la tige et les feuilles sont les organes de nutrition des végétaux vascularisés : ils constituent l'appareil végétatif. Par les poils absorbants de ses racines, la plante absorbe la solution du sol, c'est-à-dire l'eau et les sels minéraux, qui constituent la sève brute (il arrive que les racines s'associent à des champignons pour mieux absorber la solution du sol, on parle alors de mycorhize). Par les feuilles, là où la photosynthèse s'effectue, la plante reçoit des acides aminés et des sucres qui constituent la sève élaborée. Sous les feuilles, les stomates permettent l'évaporation d'une partie de l'eau absorbée (dioxygène : O_2) et l'absorption du dioxyde de carbone (CO_2). Dans la tige, les deux types de sève circulent : la sève brute par le xylème et la sève élaborée par le phloème (**Peter, 2007**).

II.1. Élément majeur

L'Azote (N) : Son rôle est déterminant dans la vie de la plante. L'azote fait partie intégrante de la matière vivante. Il est combiné avec d'autres constituants dans les protéines, acides aminés, membranes cellulaires, etc. La chlorophylle, acteur fondamental de la photosynthèse est aussi un composé azoté (**F.A.O., 2005**).

Le Phosphore (P) : Le phosphore a un rôle déterminant dans les processus vitaux de croissance, de nutrition et de respiration. Il favorise le développement du système racinaire et il est très lié aux processus de fécondation, de fructification et de maturation des organes végétatifs (**F.A.O., 2005**).

Le Potassium (K) : Le potassium se trouve en grande quantité dans la plante et particulièrement dans la rafle du régime, les fibres et les coques des fruits. C'est un facteur nutritionnel majeur de la production. Il joue aussi un grand rôle dans la physiologie de la plante : il intervient dans l'assimilation chlorophyllienne, l'ouverture stomatique et la tolérance à la sécheresse et à la fusariose. (**F.A.O., 2005**)

Le Magnésium (Mg) : Cet élément est un constituant central de la chlorophylle et de nombreux systèmes enzymatiques. Il est associé au phosphore dans les phospholipides de l'huile de palme. Les symptômes de déficience, contrairement à ceux de K. apparaissent assez fréquemment mais avant que la production en soit affectée. Visibles sur les bordures de parcelles, plus ensoleillées, ils inquiètent souvent à tort le planteur. Des carences secondaires, provoquées par des excès de fumures potassiques (antagonisme K/Mg) ou phosphatées (antagonisme Ca/Mg), sont classiques. (**F.A.O., 2005**).

Le Calcium (Ca) : Il a des fonctions essentielles dans les échanges intercellulaires. Il est souvent présent dans les cellules sous forme de cristaux d'oxalate de calcium. Son

rôle est important dans le fonctionnement des méristèmes et le développement racinaire. (F.A.O., 2005).

Le Chlore (Cl) : C'est un élément essentiel de la nutrition minérale du palmier où, contrairement à bien d'autres plantes, il doit être considéré comme un élément majeur. Il joue un rôle important dans la physiologie du fruit (F.A.O., 2005).

Le Soufre (S) : Le soufre est présent en quantité appréciable dans la plante. Il est un constituant de certaines protéines et se trouve associé à la synthèse de la chlorophylle. Les carences en soufre sont rares. Elles peuvent apparaître sur des sols ferrallitiques très désaturés surtout au jeune âge. Elles provoquent des retards de croissance et peuvent être facilement corrigées par des apports de forme sulfate des engrais azotés ou potassiques (F.A.O., 2005).

II.2. Eléments mineurs

L'Aluminium (Al) : Cet élément est d'autant plus soluble que le pH est acide. L'aluminium peut devenir toxique en s'accumulant dans les racines et bloquer la croissance. Même si les effets de cette toxicité n'ont pu être clairement mis en évidence sur le palmier à huile, on recommande de s'en préserver lorsque les teneurs en Al sont élevées, en apportant une fertilisation phosphatée ou un amendement calcique destiné à relever le pH du sol (F.A.O., 2005).

Le Bore (B) : Le bore joue un rôle important dans le transport des glucides, la synthèse des protéines et la phosphorylation oxydative. La carence en bore est extrêmement spectaculaire, avec des anomalies morphologiques plus ou moins graves des feuilles provoquées lors des phases juvéniles et d'élongation de celles-ci : folioles en baïonnette ou gaufrées, réduction de la longueur du pétiole, du rachis et des folioles, jusqu'au stade de moignons. Une carence en bore prolongée et non corrigée peut aboutir à la mort de l'arbre par pourriture. Elle est fréquente au jeune âge et apparaît souvent dans les écologies très favorables où la vitesse de développement de la plante est très importante. L'apport de bore ne favorise pas de production supplémentaire si l'appareil aérien est normalement développé (F.A.O., 2005).

Le Cuivre (Cu) : Cet élément intervient dans la chaîne respiratoire (cytochrome oxydase) et le transport d'électrons dans le processus de la photosynthèse. La carence en cuivre se manifeste par une réduction de la croissance et un jaunissement de la couronne moyenne. Elle a été signalée sur sols tourbeux de Malaisie et de Sumatra (Indonésie), en pépinière et au champ au Brésil sur sols minéraux. Elle se corrige aisément par pulvérisations foliaires ou par applications de sulfate de cuivre au sol. (F.A.O., 2005).

Le Fer (Fe) : Le fer entre dans la composition de nombreuses enzymes de la photosynthèse, de la respiration et du cycle de Krebs. Les sols tropicaux en sont toujours suffisamment pourvus. La carence en fer n'a pas été observée en champ. **(F.A.O., 2005).**

Le Manganèse (Mn) : Il est nécessaire comme cofacteur de nombreux enzymes d'oxydoréduction et surtout dans le photosystème II de la photosynthèse. Le pH du sol a un effet marqué sur la disponibilité du manganèse. Bien que les niveaux foliaires puissent être très variables, aucun effet significatif sur l'état sanitaire ou la production n'a pu être observé **(F.A.O., 2005).**

Le Molybdène (Mo) : C'est un élément clé de l'assimilation de l'azote et sa disponibilité croît avec le pH du sol. Des apports de molybdène se sont avérés sans effet sur les teneurs en azote des feuilles **(F.A.O., 2005).**

Le Zinc (Zn) : Il joue un rôle dans la synthèse des protéines et le métabolisme auxinique. Il n'y a pas de variation nette des teneurs foliaires en fonction de celles du sol. L'absence de zinc dans la solution nutritive en aquaculture réduit très fortement la croissance des jeunes plantes sans modifier les teneurs foliaires. Des applications de sulfate de zinc au champ montrent que c'est un élément très bien absorbé par le palmier. Une carence double Cu/Zn a pu être mise en évidence au Brésil **(F.A.O., 2005).**

III. Les biofertilisants

Les biofertilisants sont définis comme des préparations contenant des cellules vivantes ou des cellules latentes de souches de micro-organismes efficaces qui aident à l'absorption des éléments minéraux par les plantes cultivées suite à leurs interactions dans la rhizosphère lorsqu'ils sont appliqués sur les semences ou dans le sol. Ils accélèrent certains processus microbiens dans le sol impliqués dans l'augmentation de la disponibilité des nutriments dans une forme facilement assimilable par les plantes **(Vessey, 2003).**

L'utilisation des engrais biologiques est proposée pour améliorer les rendements des cultures tout en assurant une meilleure durabilité des systèmes de culture **(Ohyama, 2006).** L'utilisation de biofertilisant permet d'apporter une réponse concrète aux enjeux actuels, et constitue une alternative naturelle à l'utilisation d'engrais chimique. **(Ohyama, 2006).**

III.1. Les engrais d'origine végétal

La culture d'engrais vert est une des pratiques de base de l'agriculture biologique. **(Technique ITAB, 2005)**. Les engrais verts sont des cultures établies entre les cultures principales pour couvrir et protéger le sol. Ils sont ensemencés après la récolte d'une culture et retournés ou détruits au printemps suivant **(CPVQ, 1993)**. La forme d'engrais vert la plus courante est représentée par les résidus végétaux. L'enfouissement d'une grande quantité de plantes non légumineuses ayant un ratio C/N élevé, peut entraîner une baisse de la quantité d'azote fixé par la culture suivante. Dans les zones où les précipitations sont faibles, les cultures pour engrais vert peuvent absorber l'humidité du sol au point de laisser la culture principale suivante souffrir de sécheresse **(Warman, 1981)**

III.2. Le vermicompost

Le vermicompostage se définit comme la dégradation contrôlée des déchets organiques par les vers de terre qui les transforment en déjection **(Skat, 1996)**. Le substrat final est composé d'excréments de vers de terre et de matière organique ayant évolué sous l'effet des micro-organismes et de l'action des vers de terre **(Laurent, 1995)**. Le vermicompost est utilisé comme amendement organique en agriculture et en horticulture **(Subler et al., 1998)**. Il est recommandé comme support pour les cultures en pot et contribue à une meilleure activité biologique des organismes vivants du sol et permet la formation et la stabilisation de la structure du sol **(Cavender et al., 2003)**. Il améliore la richesse et la capacité de rétention en eau, le drainage et l'aération du sol. Le vermicompost empêche l'érosion du sol et procure des antibiotiques et des éléments minéraux qui protègent les plantes ou stimulent leur croissance **(Inckel et al., 1997)**. Pendant le vermicompostage, les nutriments les plus importants tels que l'azote (N), le potassium (K), le phosphore (P) et le calcium (Ca) sont libérés et deviennent facilement absorbables pour les plantes **(Ndegwa et Thompson, 2001)**.

IV. La fertilité et les microorganismes du sol

IV.1. La fertilité du sol

Les définitions de la fertilité du sol sont nombreuses. Selon **Delville (1996)**, la notion de la fertilité du sol est ambiguë et renvoie à la fois aux caractéristiques du sol et à ce qu'en fait l'agriculteur (cultures et techniques). Du point de vue économique, la fertilité du sol est la capacité d'un milieu à favoriser durablement, et à des coûts aussi limités que possible, une production utile et particulière **(Serpentié et Ouattara, 2001)**. Sur le plan agronomique, **Young (1989)** la définit comme étant la capacité du sol à soutenir durablement la croissance des plantes, dans des conditions climatiques données et d'autres caractéristiques appropriées de la terre. Selon **Pieri (1989)**, la fertilité du sol

est un potentiel de production végétale dont l'appréciation est liée à la connaissance des composantes physiques.

IV.2. Les microorganismes existant dans le sol et leur rôle

Les organismes vivants du sol sont variés et nombreux. Un sol contient typiquement 10⁹ à 10¹⁰ microorganismes par gramme de sol (**Stéphanie et al., 2007**). Les organismes vivant du sol sont des bactéries, des champignons, des algues, les parties souterraines des plantes ainsi que des animaux très variés. Tous participent d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution de sol (**Gobat et al., 2003**). Les micro-organismes du sol, jouent un rôle fondamental dans les processus importants comme ; la régulation des cycles biogéochimiques (azote, carbone, soufre) (**Sasson, 1967**). Les bactéries forment tant au plan quantitatif qu'au plan fonctionnel le groupe majeur des microorganismes du sol (**Morel, 1989**). Les bactéries sont classées en bactéries autotrophe, utilisation de carbone sous forme minéral, et bactéries hétérotrophes utilisation de carbone sous forme organique (**Clement et Lozet, 2011**). Elles prolifèrent dans les milieux les plus riches en N et peu acides, un milieu aéré à pH supérieur à 6. Elles sont surtout abondantes autour des racines de certaines plantes (graminées, légumineuses) au sein de la rhizosphère (**Duchaufour, 2001**). Par leur durée de vie, ces derniers constituent une fraction importante de la matière organique humifiée, l'humine microbienne. Elles sont participantes à la formation des microagrégats. Mais c'est avant tout par leurs fonctions biogéochimiques, telles la minéralisation de la matière organique, la précipitation de minéraux, la transformation de certains composants organiques en humine (**Gobat et al., 2003**).

Objectif

L'objectif de notre travail vise à l'amélioration de la flore microbienne du sol par l'apport foliaire de divers biofertilisants à savoir, les extraits aqueux de la prêle, du Moringa et du vermicompost (déchets ménager dégradé par des vers de terre), par le comptage de la flore microbienne du sol.

II.1. Présentation du site d'étude et conditions expérimentales

Les essais de la présente étude ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche de Biotechnologie des productions végétales et le laboratoire de Phytopharmacie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Blida 1. L'essai a été conduit durant la période 19/01/2020 – 12/03/2020. L'expérimentation est réalisée dans les conditions semi contrôlées (Fig. 5). Durant toute la période d'expérimentation, la zone expérimentale enregistre une température oscillante entre 16 et 28°C avec une humidité relative de l'air variant entre 55 et 70%.



Figure 5 : Présentation de la parcelle expérimentale

L'expérimentation a été menée sur des plantes de l'olivier (*Olea europaea* L.), variété de Sigoise, Âgée de 4 ans. Les plantes de l'olivier ont été fournies par un agriculteur de la région de Bouinane, plantés dans des sachets en plastiques de 20,5 cm de hauteur

Chapitre II : Matériel et méthodes

et 13 cm de diamètre, ils sont de couleur noir ayant une capacité de 1500 ml et présentant des orifices de drainage à leur base permettant l'évacuation de la quantité d'eau excédentaire. Les sachets sont remplis de sol naturel. Le dispositif expérimental est composé de 5 blocs à raison de 10 plantes par traitement ce qui fait en total de 50 plantes.

- Bloc 1 : Témoin (irrigation par l'eau de ville)
- Bloc 2 : fertilisation à base de biofertilisant végétal (plante de la prêle)
- Bloc 3 : fertilisation à base de vermicompost
- Bloc 4 : fertilisation à base de biofertilisant végétal (plante de *Moringa oleifera*).
- Bloc 5 : fertilisation à base d'engrais chimique (correcteur de carence)

Les traitements sont effectués selon le schéma hypothétique ci-dessous (Fig. 6).

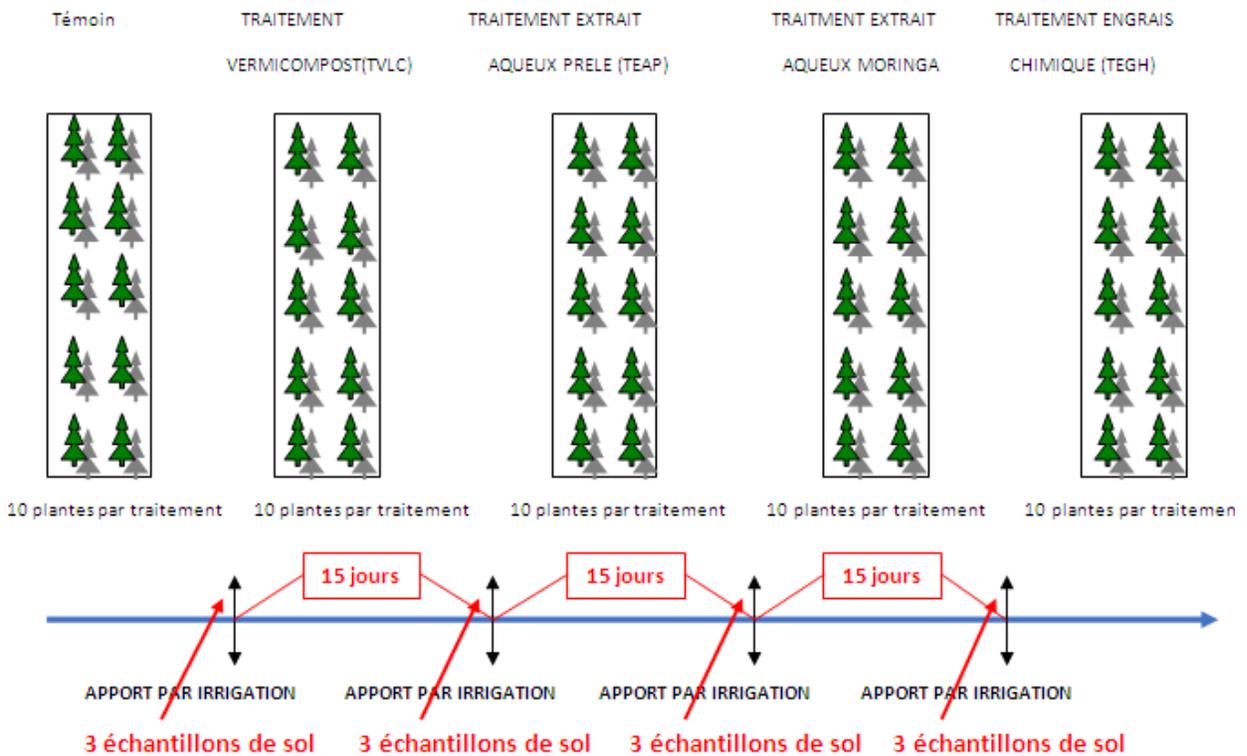


Figure 6 : Schéma Hypothétique de l'étude



Figure 07: Dispositif expérimental (Original, 2020)

II.2. Méthodes d'étude

II.2.1. Analyses de sol

Le sol a été prélevé de 3 à 5 centimètres de la surface et les analyses sont faites au niveau de laboratoire de pédologie, département de Biotechnologie (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Blida 1).

-**Le pH**, le pH d'une suspension diluée de 10 g de sol et 25 ml d'eau distillé a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre à électrode en verre à température ambiante avec agitation magnétique.

-**La matière organique**, la matière organique, qui renferme en moyenne 58 % de carbone, est estimée à partir du carbone organique déterminé par la méthode de **(Walkley et Black)** décrite par **(Nelson et Sommers)**. Le carbone d'un gramme (1g) de sol est oxydé en présence de 20 ml d'acide sulfurique par 10 ml de bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ N. Après agitation puis un repos de 30 minutes, la réaction est arrêtée avec 200 ml d'eau distillée, 10 ml de chlorure de baryum $BaCl_2$ et 5 ml d'acide orthophosphorique H_3PO_4 . On titre l'excès de bichromate de potassium par le sulfate ferreux $FeSO_4$ 0,5 N en présence de quelques gouttes de diphénylamine jusqu'à l'obtention d'une couleur vert-clair. Le carbone organique est converti en matière organique en le multipliant par le facteur 1,724.

- $\% M.O = \% C.100/58$
- $\%M.O = \% C. 1.724$

-Analyse Calcimétrique, la détermination de la teneur en CaCO_3 d'un échantillon brut est réalisée à l'aide du Calcimètre de Bernard. Une masse de 0,250g de l'échantillon finement broyé, est attaquée par l'acide chlorhydrique (HCl 10%). Le volume initial (V_i) correspond à celui à l'équilibre des deux volumes d'eau respectifs dans le tube en verre et l'ampoule mobile avant l'attaque acide. Le volume final (V_f) correspond à celui à l'équilibre des deux volumes d'eau après l'attaque acide.

Le volume de CO_2 dégagé correspond à la différence :

$$\Delta V = V_f - V_i$$

La manipulation s'est déroulée dans les conditions suivantes :

$$T = 25^\circ\text{C}, P = 1\text{Atm et } k = 0,432.$$

II.2.2. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont préparés selon la méthode décrite par **Roye et al., 2011**. La procédure prévoit une macération à froid de la poudre végétal dans de l'eau distillée. Après agitation, les macérât obtenus ont été centrifugés à une vitesse de 4000 tr/min. Le surnageant est récupéré puis conservé à l'obscurité dans des flacons de couleur sombre (Annexe 01).

II.2.3. Flore microbienne

II.2.3.1. Echantillonnage

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'une spatule stérile à une profondeur de 20 cm. Pour chaque échantillon le sol prélevé est mis dans des flacons en verre stériles. Les échantillons de sols obtenus sont ensuite tamisés à 5 mm puis à 2 mm pour éliminer les éléments grossiers et les débris organiques. Les échantillons de sols sont conservés au frais (4°C).

II.2.3.2. Isolement des microorganismes

La flore bactérienne des échantillons de sol a été analysée avant l'application des traitements des extraits et le traitement chimique en utilisant la méthode des suspensions-dilutions (**Rapilly.F, 1968**); 10g de chaque sol tamisé sont mis dans 90 ml d'eau distillé stérile on obtient 10^{-1} , Après agitation pendant 20 min, des dilutions décimales de 10^{-2} jusqu'à 10^{-6} sont réalisées en conditions d'asepsie.

II.2.3.3. Enrichissement. Isolement des bactéries du sol

Afin de dénombrer la microflore bactérienne existant dans l'échantillon, la solution mère du sol est préparée (10gr de sol dans 90mL de l'eau distillé stérile) suivie d'une série de dilutions Décimales allant de 10^{-1} (solution mère) à 10^{-6} en conditions d'asepsie.

II.2.3.4. Isolement des bactéries sur milieu solide

On prélève 0,1 ml de chaque dilution préparée qu'on ensemence par étalement sur les boîtes De Pétri contenant de la GN à l'aide d'un râteau. L'incubation des boîtes se fait à 30°C pendant 24h.

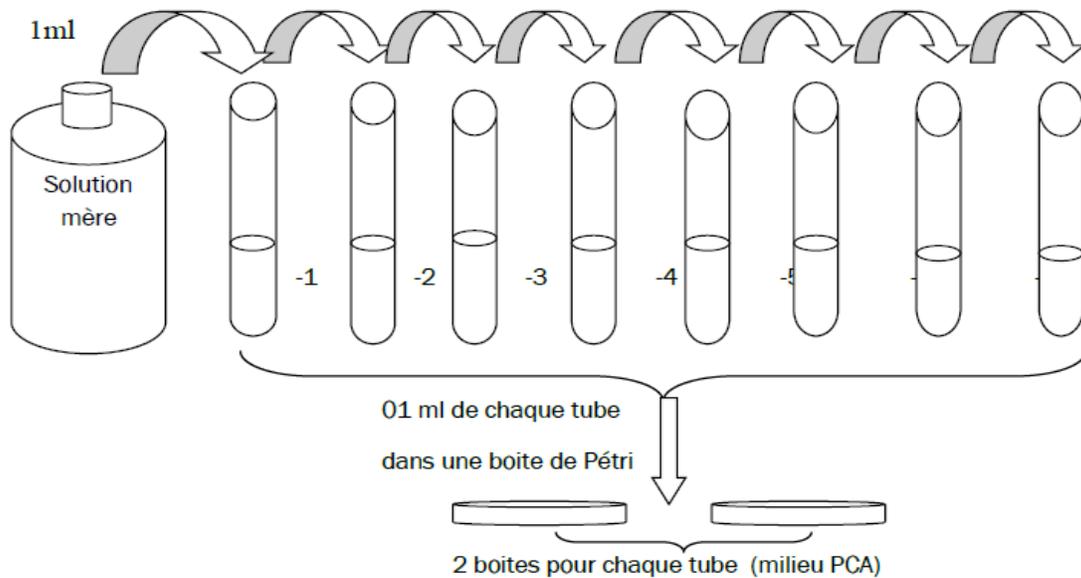


Figure 08 : Dilution de solution mère et ensemencement sur milieu GN

On prélève 0,1 ml de chaque dilution préparée qu'on ensemence par étalement sur les boîtes de Pétri contenant de la GN (Annexe 02) à l'aide d'un râteau. Ces milieux sont bien fermés à l'aide d'un papier Para film. L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 24h.

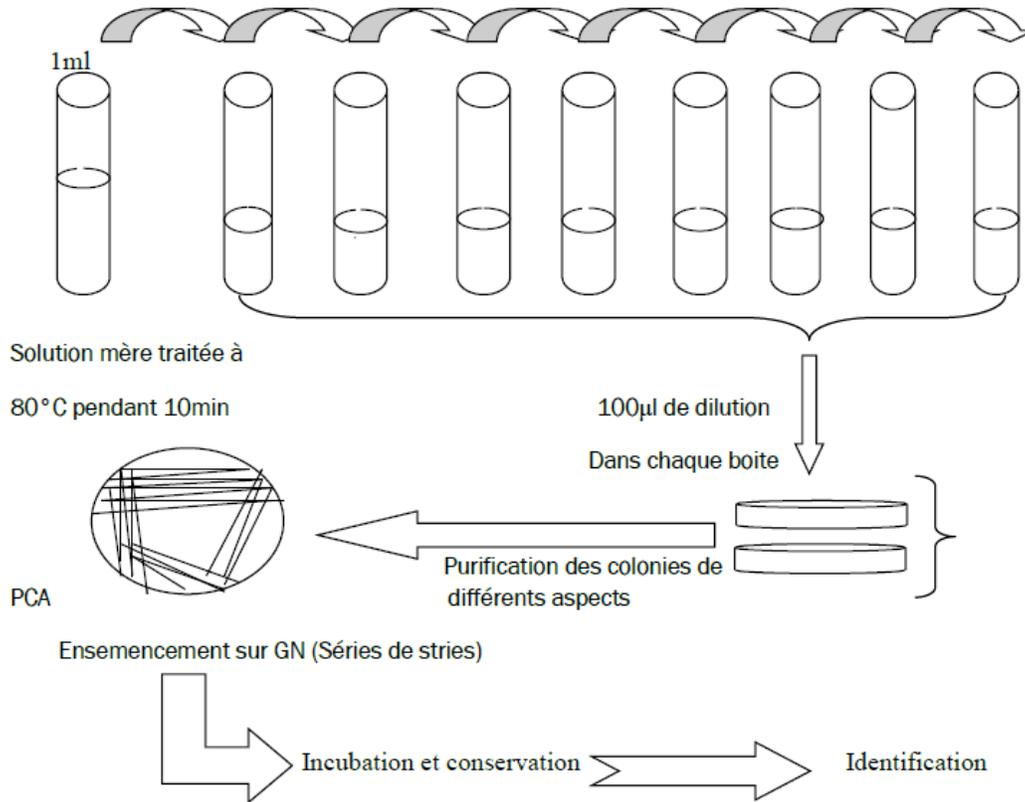


Figure 09 : Dilution de solution mère traitée thermiquement et ensemencement sur milieu GN.

II.2.3.5. Dénombrement des bactéries

Le dénombrement après culture concerne, évidemment les cellules viables de l'échantillon. Autrement dit, les cellules capables de croître. Il est basé sur l'aptitude de chaque bactérie, fixée par la solidification du milieu gélosé, à former une colonie visible à l'œil nu (**Austin, 1988**).

Après 24h d'incubation à 37°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un Compteur de colonies en UFC (Unité Formant Colonie). Le nombre de germes par gramme de sol est déterminé en calculant la moyenne Arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule de **Marchal et Bourdon (1982)**.

$$N = n / d \cdot v$$

Où :

N : nombre des microorganismes en UFC/ ml.

n: nombre des colonies dénombrées.

v: Volume prélevé (0.1ml).

d: Dilution).

II.2.3.6. Observation macroscopique

L'observation macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation (aspect des colonies et de leur revers, la taille et la couleur. D'après **Joffin et Leyral (2006)**, les éléments d'identifications macroscopiques sont:

- La forme des colonies : rondes, irrégulières,...etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre: ponctiformes ou non ponctiformes.
- La chromogénèse: couleur de la colonie.
- L'élévation: convexe, concave, plate.
- L'opacité: opaque, translucide ou transparente.
- La surface: lisse, rugueuse, sèche, dentelée,...etc.

II.2.3.7. Observation microscopique

II.2.3.7.1. Coloration de Gram

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration est réalisé systématiquement sur les différentes colonies purifiés pour préciser le caractère Gram+ ou Gram-. Avec cette coloration double, les bactéries Gram positive apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2008**) (annexe 02)

II.2.3.7.2. Purification des isolats

Après 24 h d'incubation, nous passons à l'étape de purification des cultures. Celle-ci nous permet d'obtenir des cultures pures à partir des différentes colonies isolées. La sélection des colonies est basée sur l'aspect macroscopique des colonies à savoir la couleur, la forme, le diamètre, l'opacité. Un échantillon de chaque type de colonie est prélevé et ensuite purifié par repiquages successifs et alternés en milieu liquide, puis en milieu solide jusqu'à l'obtention au sein d'une boîte de Pétri de colonies identiques par l'aspect et la couleur (**Delarras, 2007**).

II.2.3.7.3. Conservation des isolats

A partir d'une boîte de pétri contient des colonies bien purifiée :

- prélever une colonie bien isolée.
- ensemencer dans un milieu GN, incubé à 37°C /24 avec agitation.

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. Mais cette définition ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatifs, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (**Palleroni, 2008**).

II.2.3.7.4. Test biochimique

***Production de pigment fluorescent:** la production du pigment fluorescent a été recherchée sur milieu King B. Après une incubation de 24 à 96 heures entre 27-28°C, le développement du pigment fluorescent a été révélé à l'œil nu ou sous UV (254 et 366nm).

***Mobilité:** la mobilité des bactéries a été étudiée par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle, et confirmée par repiquage sur milieu spécifique : mannitol-mobilité.

***Catalase:** la catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H₂O₂ à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (**Lévy et al., 1992**).

***Oxydase:** l'oxydase a été recherchée sur papier filtre selon la technique de **Kovacs (1956)** : une colonie est étalée sur un disque imprégné de diméthyl-p-phénylène diamine préalablement trempé dans de l'eau distillée stérile. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violacée au bout de 10 secondes ; la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes.

***Arginine dihydrolase:** complexe enzymatique capable de dégrader l'arginine en anaérobiose, agissant selon deux types de réaction envisageables. La première réaction est une transformation de l'arginine en citrulline et ammoniacque par son activité dihydrolase. La seconde est une décarboxylation de la citrulline en ornithine et ammoniacque. Certains *Pseudomonas spp.* sont capables de dégrader l'arginine, des tubes contenant le milieu de Falkow (0.5% arginine) inoculés ont été recouverts d'une couche de vaseline et incubés à 28°C pendant 5 jours. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration rouge pourpre suite à l'alcalinisation du milieu dû à la présence de l'ammoniacque (**Hildebrand, 1988**).

***Fermentation des sucres:** la fermentation des sucres (glucose, lactose) ainsi que la production de H₂S ont été recherchées sur le milieu d'identification combiné : milieu Hajna-Kligler, en ensemençant abondamment la surface par des stries ou par inondation, le culot est inoculé par simple piqûre centrale avant de les mettre à l'étuve pendant 24h à 30°C.

***Test d'hypersensibilité:** le test d'hypersensibilité (HR) a été effectué avec des suspensions bactériennes (103) en eau physiologique stérile. L'inoculation de la face inférieure des feuilles de tabac d'une plante à 6 feuilles, par infiltration, à l'aide d'une

seringue hypodermique. Les plants de tabac inoculés ont été déposés dans le laboratoire, à la température 20-25°C. le témoin négatif est inoculé avec de l'eau physiologique stérile. Le développement de collapse au niveau des zones inoculées 2 à 3 jours après, traduit une réaction d'hypersensibilité positive (**Klement, 1963**).

***Dénitrification:** la réduction des nitrates a été testée selon la méthode décrite par **Roussel-Delif et al. (2005)**. Des tubes contenant du bouillon nutritif à 0.2 % de KNO_3 et une cloche, pour détecter la formation de gaz, sont inoculés et incubés à température ambiante (22 à 25°C). La présence de nitrate est révélée après 7 jours par addition de quelques gouttes du réactif de Nessler, la réaction positive donnant une coloration orange à rouge brique. L'adjonction de poudre de Zinc sous forme de ZnCl_2 va permettre la réduction des nitrates en nitrites et donc de confirmer le pouvoir dénitrifiant des isolats. Les isolats capables de produire du gaz ainsi que ceux réduisant les nitrates en nitrites sont aussi considérés comme des dénitrifiants potentiels.

III.1. Caractérisation du sol

Les résultats d'analyse des paramètres du sol sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 02 : résultat d'analyse de sol.

Paramètres	Teneur	Interprétation
pH	6,67	pH neutre
Matière organique	4,3	Sol riche en matière organique
Calcaire	16	Moyennement calcaire

Les propriétés du sol, qualifiées d'écologiques et qui exercent une influence sur la microflore peuvent être divisées en deux catégories : les facteurs de régulation d'une part et les éléments nutritifs d'autres part. **(Sasson, 1967)**.

Le nombre et l'activité des microorganismes dépendent essentiellement de l'énergie qui peut être libérée à la suite de la décomposition de la matière organique **(Boullard et Moreau, 1962)**.

Le degré d'acidité du sol constitue l'un des principaux facteurs limitant, pour les germes qui y sont généralement très sensibles, telles que les bactéries et actinomycètes qui sont plus favorisées par des milieux proches de la neutralité, alors que les champignons s'accommodent de pH bas, C'est-à-dire de sol acides **(Boullard et Moreau, 1962)**.

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents sont parmi les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol **(Digat et Gardan, 1987)**. D'où leur application comme agents de contrôle biologique grâce à leurs abondance dans les sols naturels et les racines des plantes **(Sands et Rovira, 1971)**. Ces bactéries sont d'excellents compétiteurs vis-à-vis de la microflore fongique et bactérienne du sol par leur temps de génération in situ relativement court **(Garbaye, 1994)**, leur capacité à utiliser les exsudats de plantes comme nutriments **(Lugtenberg et al., 2002)**, et à chélater les ions ferriques **(Garbaye, 1994)**.

III.2. Effet du sel sur les *Pseudomonas* spp fluorescents

Afin d'évaluer l'effet du sel sur les différents isolats de *Pseudomonas* spp fluorescents, des milieux KB (Annexe 04) liquides ont été préparés avec les concentrations salines suivantes : 0 M, 0,17 M, 0,34 M, 0,51 M, 0,70 M, 0,85 M et 1,03 M à pH $7,2 \pm 0,2$. Ces milieux ont été autoclavés à 120 °C pendant 20 minutes. Ensuite, chaque isolat bactérien choisi a été étalé à l'aide d'une micropipette stérile, dans trois des boîtes de Petri contenant chacune 10 ml du milieu King B solidifié. Les boîtes de Petri ont été incubées à 28 °C à l'obscurité durant 72 h **(Diaw et al., 1914-1919, 2018)**.

Les *Pseudomonas* spp fluorescents provenant de la rhizosphère de tomate, d'oignon et d'aubergine (To, Oi, Au), cultivés sur milieu KB pendant 72 heures ont montré une variabilité du nombre de colonies en fonction de la concentration en NaCl. Après 72 h d'incubation, tous les isolats sont en croissance en l'absence de NaCl (0 M). Il n'y a pas de différence significative entre le nombre de colonies provenant de la rhizosphère d'aubergine (Au) et celui de la rhizosphère de tomate (To). Les valeurs obtenues sont deux fois supérieures à celles du nombre d'isolats provenant de la rhizosphère d'oignon (Oi). Cette croissance se poursuit pour des concentrations en NaCl allant de 0,17 M à 0,51 M. Cependant, une baisse a été notée pour les colonies provenant de la rhizosphère d'oignon à 0,17 M et celles de la rhizosphère de tomate à 0,51 M. Par contre, à 0,34 M, la croissance est optimale pour tous les isolats et il n'y a pas de différence significative pour l'ensemble des isolats avec un nombre moyen de colonies égal à 303. Pour des concentrations en NaCl allant de 0,7 M à 0,85 M, on note une baisse significative du nombre de colonies pour la rhizosphère de plants de tomate. Lorsque la concentration en NaCl est de 1,03 M, il y a une inhibition totale et les isolats ne se développent pas à l'exception de ceux provenant de la rhizosphère de plants d'oignon avec un nombre de colonies très faible (Fig. 09) (Diaw et al., 1914-1919, 2018).

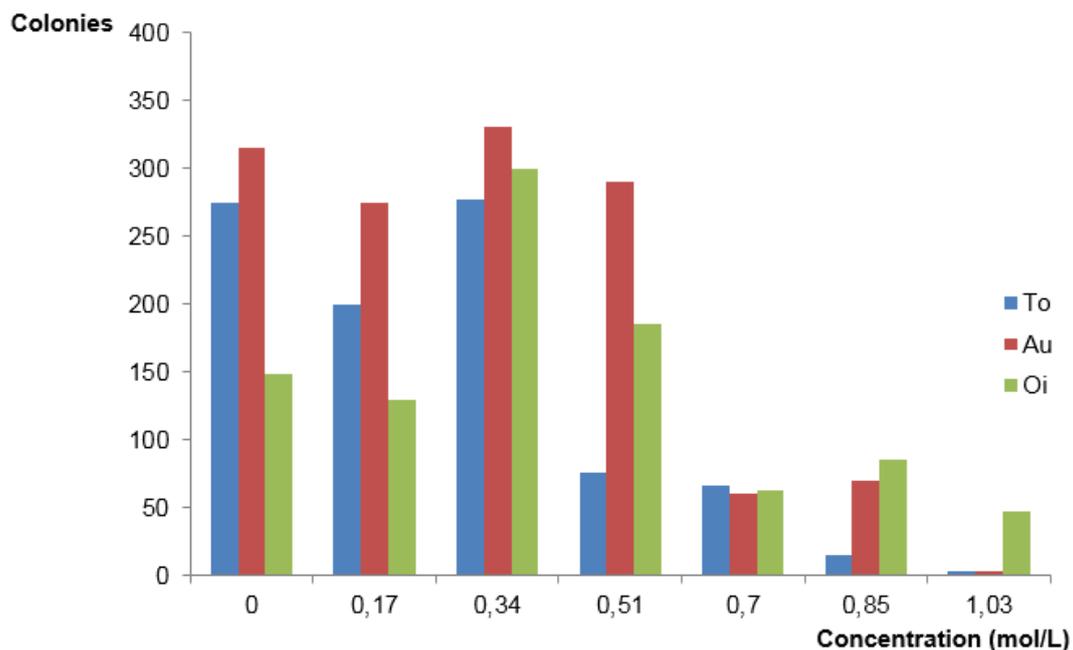


Figure 09 : Effet de différentes concentrations de NaCl sur le nombre de colonies de *Pseudomonas* spp fluorescents (Diaw et al., 1914-1919, 2018).

Les rhizosphères de plants de tomate, d'oignon et d'aubergine abritent plusieurs espèces de *Pseudomonas* spp fluorescents. Cependant, le comportement des *Pseudomonas* spp fluorescents peut être directement influencé par la salinité. Les

isolats de *Pseudomonas* spp fluorescents provenant de la rhizosphère des plants d'oignon sont plus résistants au sel par rapport à ceux des rhizosphères de plants d'aubergine et de tomate (Diaw et al., 1914-1919, 2018).

III.3. Mise en évidence de l'effet du cuivre sur la croissance des *Pseudomonas fluorescens*

Les isolats les plus résistants, sont sélectionnés dans ce test de résistance font l'objet d'un test de croissance sur deux milieux liquides différents (king B, Bouillon nutritif) (Annexe 05) avec ou sans cuivre, dont la concentration est égale à 1,5 mM (la valeur située juste avant celle de la CMI). Deux séries de tubes à essai contenant 9 ml de chaque milieu utilisé, sont par la suiteensemencés par 1ml de la suspension bactérienne standardisées. L'incubation a été effectuée à 30°C pendant 24 h, et la lecture se fait par la mesure de la densité optique chaque 2 heures. Les tubes sans cuivre représentent les témoins.(Benaied R et Meddah KH.,2018)

Les résultats obtenus, montrent que la croissance est légèrement ralentie dans le milieu contenant le cuivre par rapport à celle du témoin (Fig. 10 et 11).

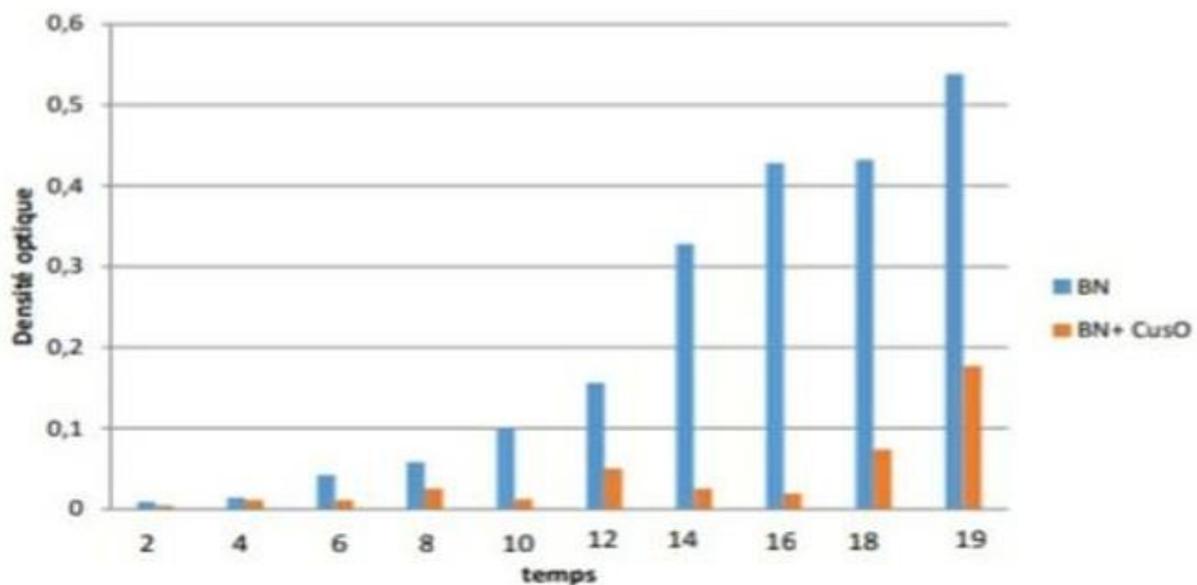


Figure 10 : Évaluation de l'effet de sulfate de cuivre sur la croissance de *Pseudomonas fluorescens* dans bouillon nutritif.

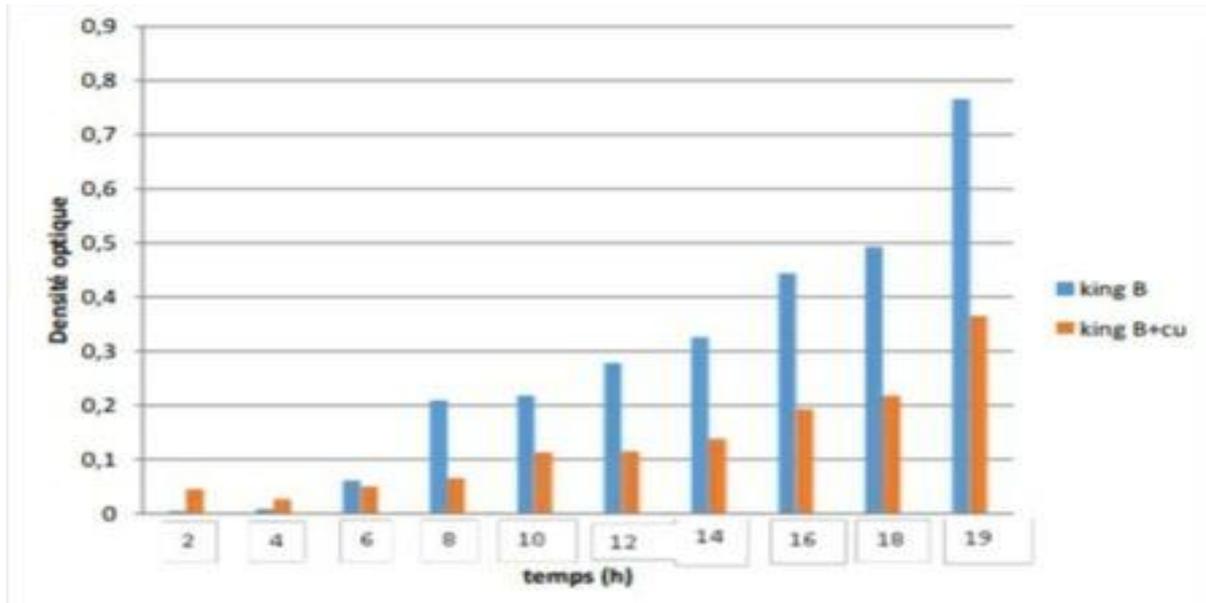


Figure 11 : Évaluation de l'effet du sulfate de cuivre sur la croissance de *Pseudomonas fluorescens* dans le milieu King B liquide.

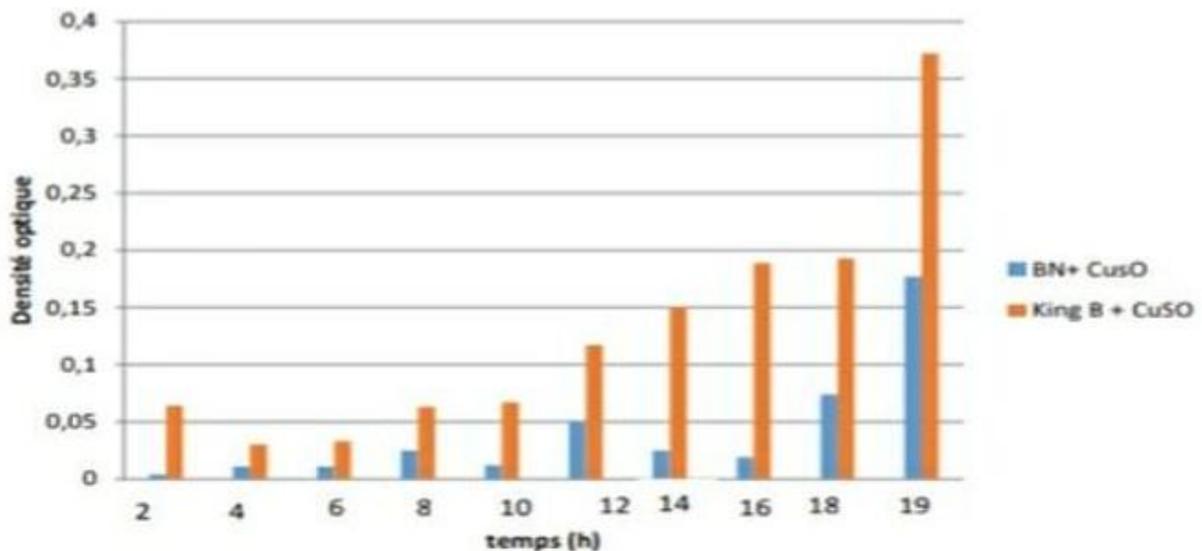


Figure 12 : Evaluation de l'effet de sulfate de cuivre sur la croissance de *Pseudomonas fluorescens* dans deux milieux liquide (Bouillon nutritif et King B)

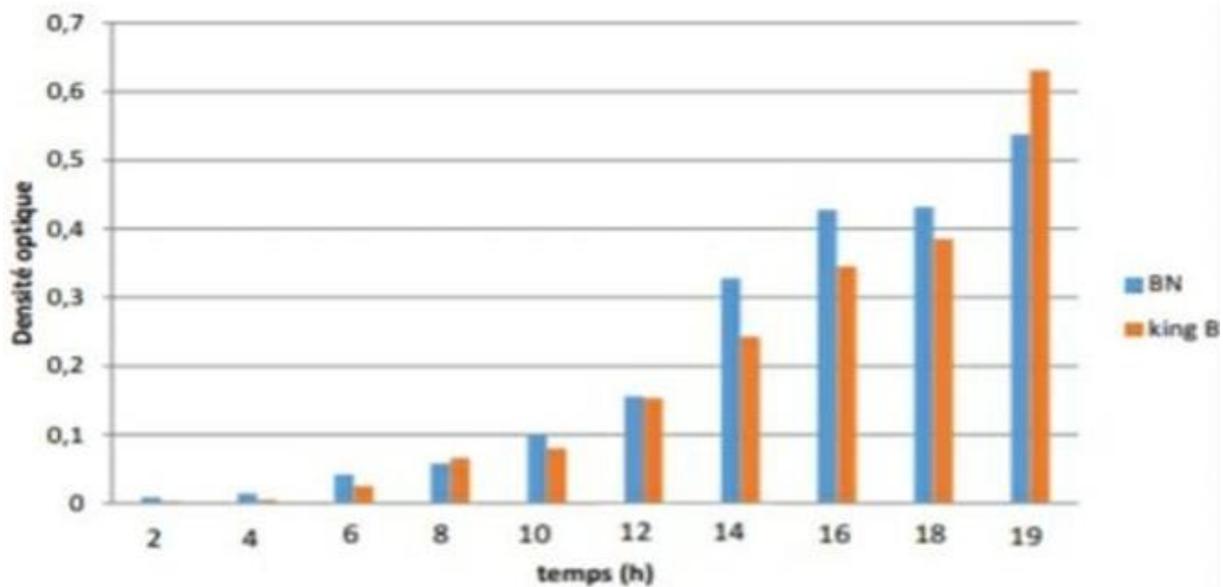


Figure 13 : Évaluation de la croissance de *Pseudomonas fluorescens* dans deux milieux liquide (Bouillon nutritif et King B).

Il a été clairement vu que les isolats étudiés montent une résistance au cuivre, mais ils ne s'expriment pas de la même manière. Les valeurs de la CMI (Concentration minimale inhibitrice) obtenues indiquent d'une part, que les *Pseudomonas fluorescens* ayant le pouvoir de résister au cuivre et même de l'accumuler à des concentrations inférieure ou égale 1,5 mM, d'autre part représente une croissance stimulée par ces métaux lourds. Nous avons aussi démontré que le type de milieu de culture utilisé joue un rôle important dans la croissance de *Pseudomonas fluorescens* et même celui qui contient le cuivre. Toutefois, ces deux bactéries identifiées font partis de l'espèce *Pseudomonas fluorescens*. **(Benaïed R et Meddah KH.,2018)**

III.4. Produits Résiduaire organiques (PRO) et communautés microbiennes du sol: Quel effet un an après l'apport?

Les communautés microbiennes du sol jouent un rôle important dans le fonctionnement du sol, et notamment via leur implication dans le turnover de la matière organique. Elles sont très sensibles aux perturbations du sol qui modifient leur abondance et leur diversité, avec des conséquences sur leur activité. A ce titre, l'étude des communautés microbiennes telluriques (essentiellement bactéries et champignons) permet l'appréciation de l'impact de certaines pratiques agricoles, comme l'amendement avec des produits résiduaire organiques (PRO) {Recouvre un ensemble considérable de produits organiques utilisables en agriculture, retournés au sol, pour leurs propriétés fertilisantes (azote ,phosphore, potasse...) et/ou amendantes (organiques ou basiques) } . sur la qualité biologique du sol **(Le Guillou et al., 2012).**

L'apport de PRO en agriculture permet de valoriser les effluents organiques issus de différentes activités humaines, et est destiné à améliorer la fertilité du sol. Plusieurs

travaux ont porté sur l'impact de cette pratique sur la physicochimie du sol et la fertilité en termes de productivité végétale. En revanche, l'impact de cette pratique sur la composante biologique, et notamment les communautés microbiennes reste peu documenté.

Dans ce travail, ils ont analysé l'impact à long terme de l'apport répété de PRO sur les communautés de bactéries et de champignons du sol dans le cadre de deux sites expérimentaux du dispositif SOERE PRO : le site de Feucherolles et le site de Colmar. L'objectif de ce travail était d'évaluer la rémanence des modifications des communautés induites par les PRO ; en d'autres termes, il s'agissait de déterminer si la modification des communautés par cette pratique est durable ou intervient seulement au moment de l'apport.

Les connaissances ainsi générées pourraient permettre d'effectuer des recommandations quant à la fréquence d'apport de PRO à réaliser afin de maximiser la qualité biologique des sols agricoles. Pour cela, des prélèvements ont été effectués sur les deux sites 1 an après des derniers apports de PRO. Seules les parcelles soumises à une fertilisation minérale nulle (Colmar) ou faible (Feucherolles) ont été prises en compte dans cet essai. L'ensemble des modalités (PRO) a été étudié. Différents indicateurs de la qualité biologique des sols ont été mesurés : la biomasse microbienne, évaluée par quantification de l'ADN microbien extrait du sol, et la diversité des communautés de bactéries et de champignons, appréhendée par l'analyse du métagénome (séquençage).

Les résultats obtenus montrent que le niveau de biomasse microbienne était globalement comparable entre les deux sites expérimentaux. A Feucherolles, les parcelles amendées, et ce quel que soit le PRO, avaient une biomasse supérieure à celle des parcelles témoin (Fig. 14). A Colmar, en revanche la biomasse microbienne mesurée sur les parcelles ayant reçu un apport de PRO était similaire à celle des parcelles témoin, n'ayant reçu aucun apport de PRO. Les différences de pratique, et notamment l'enfouissement des résidus de culture à Colmar, pourraient expliquer les différences de résultats observées entre sites.

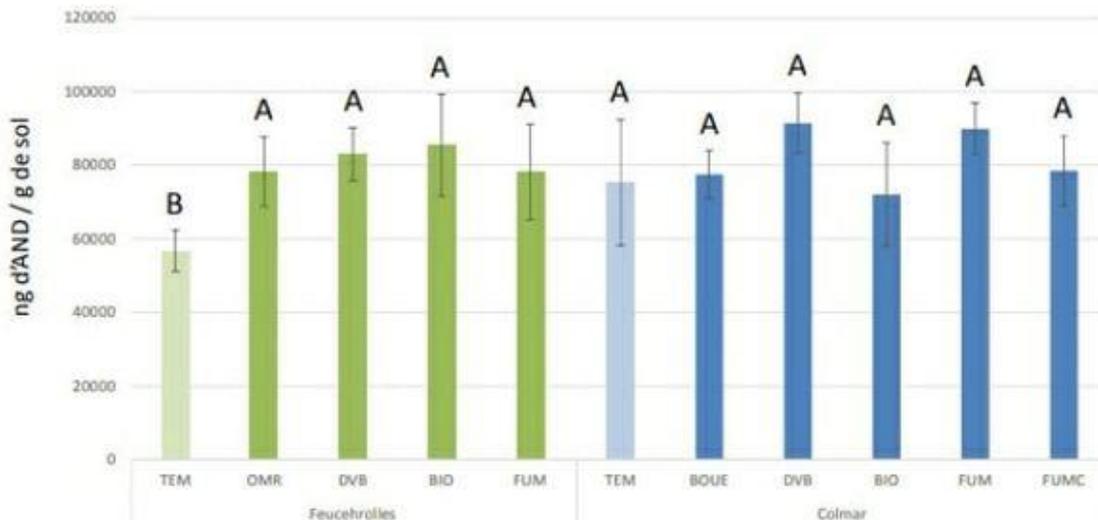


Figure 14 : Effet des PRO sur la biomasse microbienne de sols provenant des SOERE de Colmar et Feucherolles.

Pour conclure, sur le site de Feucherolles, l'apport de PRO conduit à une augmentation du niveau de biomasse un an après apport, mais à cette même date, aucun effet sur la diversité microbienne n'est observé. A Colmar, un an après l'apport de PRO, le niveau de biomasse et la diversité microbienne obtenus sont comparable aux valeurs retrouvées sur les parcelles non amendées.

synthèse :

Il existe une limite de tolérance vis à vis du NaCl (0,51 M) et au-delà de cette concentration, on a une baisse significative du nombre de colonies. La tolérance vis-à-vis du sel est donc un caractère propre à chaque souche de *Pseudomonas*. Ces isolats de *Pseudomonas* pourraient être utilisés dans les sols salés afin d'améliorer les rendements des cultures dans ces zones (Diaw et al., 1914-1919, 2018).

Dans l'étude de l'effet du cuivre sur la croissance des *Pseudomonas fluorescens* le ralentissement est probablement dû à la phase d'adaptation des bactéries aux conditions de la culture. Tandis que le cuivre à des concentrations inférieures à 1,6 mM n'inhibe pas les bactéries mais fait ralentir leurs croissances. Bien que, les bactéries cultivées en milieu King B liquide se développe mieux dont celui qui contient du cuivre (Fig. 13 et 14), contrairement aux témoins pour les deux isolats étudiés, ce qui explique la manière avec laquelle la bactérie se défend aux agents toxiques, et cela est déjà justifié par la pigmentation intense sur les milieux gélosés. Comme l'objectif de ce travail été d'évaluer le comportement de *Pseudomonas* fluorescent qui se trouve dans un milieu contient de cuivre. Cependant, il est conseiller de diminuer ou bien minimiser l'utilisation de ce genre de traitement agricole dans la culture de la vigne qui influe par conséquence d'une façon négative

sur la plante et de réfléchir à l'exploitation de ces bactéries PGPR et en même temps résistantes aux pesticides. **(Benaied R et Meddah KH.,2018)**

Et en apport des produits résiduaire organiques les résultats sont cependant à nuancer. En effet, il est probable que l'effet des PRO sur la qualité biologique des sols perdure un an après leur apport. Cependant cet impact pourrait être masqué par d'autres facteurs, impactant également la diversité microbienne tellurique, tels la variabilité biologique des différentes parcelles prélevées, ou encore le labour, reconnu pour avoir un impact sur les indicateurs observés **(Constancias et al., 2014)**. Des études supplémentaires sont donc requises pour effectuer des recommandations en termes de fréquence d'apport des PRO

Conclusion Générale et perspectives

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet comparé entre des biofertilisants à base organique et végétale et un engrais chimique, sur la microflore de l'olivier, cette étude a été réalisée au sein de l'université de Blida 1.

De plus, d'après des expériences ont déjà étudié concernant l'effet du sel sur les *Pseudomonas* fluorescents, on constate que le comportement de *Pseudomonas* peut être directement influencé par la salinité. La tolérance vis-à-vis du sel est donc un caractère propre à chaque souche de *Pseudomonas*. Ces isolats de *Pseudomonas* pourraient être utilisés dans les sols salés afin d'améliorer les rendements des cultures dans ces zones.

Concernant l'effet de cuivre sur la croissance des *Pseudomonas* spp, ces derniers ayant le pouvoir de résister au cuivre et même de l'accumuler à des concentrations inférieures à 1.5 mM. Ils ont aussi démontré que le type de milieu de culture utilisé joue un rôle important dans la croissance des *Pseudomonas* spp fluorescents et même celui qui contient le cuivre.

Sur le site de Feucherolles, l'apport de PRO conduit à une augmentation du niveau de biomasse un an après apport, A Colmar, un an après l'apport de PRO, le niveau de biomasse microbienne obtenue est comparable aux valeurs retrouvées sur les parcelles non amendées. Des études supplémentaires sont donc requises pour effectuer des recommandations en termes de fréquence d'apport des PRO.

Il serait intéressant par ailleurs d'étudier, d'une part, plus profondément les effets nutritives et biostimulants qui peuvent être apportés par ce type de fertilisation et à déterminer d'une façon plus détaillée la valeur ajoutée d'un tel produit ; d'autre part, d'autres travaux pourraient être orientés vers l'étude de l'influence d'autres conduites culturales qui peuvent être apportées afin d'améliorer la qualité et la quantité des produits agricoles.

Références bibliographiques

❖ B

1. **Benaïed , R et Meddah, KH., 2018.** Etude de la tolérance au cuivre chez des isolats rhizosphériques de *Pseudomonas fluorescens*. Mémoire de Master. Univ. Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie, pp :43-44.
2. **Benhayoun G. et Lazzeri Y., 2007.** L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.
3. **Boukhari R., 2014.** Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou ; université Tlemcen. Ingénieur en Agronomie.p9.
4. **Boullard. B, Moreau. J., 1962.** Sol, microflore et végétation. Edition ; Masson; paris, 289p.

❖ C

5. **Cavender N.D., Atiyeh R.M. & Michael K (2003).** Vermicompost stimulates mycorrhizal colonization of roots of sorghum bicolor at the expense of plant growth. *Pedobiologia* 47: 85- 89.
6. **CLEMENT. M et LOZET. J, 2011.** Dictionnaire encyclopédique de science du sol.
7. **Conseil Oleicole International., 2013.** Principales variétés cultivées dans le monde.P.128.
8. **Constancias, F., et al.,2014.** Microscale evidence for a high decrease of soil bacterial density and diversity by cropping. *Agronomy for Sustainable Development*. 34(4): p. 831-840.
9. **CPVQ., 1993 .** Rotation des cultures et engrais verts. Feuille technique. Numéro de commande 02-9304. de faculté des sciences, rabat, N°30:27-55.

❖ D

10. **D. DIAW et al., 2018./** *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12(4): 1914-1919, 2018
11. **Daoudi, L. 1994.** Etude des caractères végétatifs et fructifères de quelques variétés locales et étrangères d'olivier cultivées à la station expérimentale de Sidi-Aich (Bejaia). Thèse de magister. Inst. Nat. Agr, El-Harrach, Alger. 132 p.
12. **Delarras, C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits. des sols ,568p.
13. **Delville P. L., 1996.** Gérer la fertilité des terres dans les pays du Sahel (diagnostic et conseil aux paysans). Collection le « Point sur ». Ministère de la coopération CTA, 397p.

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

15. DUCHAUFOR. PH, 2001. Introduction à la science du sol. 6ème édition de l'abrégé de Determinación de las funciones de producción. Fruticultura Prof 120:29–34.

❖ F

16. FAO., 2005. Notions de nutrition des plantes et de fertilisation des sols. Niamey, NIGER, 26p.

17. FAO., 2005. Notions de nutrition des plantes et de fertilisation des sols. Niamey, NIGER, 26p.

18. Flahault R., 1986. L'olivier. Ann. Ecole Nat. Agric. Montpellier, France. T II. In: Fertilidad de las variedades de olivo españolas. Garcia A., Ferreira J., Frias L. et Fernandez A. (Eds), Sem. Oleic. Int., 6-17 Octobre 1975, Cordoue, Espagne, pp. 25-28.

19. Fouraste I., 2002. Etude botanique « l'olivier », Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse, Toulouse, 10p.

❖ G

20. Garbaye, J., 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytol. 128: 197-210.

21. Girona J, Luna M, Arbone´s A, Mata M, Rufat J, Marsal J (2001) Respuesta de olivos.

22. Giuseppe Fontanazza et al., 1997. Chapitre 03 : Aspects Génétiques et techniques de la propagation pour une plantation intensive in Encyclopédie Mondiale de l'olivier. Ed. Conseil Oléicole international. Espagne 479 p.

23. GOBAT. J, ARANGO. M, MATHEY.W, 2003. Le sol vivant, base de pédologie, biologie.

❖ H

24. Hildebrand, D.C., 1988. Pectate and pectin gel for differentiation of *Pseudomonas* sp. And other bacterial plant pathogens. Phytopathol. 61: 1430- 1439.

25. Hoitink, H.A.J., A.G. Stone, and D.Y. Han. 1997. Suppression of plant diseases by composts. HortScience 32:184-187.

26. Hoitink, H.A.J., and M.E. Grebus. 1994. Status of biological control of plant diseases with composts. Compost Science and Utilization 2:6-12.

❖ I

- 27. Inckel M., De Smet P., Tersmette T. & Veldkam P.T., 1997.** La fabrication et l'utilisation du compost. Agrodok. Serie no8 CTA; 35 p.
- 28. Isman MB. (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect*, 19:603–608
- 29. ITAF (Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne). 2012.** La culture de l'olivier, Birtouta, Alger. 4 p

❖ J

- 30. Joffin, J.N and Layeral, G., 2006.** Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des techniques. Bordeaux, France: Centre Régional De Documentation Pédagogique, 368.

❖ K

- 31. Kassi FM., Badou OJ., Tonzibo ZF., Salah Z., Lndge A., et Kone D. (2014).** Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire. *J. Applied Biosciences*, 75 (8): 6183– 6191.
- 32. Klement, Z., 1963.** Method for the rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonads*. *Nature*, 199: 299–300.
- 33. Kovacs, N., 1956.** Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, 178-703.

❖ L

- 34. Laplace J.P. (2006).** Agriculture et alimentation Réflexions croisées. *Cahiers Agricultures*, 15(4): 375 -78.
- 35. Laumonier, R. 1960.** Cultures fruitières Méditerranéennes. Ed. Baillière J.B. et fils, Paris, 182-216 p.
- 36. Laurent O., 1995.** La lombriculture. Guide pratique., Vecchl. Ed; 115 p.
- 37. Le Guillou, C., et al., 2012.** Linking microbial community to soil water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 50: p. 126-133.
- 38. Levy. E., Eyal. Z., Chet. I. and Hochman, A., 1992.** Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 40:163-71.
- 39. Loumou A, Giourga C. (2003)** Olive groves: "The life and the identity of the Mediterranean". *Agriculture and Human Values*; 20:87-95
- 40. Loussert R. Brousse G., 1978.** L'olivier. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. (Eds.) Maisonneuve et Larousse, Paris, France, 480p.
- 41. Lugtenberg, B.J., Chin, A. W.T.F. and Bloemberg, G.V., 2002.** Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81:373-383.

❖ M

42. **Mendil M. et Sebai A., 2006.** L'olivier en Algérie. ITAF, Alger. Algérie, 99 p.
43. **Moreaux S. (1997)** L'Olivier. Actes Sud. France.
44. **MOREL, 1989.** Les sols cultivés. Tech et Doc .Lavoisier, paris, 272p.
45. **München., Nörr. H 1993.** Phytochemische und pharmakologische Untersuchungen der Adaptogendrogen *Eleutherococcus senticosus*, *Ocimum sanctum*, *Codonopsis pilosula*, *Rhodiola rosea* und *Rhodiola crenulata*; Hieronymus Buchproduktions GmbH. p.3; 126-127.

❖ N

46. **Ndegwa P .M. & Thompson S.A., 2001.** Integrating composting and vermicomposting of the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology* 76: 107-112.

❖ O

47. **Ohyama T., 2006.** Introduction. p.1-2. In: *Biofertilizer Manual*. Japan Atomic Industrial Forum (JAIF), Japan.

❖ P

48. **Pagnol J., 1975.** L'olivier. Aubanal (éds.), France, 95p.
49. **Palleroni, N.J., 2008.** The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.
50. **Peter H.Raven, Ray F.Evert, Susan E.Eichhorn.,2007.** (trad. de la 7e édition américaine Jules Bouharmont et révision scientifique Charles-Marie Evrard), *Biologie végétale*, 2e édition, De Boeck, (ISBN 978-2-8041-5020-4) et d'après **P.R.Scout, 1961.** Proceeding of the Ninth Annual California Fertilizer Conference.
51. **Piéri C., 1989.** Fertilité des terres de savanes. Bilan de trente ans de recherche et de développement agricole au Sud Sahara. Ministère de la coopération, Paris, 444p.

❖ R

52. **Rallo ,P.,G.Dorado,and,A,Martin (1998).** Development of simple sequence repeats(SSR)in olive jo´venes (*Olea europaea*, cv. „Arbequina“) adiferentes cantidades de agua de riego.
53. **Regnault- Roger C. (2012).** Trends for Commercialization of Biocontrol Agent (Biopesticide) Products. *Plant Defense Biological control*. 12(6) : 139- 60
54. **Roussel-Delif, L., Tarnawski, S., Hamelin, J., Philippot, L., Aragno, M. and Fromin, N., 2005.** Frequency and diversity of nitrate reductase genes among nitrate dissimilating *Pseudomonas* in the rhizosphere of perennial grasses grown in field conditions. *Microb. Ecol.* 49: 63-72.

❖ S

- 55. Sands , D.C. and Rovira, A.D., 1971.** Fluorescent Pseudomonads a Residual Component in the Soil Microflora? J. Appl. Microbiol. 34(1): 253–259.
- 56. SASSON. A, 1967.** Recherches éco-physiologique sur la flore bactérienne de sol des régions du Maroc. Série botanique et biologie végétale. Travaux de l'institut scientifique chérifien et pédologie. Dunod. Ed. Masson. Paris. 314p.
- 57. Sebai A., Sebai Z., Saibi Z., Boukari N., Saidani F., Belkacemi S., Bekhouche N., Akmouche H., 2012.** La culture de l'olivier, Tessala El Merdja - Birtouta– Alger, P32.
- 58. Serpantié G. et Ouattara B., 2001.** Fertilité et jachères en Afrique de l'Ouest. La jachère en Afrique tropicale- Ch. Floret, R. Pontanier Iohn Libbey Eurotext, Paris 2001, 21-83.
- 59. Sharma N. et Tripathi A. (2008).** .Effects of Citrus sinensis (L.) Obseck epecarp essential oil one growth and morphogenesis of Aspergillus Niger (L.) Van Tieghem . Microbiological Research, 163(3): 337-344
- 60. Skat R., 1996.** Valorisation des déchets organiques dans les quartiers populaires des villes africaines. Projet FNRS 005001-03 8104 Suisse: Fonds National de la Recherche Scientifique; 143 p.
- 61. Stephanie A. E., John A. B., Thomas M. S., 2007.** Isolation and characterization of soil Bacteria That Define Terriglobus gen. nov; in the phylum Acidobactria. Applied and environmental microbiology, 73: 2708-2717.
- 62. Subler S., Edwards C.A. & Metzger J.D. (1998).** Composting vermicomposts and com- posts. Biocycle 39: 63-66.

❖ T

- 63. Technique ITAB., 2005 .** Les engrais verts en maraîchage biologique 4p. Ed : ITAB Paris France. AGROBIO.
- 64. Tous J., Ferguson L., 1996.** Mediterranean fruits. In: Progress in New Crops. tree(Olea,europaea.L).These.appl.Genet.(In press). ASHS Press, Arligton VA., 416-430.

❖ V

- 65. Vessey, J. K., 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, Plant Soil 255:571-586.

❖ W

- 66. Warman P., 1981.** Principes fondamentaux de la culture d'engrais vert. Ed. Ecological agriculture projects, 7 p.

❖ X

67. Xue A .G., Chen Y., Voldeng H.D ., Fedak G ., Savard M .E ., Langle T ., Zhang J ., et Harman G .E. (2014). Concentration and cultivar effects on efficacy of CLO-1 biofungicide in controlling Fusarium head blight of wheat. *Biological Control*, 73(22): 2-7.

❖ Y

68. Young A., 1989. Agroforestry for soil conservation, Wallingford-Nairobi, Cab Internationalcraft.

❖ Z

69. Zohary D., 1995. Olive, *Olea europea* (Oleaceae). In: Smartt J. et Simmonds N.W., "Evolution of Crop Plans". Longman Scientific et Technical. United Kingdom, pp. 379-282.

1. Extrait aqueux

- 25g de poudre + 250ml d'eau distillée sous agitation magnétique horizontale pendant 72H à température de 24°C.
- Les macéras obtenus sont centrifugés pendant 15 minutes à $V = 4000\text{tr/min}$. Récupération du surnageant.
- Le surnageant est conservé au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

2. Gélose nutritive

Extrait de viande...	1,0g
Extrait de levure.....	2,0 g
Peptone.....	5,0g
Chlorure de sodium.....	15,0 ml
Agar	15,0 g
Eau distillée.....	100 g
pH.....	7,4

3. Coloration de gram

- A partir des boîtes de pétri faire un frottis.
- Déposer une goutte d'eau physiologique sur la lame.
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau physiologique. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.
- Laisser agir 1 minute.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- Rincer très brièvement
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis.
- Laisser agir 1 minute. Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H₂O.
- Déposer quelques gouttes d'alcool sur le frottis et laisser agir 30 secondes.
- Rincer à l'H₂O.

- Déposer la solution de fishine pendant 1 minute.
- Rincer à l'H₂O.
- Laisser sécher à l'air.
- Observer au microscope (grossissement 400x ou, avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 1000x).

4. King B solide

Peptone de caséine20 g
Sulfate de magnésium1,5 g
Phosphate bi-potassique.....1,5 g
Glycérol10 ml
Agar20 g
Eau distillée QSP.....1000 ml
pH :..... 7,2

5. milieu BN liquide

Peptone de caséine20 g
Sulfate de magnésium1,5 g
Phosphate bi-potassique.....1,5 g
Glycérol10 ml
Eau distillée QSP.....1000 ml
pH :..... 7,2