

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème:

**Caractérisation des PGPR « Bactéries Promotrices de la Croissance des Plantes »
isolées de la rhizosphère du blé dur (*Triticum durum*).**

Présenté par:

LARBI DALILA

ZOURDANI SOUHILA

Soutenues devant le jury composé de:

Président	M^r OUELHADJ A.	Professeur à l'UMMTO
Promotrice	M^{me} BENZAOUZ K.	Maitre de conférences B à l'UMMTO
Examinatrice	M^{me} DERMECHE S.	Maitre de conférences B à l'UMMTO

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements



La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre gratitude.

Nous tenons à exprimer tout d'abord, notre profonde gratitude à notre directrice de mémoire, Madame BENAZZOUZ K. pour son suivi et son énorme soutien qu'elle n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période du projet.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à Monsieur OUELHADJ A. et à Madame DERMECHE S. pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Un grand merci à Madame GUENDOZI S. pour les précieuses informations qu'elle nous a donnée.

On voudrait également remercier les ingénieurs du Laboratoire de physicochimie pour leur disponibilité ainsi que leurs conseils inestimables.

A fin de n'oublier personne, on remercie nos amis qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel.

Dédicaces

À ma chère maman, Ouiza ;

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Tu m'as comblé avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Ta bienveillance et ta présence ont toujours été ma source de force pour avancer dans la vie.

Veillez trouver en ce travail, l'expression de mon profond respect, mon amour et mon estime.

À mon père Mustapha ;

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

À la mémoire de mon frère Hocine. J'espère que du monde qui est sien maintenant, tu apprécies cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de ta sœur.

À la mémoire de mon grand-père Tahar, tu seras toujours dans mon cœur.

À mon frère Kaçi et ma belle-sœur Tassadit. Je vous dis merci et je vous souhaite bonheur, réussite et sérénité.

À mes sœurs Sadia, Nora, Samia et Sara. Merci pour votre indéfectible soutien et votre patience infinie. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

À ma nièce Yanna et mes neveux Ilyas et Younes. Vous avez apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je vous aime.

À mon cher Nordine, Tu m'as toujours offert soutien et réconfort, j'exprime envers toi une profonde admiration, reconnaissance et attachement inconditionnels.

Dalila

Dédicaces

À cœur vaillant rien n'est impossible
À conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessin.

Je dédie ce travail à ma chère mère qui, grâce à elle j'ai réussi mes études. Au prix de sacrifices inoubliables ; et qui n'a pas pu voir ce que je suis devenue. Je prie le bon Dieu pour que son âme repose en paix.

À mon cher papa permettez-moi de vous exprimer mon grand amour mon attachement et ma plus haute considération pour votre personne. Je suis très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser, ce que vous avez tant espéré et attendu de moi. Vous n'avez jamais cessé de déployer tous vos efforts afin de subvenir à nos besoins, nous encourager et nous aider à choisir le chemin de la réussite votre patience, votre bonne volonté, vos conseils précieux ainsi que votre confiance.

À mes grands-parents vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel. Je vous remercie pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

À mon chère frère et sœur , à mes oncles et tantes , à mes cousines , à mon fiancé et sa famille, pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse, qui en plus de m'avoir encouragée tout le long de mes études, m'ont consacré beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien, leurs conseils et leur amour, m'ont permis d'arriver jusqu'ici car ils ont toujours cru en moi, je vous remercie de m'avoir toujours soutenu et merci pour tout les bons moments passés ensemble, et ce n'est pas fini.

À mes chères ami(e)s qui m'ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire, en leurs souhaitant bonne continuation dans leurs travaux.

Une dédicace tout particulier à ma super promotion de Master 2 Biotechnologie Microbienne un par un.

À ma famille et toutes les personnes que j'aime.

Des fois, les mots ne suffisent pas pour exprimer tout le bien qu'on ressent ! Juste...

MERCI à vous.

Souhila

Liste des abréviations

ACC : Aminocyclopropane-1-carboxylate

IAA : Acide Indole acétique

PGPR : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

PO₄³⁻ : Ions orthophosphates

PSB : Bactéries solubilisatrices de phosphate

QS : Quorum sensing

RSI : Résistance Systémique Induite

UFC : Unité formant colonie

Liste des figures

Figure 01 :	Photographies représentant le sol rhizosphérique.....	2
Figure 02 :	Représentation schématique d'une zone rhizosphérique et ses principaux composants.....	3
Figure 03 :	Schéma représentatif de la diversité biologique du sol.....	5
Figure 04 :	Les interventions des PGPR sur la croissance des plantes.....	12
Figure 05 :	Mécanismes de solubilisation des phosphates inorganiques et organiques	13
Figure 06 :	Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries...	15
Figure 07 :	Morphologie du blé.....	18
Figure 08 :	Diagramme représentant l'ensemble des étapes expérimental.....	23
Figure 09 :	Parcelle d'étude.....	25
Figure 10 :	Échantillon du plant de blé dur.....	25
Figure 11 :	Sol rhizosphérique prélevé.....	25
Figure 12 :	Graines du blé et de laitue déposées pour la pré-germination.	34
Figure 13 :	Aspects des colonies formées sur gélose nutritive des souches bactériennes isolées.....	36
Figure 14 :	Photographie représentant les résultats de la recherche d'une lécitinase.	40
Figure 15 :	Photographie représentant les résultats de la recherche d'amylase.....	41
Figure 16:	Photographie représentant les résultats de la recherche d'estérase.....	42
Figure 17 :	Photographie représentant les résultats de l'activité lipasique.....	43
Figure 18 :	Photographie représentant les résultats de la recherche de la caséinase..	43
Figure 19 :	Photographie représentant les résultats du test de coagulation	44
Figure 20 :	Photographie représentant les résultats de la solubilisation du phosphore chez les souches isolées.....	45
Figure 21 :	Photographies représentant les résultats de l'antibiogramme réalisé sur les isolats bactériens (<i>Actinomyces</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Bacillus</i> sp. respectivement).....	47
Figure 22 :	Photographie représentant l'effet antifongique des isolats bactériens vis-à-vis d' <i>Alternaria</i> sp.....	48
Figure 23 :	Effet de la bactérisation par les différents isolats bactériens sur le taux de germination de graines du blé dur et de laitue.....	50
Figure 24 :	Photographie représentant l'effet de l'inoculation par les isolats bactériens sur les graines du blé dur et de laitue.....	52

Liste des tableaux

Tableau I :	Les différents constituants de rhizodépôts selon leur composition biochimique et mode de libération.....	6
Tableau II :	Les différentes formes des PGPR et leur action.....	16
Tableau III :	Les principales maladies du blé.....	19
Tableau IV :	Principaux avantages et inconvénients de la lutte biologique.....	21
Tableau V :	Principaux avantages et inconvénients de la lutte chimique.....	22
Tableau VI :	Caractéristiques physicochimiques du sol étudié.....	35
Tableau VII :	Caractères cultureux des souches bactériennes isolées de la rhizosphère du blé dur.....	36
Tableau VIII :	Caractéristiques microscopiques des souches bactériennes isolées de la rhizosphère du blé dur.....	37
Tableau IX :	Caractères biochimiques des isolats bactériens.....	37
Tableau X :	Résultats des activités enzymatiques.....	40
Tableau XI :	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches testées.....	46
Tableau XII :	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....	48
Tableau XIII :	Evaluation de la longueur des racines et des tiges des graines du blé dur et de laitue, inoculées par les différents isolats bactériens.....	51

Tables des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste de figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Partie bibliographique :

Chapitre I : Sol rhizosphérique

I.1. Rhizosphère.....	2
I.1.1. Définition et étymologie.....	2
I.1.2. Caractéristiques du sol rhizosphérique	3
I.1.3. Rôle de la rhizosphère	3
I.1.4. Microflore rhizosphérique.....	4
I.1.5. Facteurs favorisant la flore de la rhizosphère	5
I.2. Rhizodéposition et l'effet rhizosphérique	5
I.3. Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère	6
I.4. Interactions microbiennes dans la rhizosphère	7
I.4.1. Commensalisme	7
I.4.2. Mutualisme	7
I.4.3. Antagonisme	7
I.4.3.1. Hyperparasitisme	7
I.4.3.2. Compétition	7
I.4.4. Symbiose	7
I.5. Concept de gestion de la rhizosphère	7
I.6. Méthodes d'étude de l'activité et la diversité fonctionnelle dans la rhizosphère	8
I.6.1. Méthodes culturales	8
I.6.2. Méthodes moléculaires	8

Chapitre II : Bactéries promotrices de la croissance des plantes

II.1. Les rhizobactéries	10
II.1.1. Définition	10
II.1.2. Rôle des PGPR	10
II.1.2.1. Résistance aux pathogènes du sol	10
II.1.2.2. Croissance racinaire	10
II.2. Différents genres de PGPR	10
II.2.1. <i>Bacillus</i>	10
II.2.2. <i>Pseudomonas</i>	11
II.2.3. <i>Rhizobia</i>	11
II.2.4. Les Actinomycètes.....	11
II.3. Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes par PGPR ...	11
II.3.1. Effets directs	12
II.3.1.1. Solubilisation du phosphate	12
II.3.1.2. Fixation de l'azote	13
II.3.1.3. Solubilisation de potassium	13
II.3.1.4. Production des métabolites stimulant la croissance des plantes	13
II.3.1.4.1. Production des phytohormones	13
II.3.2. Effets indirects	14
II.3.2.1. Compétition	14
II.3.2.2. Induction de la résistance systémique	15

Tables des matières

II.4. Compétence rhizosphérique et colonisation des racines par les PGPR	15
II.5. Potentiel biotechnologique	16

Chapitre III : Aperçu bibliographique sur le blé dur (*Triticum durum*)

III.1. Données sur le blé	17
III.1.1. Origine du blé	17
III.1.2. Classification systématique	17
III.1.3. Caractères morphologiques du blé	17
III.1.4. Importance du blé	18
III.2. Principales maladies du blé	19
III.3. Relations plante-pathogène	20
III.4. Moyens de lutte	20
III.4.1. Lutte biologique	20
III.4.2. Lutte chimique	22

Partie expérimentale :

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectif de l'essai	23
I.2. Matériel	24
I.2.1. Produits chimiques et milieux de culture	24
I.2.2. Appareillage et outillage	24
I.2.3. Matériel biologique	24
I.2.3.1. Souches bactériennes	24
I.2.3.2. Souche fongique	24
I.2.4. Matériel végétal	24
I.3. Méthodes	24
I.3.1. Présentation de la parcelle d'étude	24
I.3.2. Echantillonnage	25
I.3.3. Analyses physico-chimiques du sol	25
I.3.3.1. pH	26
I.3.3.2. Humidité	26
I.3.4. Isolement des microorganismes du sol	26
I.3.4.1. Purification des souches bactériennes	26
I.3.5. Identification des isolats	26
I.3.5.1. Critères morphologiques	27
I.3.5.2. Caractères biochimiques	27
I.3.6. Activité enzymatique	29
I.3.6.1. Recherche de la léchithinase	29
I.3.6.2. Recherche de l'amylase	29
I.3.6.3. Recherche des estérases	29
I.3.6.4. Recherche de la lipase	30
I.3.6.5. Recherche de la caséinase	30
I.3.6.6. Action sur le lait écrémé	30
I.3.6.7. Solubilisation du phosphore	30
I.3.7. Activité antimicrobienne	31
I.3.7.1. Activité antibactérienne	31
I.3.7.1.1. L'activité antagoniste des souches isolées.....	31
I.3.7.1.2. Antibiogramme	32
I.3.7.2. Activité antifongique	32
I.3.8.Évaluation des souches rhizobactériennes pour leur activité stimulatrice de la	

Tables des matières

croissance du blé et de la laitue	33
I.3.8.1. Préparation de l'inoculum.....	33
I.3.8.2. Désinfections et pré-germination des semences de laitue et du blé	34
I.3.8.3. Inoculation des graines pré-germées	34
I.3.8.4. Paramètres étudiés	34

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Caractérisation physico-chimique du sol	35
II.2. Caractérisation des isolats	36
II.2.1. Critères morphologiques	36
II.2.2. Caractère biochimiques	37
II.3. Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires	39
II.3.1. Recherche de lécitinase	40
II.3.2. Recherche de l'amylase	4
II.3.3. Recherche de l'estérase	41
II.3.4. Recherche de la lipase	42
II.3.5. Recherche de la caséinase	43
II.3.6. Action sur le lait écrémé	44
II.3.7. Solubilisation du phosphore	44
II.4. Résultat du test l'antagonisme.....	45
II.5. Résultat de l'antibiogramme	46
II.6. Résultats de l'activité antifongique	47
II.7. Résultat du test de germination	49
II.7.1. Effet sur le taux de germination des graines du blé dur et de laitue	49
II.7.2. Effet de l'inoculation bactérienne sur la longueur des racines et des tiges	50
Conclusion.....	54

Références bibliographiques

Annexes

Résumé



Conclusion





Introduction



Introduction

Au cours des derniers siècles, l'étude des interactions microorganismes-plantes au niveau de la rhizosphère a attiré l'attention de plusieurs chercheurs qui ont contribué au développement des connaissances de cette microflore. La rhizosphère est une zone d'intense activité microbologique en raison des exsudats racinaires des plantes, ces activités bénéfiques peuvent être directes par le biais des relations symbiose avec les plantes, ou indirectes via l'action des microorganismes vivant librement dans la rhizosphère.

Le blé est l'une des récoltes les plus importantes en Algérie, plusieurs hectares sont employés pour sa plantation. Le blé dur (*Triticum durum*) est la première céréale cultivée en Algérie. A cause de la dégradation de la qualité du sol, la production nationale ne couvre pas les besoins de la population, l'amélioration de la culture des plantes est un domaine en continuelle évolution dont l'objectif principal est de nourrir la planète. Pour répondre à ces nouvelles exigences, les agriculteurs doivent se tourner vers l'exploitation et la rentabilisation des ressources naturelles par le biais de pratiques agricoles combinant la performance et la protection des cultures à un moindre coût écologique (Benhamou, 2012).

Cependant, il s'est avéré que l'utilisation des souches bactériennes promotrices de la croissance des plantes (PGPR) est très intéressante. Ceci est dû d'une part à leur capacité à réduire et à produire des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels), à la modulation des niveaux d'hormones végétales (Munees et Mulugeta, 2014), ou à l'induction de systèmes de résistance et production des sidérophores phytoprotectrices (kirdi, 2011).

Dans ce contexte, le travail est scindé en plusieurs parties :

- Une étude bibliographique qui rassemble des données sur la rhizosphère, les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ainsi qu'un aperçu sur la culture du blé dur (*Triticum durum*).
- La description du matériel et des méthodes employées pour isoler et caractériser les rhizobactéries. L'identification de ces bactéries est faite en se basant sur l'étude morphologique et biochimique et à travers différents tests de mise en évidence tels que la production d'enzymes, la solubilisation de phosphate, l'antibiogramme, l'inhibition des phytopathogènes, l'évaluation *in vitro* de l'effet de l'inoculation du blé et laitue.
- Ensuite, nous exposerons nos résultats avec une discussion relative aux différentes expérimentations menées.
- Ce travail s'achève par une conclusion et perspective d'investigation.



Première partie
Etude bibliographique



Chapitre I :

Sol rhizosphérique

I.1. Rhizosphère

I.1.1. Définition et étymologie

La rhizosphère, un terme qui fût utilisé pour la première fois par le microbiologiste visionnaire Lorenz Hiltner en 1904 (Anton et *al.*, 2008), « rhizo » vient du grec « rhiza » signifiant racine, « sphère » vient du latin « sfaire » signifiant balle, ballon ou globe.

Elle est définie comme étant un micro-milieu où se développent les racines. Ces dernières et par des interactions spécifiques avec le sol, la plante et les microorganismes telluriques, créent une niche écologique (Figure 01).



Figure 01 : Photographies représentant le sol rhizosphérique (Mai, 2022).

D'autre part, la rhizosphère désigne la zone du sol dans laquelle la microflore tellurique est soumise aux influences des racines (Garbaye, 2013). Dans ce milieu, les interactions de divers processus physico-chimiques induits par l'activité racinaire, éveillent et stimule les différentes activités microbiennes.

La rhizosphère peut être divisée en trois zones distinctes (Figure 02) (Schroder et Hartmann, 2003) :

- L'endorhizosphère (intérieur de la racine) ;
- Le rhizoplan (surface racinaire) ;
- L'ectorhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine).

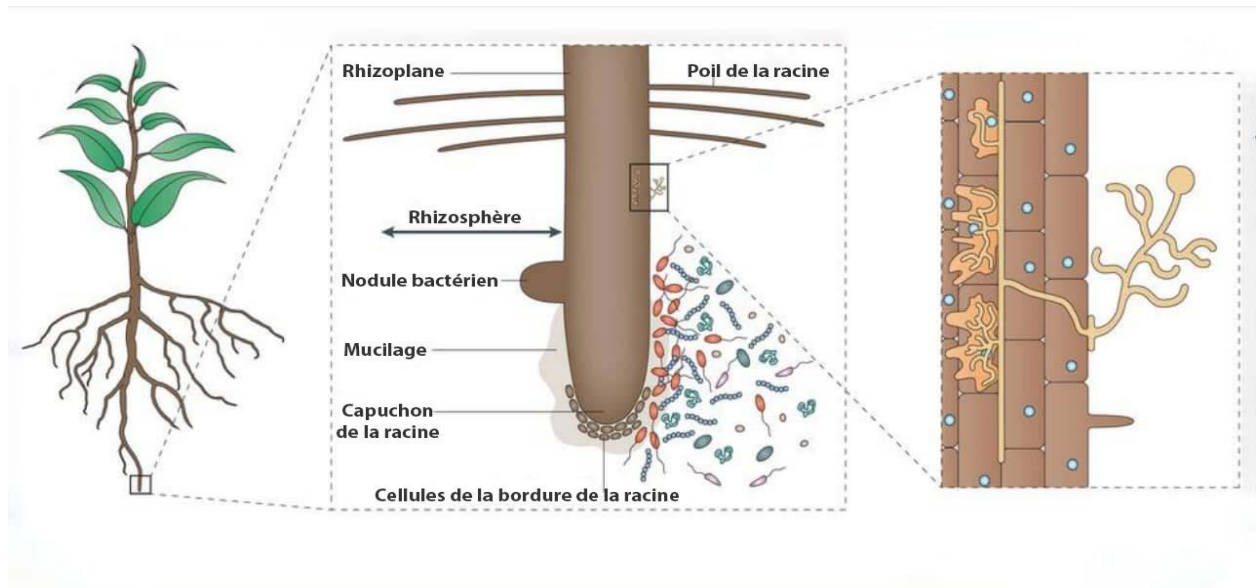


Figure 02 : Représentation schématique d'une zone rhizosphérique et ses principaux composants (Lepinay, 2015).

I.1.2. Caractéristiques du sol rhizosphérique

La richesse de la rhizosphère en nutriments la rend nettement différente des autres parties du sol. Cette différence est le résultat de plusieurs échanges entre le sol et la plante (Courchesne et *al.*, 2001). Elle se caractérise par :

- Son pH ;
- Son potentiel d'oxydoréduction ;
- Son flux d'eau vers les racines ;
- L'abondance et la composition de la matière organique ;
- Sa forte activité biologique qui se traduit par une teneur élevée en CO₂.

I.1.3. Rôle de la rhizosphère

Les divers intérêts de la rhizosphère se résument comme suit :

- La lutte contre l'érosion, le gel et les incendies ;
- Elle est le siège des processus de phytoremédiation (Maalem et Sansri, 2014) ;
- Elle contribue à la modification des propriétés biologiques, l'activité microbienne, la fertilité et la qualité du sol ;
- La rhizosphère est un habitat favorable à la stimulation de la croissance et l'activité des bactéries telluriques grâce à sa richesse en nutriments ;
- En lien avec la nature des exsudats racinaires, la rhizosphère joue un rôle primordial dans la régulation de la santé et la nutrition des plantes (Hinsinger et *al.*, 2005) ;

- La synthèse de phosphatase dans la rhizosphère augmente la disponibilité du phosphore assimilable pour les plantes (Hinsinger et *al.*, 2005) ;
- La rhizosphère est un site réducteur où se développe une activité dénitrifiante, réduisant l'ion nitrate en oxyde d'azote, voir en ammoniacque, grâce à la richesse de cette zone en gaz carbonique et sa pauvreté en oxygène (Gobat et *al.*, 2003) ;
- Elle est le lieu privilégié d'échanges de matière et d'énergie entre les microorganismes et les végétaux qui se traduisent par la libération de composés organique, l'absorption d'eau et d'ions, la synthèse de multiples métabolites microbiennes (Gobat et *al.*, 2003).

I.1.4. Microflore rhizosphérique

Le sol est une véritable usine de la vie ayant une variété de microflore. Il est constitué de cinq composants majeurs : la fraction minérale, matière organique, eau, air et organismes vivants.

Environ un milliard de micro-organismes spécifiques (bactéries, champignons, algues et protozoaires) sont abrités dans 1g de sol (Figure 03), pouvant être libres ou étroitement associés aux racines. N'ayant pas une répartition aléatoire, on distingue les micro-organismes symbiotiques et non symbiotiques.

Leur capacité à s'établir au sein de la rhizosphère se détermine par les facteurs physico-chimiques et la teneur en nutriments (Lugtenberg et *al.*, 2013). La rhizosphère marque la présence de plusieurs bactéries parmi lesquelles on peut citer les PGPR, groupe des *Pseudomonas*, *Bacillus* (Malek, 2015) et certains champignons dont : *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et le genre *Trichoderma* qui est le plus important. Ces derniers peuvent établir une association symbiotique avec les racines permettant à la plante de capter différents éléments nutritionnelles tels que le phosphore.

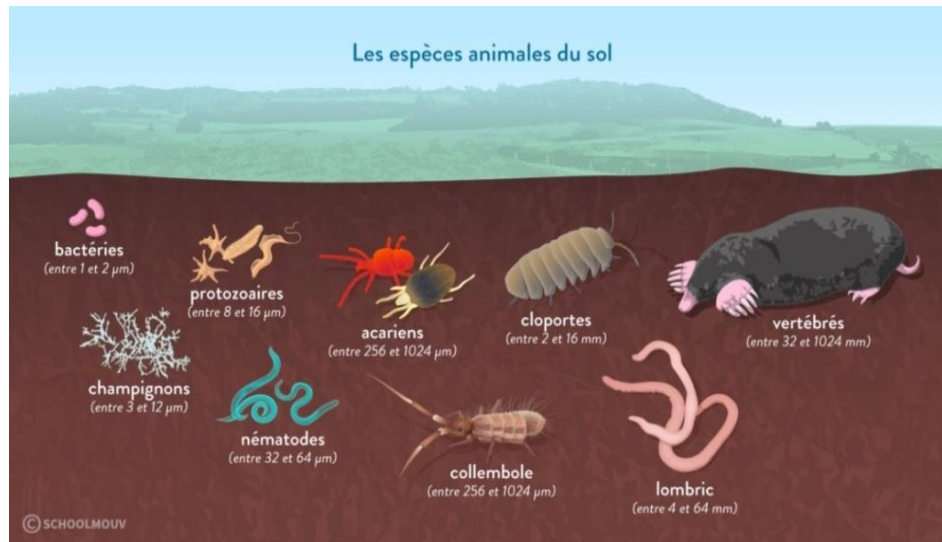


Figure 03 : Schéma représentatif de la diversité biologique du sol (Gobat et *al.*, 2010).

I.1.5. Facteurs favorisant la flore de la rhizosphère

- L'aération: la majorité des microorganismes utiles sont aérobies ;
- L'humidité: Elle doit être en moyenne de 18 à 20 % ;
- La température : activité nulle à 0°C ; Moyenne entre 10 et 15°C, Optimale à 30°C ;
- Le pH (optimum de 6 à 7,5): voisin de la neutralité. L'acidité du pH détruit la flore ;
- La présence de calcium échangeable ;
- La quantité de matières organiques: un apport stimule la flore du sol mais un excès peut être un signe de mauvaise décomposition ;
- La présence de la faune.

I.2. Rhizodéposition et l'effet rhizosphérique

D'après la bibliographie, le sol près des racines diffère du sol global (Gregory et Hinsinger, 1999). A ce niveau, les conditions physico-chimiques et biologiques sont modifiées par les racines, un effet qui s'explique par l'absorption et l'excrétion des éléments minéraux et par les composés organiques. C'est la rhizodéposition.

La rhizodéposition a été définie pour la première fois par Whipps et Lynch (1985), comme toute matière perdue des racines des plantes. Les rhizodépôts sont constitués principalement de composés carbonés et azotés sécrétés par les plantes y compris des produits photosynthétiques (Tableau I). Un flux important de carbone libéré est utilisé par les microorganismes hétérotrophes du sol comme source d'énergie et d'éléments nutritifs afin de stimuler leur croissance.

Tableau I : Les différents constituants de rhizodépôts selon leur composition biochimique et mode de libération.

Les constituants de rhizodépôts	Définition
Les exsudats	Des petites molécules hydrosolubles secrétées passivement par les racines vers la solution du sol. Ils sont composés principalement de sucres, acides aminés, vitamines, régulateurs de croissance, enzymes et nucléotides.
Les secrétions	Composés de poids moléculaire variable, libérés par transport actif.
Les lysats	Des produits venant de la destruction des poils absorbants et des cellules périphériques de la racine.
Les mucilages	Composés de haut poids moléculaire, libérés par les cellules au niveau de l'extrémité de la racine.
Le mucigel	Un matériel gélatineux, de débris racinaires, bactériens et de particules minérales.

I.3. Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère

La plupart des études menées sur la richesse du sol ont révélées que sa diversité peut être altérée par :

Facteurs abiotiques

Plusieurs facteurs abiotiques affectent la diversité bactérienne tellurique. Les conditions climatiques, notamment la température, l'humidité, radiation solaire, teneur en CO₂, contrôlent la biomasse et la structure des communautés microbiennes dans la rhizosphère (Zhou et *al.*, 2014).

Selon Tian et *al.* (2013) le type du sol et ses paramètres physico-chimiques (pH, disponibilité en nutriments, solubilité des métaux et le contenu en carbone, l'humidité et la salinité) influencent la composition du microbiote de la rhizosphère.

Facteurs biotiques

Les rhizodépôts jouent un rôle structurant majeur des communautés microbiennes à proximité des racines. Les exsudats racinaires peuvent en modifier le microbiome (Badri et *al.*, 2013).

Les signaux rhizosphériques influent sur l'expression génique « épigénétique ». Ils sont souvent « phytobénéfiques » en améliorant l'architecture, la croissance et le fonctionnement du système racinaire. Le génotype de la plante a une influence importante sur la composition de la communauté microbienne de la rhizosphère (Koranda et *al.*, 2011).

I.4. Interactions microbiennes dans la rhizosphère

Selon Ghitri (2018), la rhizosphère est l'habitat de diverses interactions entre les racines des plantes, les microorganismes et le sol. Ces interactions peuvent être négatives (compétition) ou positives (commensalisme, synergie et mutualisme), ou positives pour l'une et négatives pour l'autre population (parasitisme).

I.4.1. Commensalisme

C'est une interaction durable entre deux espèces dont l'une tire un bénéfice de cette association sans nuire à l'autre.

I.4.2. Mutualisme

Est une relation mutuellement avantageuse entre deux ou plusieurs espèces, dans laquelle les organismes impliqués tirent tous les deux profits de cette association.

I.4.3. Antagonisme

C'est une inhibition d'un microorganisme par un autre. Il se manifeste soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose (Djellout et *al.*, 2019).

I.4.3.1. Hyperparasitisme

C'est lorsque un microorganisme (parasite) tire un profit en se nourrissant, s'abritant ou en se reproduisant aux dépens d'un hôte. La rhizosphère constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme (Benhacene et *al.*, 2016).

I.4.3.2. Compétition

Biologiquement, c'est une interaction entre des individus d'une même espèce ou d'espèces différentes qui rentrent en compétition pour l'accès aux ressources limitées du milieu. Il existe deux types de compétition : intra-spécifique et inter-spécifique.

I.4.4. Symbiose

C'est une interaction bénéfique dans laquelle deux partenaires ne peuvent pas exister l'un sans l'autre. Le fonctionnement de symbiose repose sur l'interaction étroite entre les trois composantes qui sont le sol, les microorganismes telluriques et la plante.

I.5. Concept de gestion de la rhizosphère

La gestion de la rhizosphère dans l'objectif d'un développement durable du système plante- sol peut être l'un des moyens d'optimiser l'utilisation efficace des ressources du

sol dans divers systèmes de culture.

A l'interface sol-racine, la manipulation des processus biologiques, chimiques et physiques est incluse favorisant la croissance de la qualité végétale, c'est le concept de gestion. Les micro-organismes rendent disponibles dans la solution du sol des éléments nutritifs tels que le fer, le calcium, le phosphore sous leurs formes minérales et organiques assimilable par les plantes.

Ce processus engloberait des actions sur le système racinaire, la biodisponibilité et la localisation des nutriments, l'intensification des processus de la rhizosphère (Zhang et *al.*, 2010). L'impact chimique, physique et biologique de la rhizosphère augmente avec le développement du système racinaire. Sans racine, il n'y a pas de rhizosphère ni de rhizodéposition comme carburant pour l'activité racinaire (Hodge et *al.*, 2009).

I.6. Méthodes d'étude de l'activité et la diversité fonctionnelle dans la rhizosphère

L'étude du microbiote de la rhizosphère peut être réalisée par différentes techniques : techniques traditionnelles basée sur des tests biochimiques ou la culture microbienne.

Cependant, seul un faible pourcentage de microorganismes présents dans les sols peuvent être cultivés et plus récemment des méthodes moléculaires ont été développées à base d'ADN ou d'ARN permettant d'accéder à la totalité des organismes présents dans le sol rhizosphérique.

I.6.1. Méthodes culturales

L'approche classique permet l'étude d'un échantillon issu d'un environnement microbien, ce qui implique l'isolement des microorganismes, les cultiver dans des boîtes de Pétri, étudier leurs propriétés par des cultures au laboratoire en se basant sur des tests biochimiques et sur l'analyse du taux de croissance bactérienne. Actuellement, la mesure de l'activité enzymatique constitue un paramètre largement utilisé dans la détermination de la diversité microbienne.

Cependant, 99% des microorganismes de l'environnement ne sont pas cultivables dans les conditions de laboratoire. Par conséquent, les méthodes culturales ne peuvent ouvrir qu'une petite fenêtre sur la diversité microbienne des sols.

I.6.2. Méthodes moléculaires

L'arrivée des méthodes de biologie moléculaire, notamment celles liées à la caractérisation génomique, a fourni un instrument qui élargit le champ des recherches visant à identifier des microorganismes, parfois même *in situ*, et à estimer leur diversité génétique et

fonctionnelle (Amann et *al.*, 1995). Ces méthodes prennent en compte les propriétés génomiques des bactéries et principalement le rapport des bases azotées (guanine, cytosine, adénine, thymine) dans la séquence d'ADN et la similarité de séquences d'ADN obtenue par la technique d'hybridation ADN-ADN (Oren, 2004).

La fusion de la biologie moléculaire et la bioinformatique a facilité l'étude de la diversité microbienne et de développer une taxonomie basée sur la phylogénie moléculaire permettant l'établissement d'arbres phylogénétiques bactériens en comparant les séquences de gène orthologue présents dans les espèces étudiées. En 1987, Woese a proposé l'utilisation du gène de l'ARN ribosomique 16S comme marqueur phylogénétique.

Selon la même source, les ADNr étaient considérés comme une horloge moléculaire car en évoluant plus lentement que le reste du génome, ils permettent de fournir des indications sur l'évolution des populations.



Chapitre II :
Bactéries promotrices de la croissance
des plantes



II.1. Les rhizobactéries

II.1.1. Définition

Les rhizobactéries sont regroupées sous le terme « PGPR » qui désigne les bactéries ayant l'aptitude à coloniser la rhizosphère. Celles-ci exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par plusieurs moyens selon leur position stratégique à l'interface sol-racine (Orozco et *al.*, 2021). Divers genres bactériens ont été identifiés comme PGPR : *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*.

II.1.2. Rôle des PGPR

Il est approuvé que certaines souches de PGPR aient un impact positif sur la croissance des plantes ainsi que sur l'augmentation du rendement de la culture par multiples mécanismes.

II.1.2.1. Résistance aux pathogènes du sol

Lorsque les PGPR s'atténuent ou préviennent les effets délétères d'un ou plusieurs organismes phytopathogènes, la croissance des plantes se produit. Cela peut se faire en synthétisant des substances antagonistes ou en induisant une résistance aux agents pathogènes (Beneduzi et *al.*, 2012).

II.1.2.2. Croissance racinaire

Certains PGPR fournissent à la plante des composés comme les phytohormones et les cytokinines, ce qui lui permet de développer un système racinaire.

II.2. Différents genres de PGPR

II.2.1. *Bacillus*

Les *Bacillus* sont des bactéries à Gram positif très répandues dans la nature, appartenant à la famille des *Bacillaceae*, l'ordre des *Bacillales*, la classe des *Bacilli*. Leur habitat principal est le sol où ils jouent un rôle dans les cycles du carbone et de l'azote. Ces espèces ont également été utilisées pour préparer des produits médicaux, industriels et agricoles (Lyngwi et Joshi, 2014). Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique, stimulent la croissance des plantes en formant des biofilms au niveau des racines ce qui augmente leur croissance. L'application d'engrais à base de *Bacillus* au sol peut améliorer les formes de nutriments disponibles pour les plantes dans la rhizosphère, contrôler la croissance microbienne pathogène et induire des systèmes de défense contre les ravageurs (Garcia et *al.*, 2015).

II.2.2. *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae*, l'ordre des *Pseudomonales*. Ce sont des bactéries mobiles aérobies ubiquistes à Gram négatif avec une forme droite ou légèrement courbée, capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme source de carbone et d'énergie. Elles ont également une capacité élevée à coloniser la rhizosphère les rendant ainsi comme étant les meilleurs candidats PGPR (Saharan et Nehra, 2011). Certains genres de *Pseudomonas* sont capables d'induire une résistance systémique chez la plante, ce qui engendre une protection contre un grand nombre d'agents pathogènes fongiques et bactériens.

II.2.3. *Rhizobia*

Les rhizobias sont des bactéries aérobies du sol, appartenant à la famille des *rhizobiaceae*. Ce sont des Gram négatives possédant une forme de bâtonnet et non sporulant. Elles ont la faculté d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des légumineuses et contribuent à l'amélioration de la disponibilité des phosphates pour la plante par mobilisation des formes organiques et inorganiques (Sahran et Nehra, 2011).

II.2.4. Les Actinomycètes

Les Actinomycètes sont reconnus comme des organismes procaryotes à Gram positives, elles ont été considérées comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et champignon (Dommergues et Mangenot, 1970). Appartenant à la flore du sol, sont généralement aérobies à métabolisme oxydatif, plus rarement anaérobies à métabolisme fermentatif.

En raison de leur rôle dans la fertilisation des sols, la décomposition des matières organiques, et la synthèse de composés complexes comme les antibiotiques, vitamines et les stéroïdes, les actinomycètes sont désormais actifs, bénéfiques et importants (Duhoux et Nicole, 2004).

II.3. Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes par PGPR

Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes, de manière directe ou indirecte, qui peuvent se produire simultanément ou séquentiellement (Figure 04) (Beauchamp, 2021).

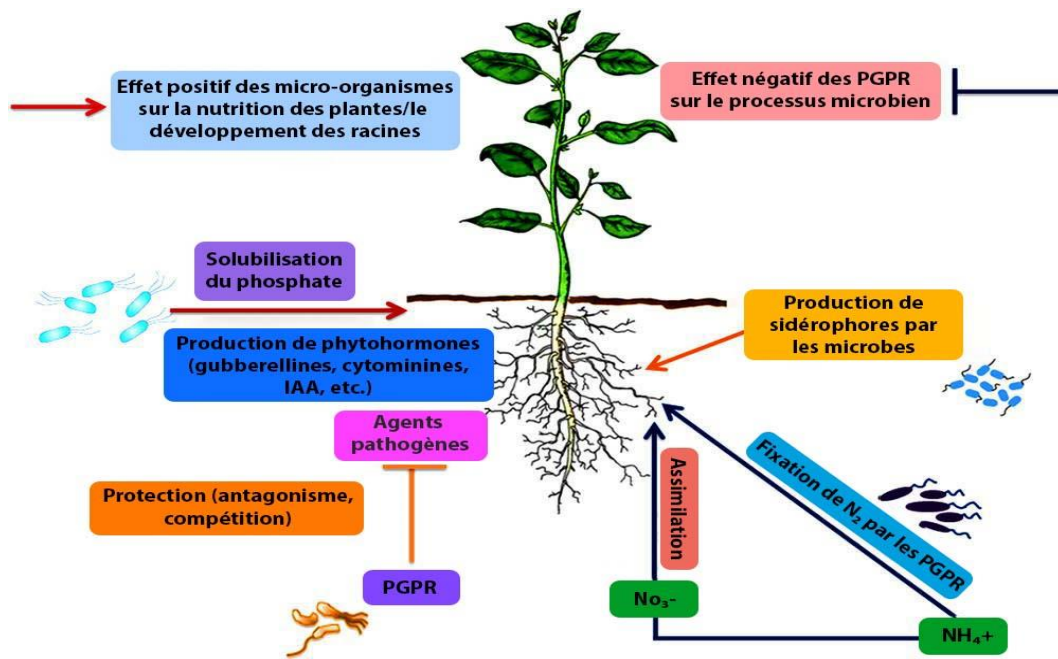


Figure 04 : Les interventions des PGPR sur la croissance des plantes (Glick, 2012).

II.3.1. Effets directs

II.3.1.1. Solubilisation du phosphate

Le phosphore c'est un élément nutritif indispensable à la croissance des plantes, il favorise le développement du système racinaire et régularise la mise à fleurs, le développement et la maturation des fruits. Il permet un développement harmonieux de la plante.

Dans le sol, le phosphore à une très faible mobilité ce qui le rend facilement adsorbé. Le prélèvement du phosphore par les racines des plantes n'a lieu que sous forme d'ions orthophosphates PO_4^{3-} qui est sa forme assimilable, et cela ne se fait que par l'intervention des bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB) de la rhizosphère, qui ont la capacité de solubiliser le phosphore organique ou inorganique par la libération d'acides organiques (Figure 05) (Govind et *al.*, 2015).

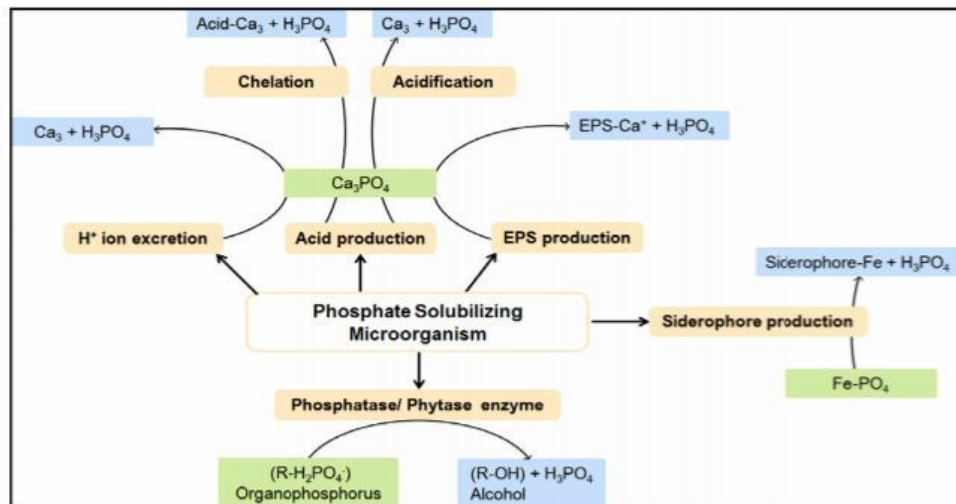


Figure 05 : Mécanismes de solubilisation des phosphates inorganiques et organiques (Prabhu *et al.*, 2019).

II.3.1.2. Fixation de l'azote

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est un élément crucial des activités microbiennes dans l'environnement, qui participe au maintien de la vie sur terre. Ce processus se produit lorsque l'azote atmosphérique est converti en ammoniac par les nitrogénases microbiennes. Certains PGPR ont la capacité de convertir l'azote atmosphérique en azote utilisable par les plantes. La fixation de l'azote par les PGPR se fait soit d'une façon symbiotique à travers une relation mutualiste intime entre une bactérie et une plante nodulante, soit non symbiotique par des microorganismes vivant librement dans le sol (les bactéries diazotrophes) (Govindasmy *et al.*, 2010).

II.3.1.3. Solubilisation de potassium

Le potassium est le nutriment le plus important qui joue un rôle primordial dans la croissance, le métabolisme et le développement des plantes, et leur confère une résistance aux maladies nuisibles et les stress abiotiques (Hussain *et al.*, 2016). Il existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate dans le sol, c'est pourquoi l'intervention des microorganismes solubilisant le potassium présent dans le sol peut fournir une solution alternative pour rendre le potassium disponible assimilable par les plantes.

II.3.1.4. Production des métabolites stimulant la croissance des plantes

II.3.1.4.1. Production des phytohormones

Les phytohormones sont des petites molécules de signal, qui jouent un rôle primordial dans la régulation de la croissance des plantes présentes en très faible concentration (Mezaache, 2012). Les PGPR produisent des phytohormones telles que l'AIA, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène qui peuvent affecter la prolifération cellulaire dans les structures

racinaires par la surproduction des racines latérales et des racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2013).

❖ Acide indole-3-acétique (IAA)

L'IAA est l'une des auxines les plus étudiées et les plus produites par les PGPR. Ses principales fonctions sont la division cellulaire, l'élongation, la différenciation et l'extension. Ils peuvent être utilisées pour stimuler les mécanismes de défense de la plante (Spaepen et *al.*, 2007).

❖ Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase

Ces dernières années, un nouveau mécanisme favorisant la croissance des plantes impliquant l'éthylène a été proposé (Burdman et *al.*, 2000). Certains PGPR produisent de l'ACC désaminase, une enzyme qui pourrait cliver l'ACC, le précurseur immédiat de l'éthylène dans la voie de biosynthèse de l'éthylène chez les plantes. L'activité de l'ACC désaminase réduit la production d'éthylène et favorise l'allongement des racines. Par conséquent, les PGPR qui produisent cette enzyme atténueront les multiples stress des plantes causés par des infections, l'absorption de métaux lourds, la salinité élevée et même la sécheresse (Glick et *al.*, 1998).

Le rôle de l'ACC désaminase chez les PGPR est actuellement bien établi. Les PGPR s'attachent aux racines et métabolisent les exsudats racinaires tels que le tryptophane et le transforment en auxines particulièrement en AIA. Cet AIA rhizobactérien ainsi que l'AIA endogène de la plante peuvent induire l'activité de l'ACC-synthase qui produit de l'ACC (Penrose et Glick, 2001).

❖ Cytokinines

Les cytokinines sont une classe de phytohormones, qui agissent comme des facteurs de croissance, principalement produites dans les racines puis transportées dans toute la plante.

II.3.2. Effets indirects

II.3.2.1. Compétition

Aux alentours des racines, les micro-organismes sont en concurrence pour l'accès aux éléments nutritifs (le carbone ou le fer), l'espace, et d'autres facteurs environnementaux. Les PGPR se caractérisent par leurs capacités à synthétiser les sidérophores, ces molécules permettent de piéger le fer dans des complexes que les agents pathogènes du sol ne sont pas capables d'utiliser.

Dans certains cas, la diminution des maladies phytopathogènes peut être liée à la colonisation vitale des racines par les PGPR, ce qui réduit le nombre d'habitats des pathogènes et donc leur croissance, certaines souches de *Pseudomonas* sont dotées d'une capacité agressive à coloniser les racines des plantes (Cherif, 2014).

II.3.2.2. Induction de la résistance systémique

De nombreux PGPR confèrent à la plante un certains degrés de protection contre les agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, insectes) via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Ce phénomène est appelée la résistance systémique induite (RSI), et il peut être divisé en trois étapes principales (Figure 06) :

- Cette immunité s'initie suite à la perception par la plante de molécule bactériennes responsables du phénomène d'élicitation ;
- La transmission du signal nécessaire pour la systématisation du phénomène dans la plante ;
- L'expression des mécanismes de défense qui vont limiter et inhiber la pénétration de pathogène dans les tissus de l'hôte végétal.

Des bactéries telles que *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* et *Enterobacter*, sont capables d'induire une résistance des plantes vis-à-vis des organismes pathogènes comme *Fusarium solani*, *Pythium ultimum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, etc. (Romera et al., 2019). L'implication des PGPR dans la résistance systémique induite a été démontrée chez plusieurs plantes contre plusieurs agents pathogènes.

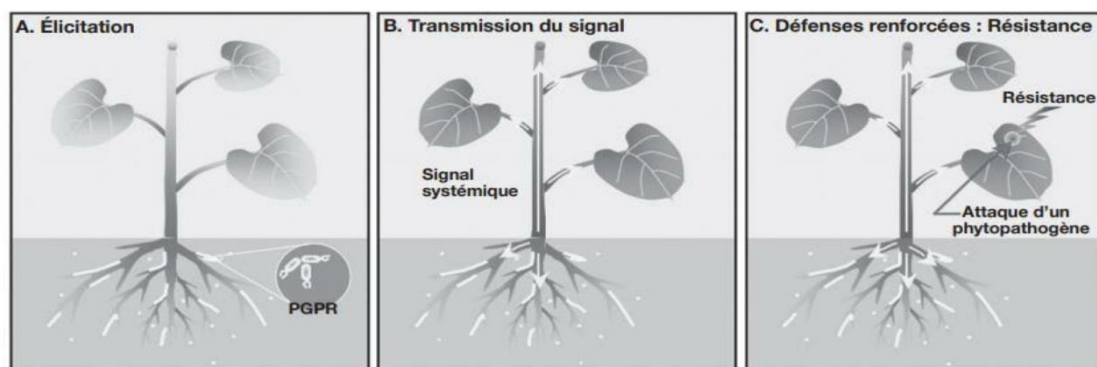


Figure 06 : Résistance systémique induite chez les plantes par des rhizobactéries (Jordan et al., 2008).

II.4. Compétence rhizosphérique et colonisation des racines par les PGPR

Une des propriétés intéressantes des PGPR réside dans leur compétence rhizosphérique, qui correspond à leur capacité à coloniser la rhizosphère, en particulier les surfaces racinaires pendant une période considérable en présence ou non d'une microflore existante. Diverses

études antérieures, ont permis de faire la constatations que les PGPR colonisent la rhizosphère, la surface racinaire (rhizoplan) de la plante hôte où se trouvent des molécules exsudées par la plante (sucres, AA, acides organiques, vitamines et mucilage) nécessaires à leur développement (Bais et *al.*, 2006). Les PGPR peuvent coloniser et se rencontrer dans des zones riches en ces macromolécules, principalement dans la zone d'émergence des racines secondaires, la zone pilifère, la zone d'élongation, l'apex racinaire et leurs portions de sol associés. À ces endroits, les PGPR sont attirées chimiotactiquement par des sources nutritive puis se fixent à la surfaces des racines via des poils bactériens et de pectines.

II.5. Potentiel biotechnologique


Utilisées comme outils pour améliorer la croissance des plantes, les PGPR ont plusieurs avantages pratiques: elles sont réparties sur les sept continents, ne sont pas limitées phylogénétiquement (au moins cinq phyla et 24 genres), et la plupart d'entre elles présentent une faible spécificité à l'hôte (Rubin et *al.*, 2017).

Ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et les éléments nutritifs. Elles renforcent les capacités défensives des plantes contre les maladies. Elles influencent positivement la levée des graines et améliorent le rendement des cultures.


Les PGPR offrent des applications intéressantes en agriculture comme la biofertilisation et la lutte biologique par les biopesticides, ainsi que des applications en phytoremédiation et d'autres applications environnementales (Tableau II).

Tableau II : Les différentes formes des PGPR et leurs actions (Martínez-Viveros et *al.*, 2010)

Les formes des PGPR	Définitions	Mécanismes d'action
Biofertilisants	Une substance contenant des microorganismes vivants, qui promeuvent la croissance des plantes en augmentant le nombre des éléments fertilisants de la plante hôte.	- Fixation biologique d'azote. -Utilisation du phosphore insoluble.
Phytobénéfiques	Micro-organisme, capable de produire des phytohormones.	-Production des phytohormones.
Biopesticides	Micro-organismes qui favorisent la croissance des plantes en contrôlant les agents phytopathogènes.	-Production d'antibiotiques. -Production d'enzymes hydrolytiques. -Résistance systémique acquise et induite.



Chapitre III :
Aperçu bibliographique sur le blé dur
(Triticum durum)



III.1. Données sur le blé

III.1.1. Origine du blé

Le blé est l'une des céréales les plus anciennes dont le grain sert à l'alimentation humaine (pain, semoule, pâtes, biscuits) qui appartient à la famille botanique des graminées ou Poacées. Cette plante annuelle a été domestiquée au Proche-Orient, espace connu sous le nom du « Croissant fertile » où les terres sont cultivables grâce à un climat suffisamment pluvieux. Il couvre l'Israël moderne, l'Irak, la Palestine, la Syrie, le Liban, l'Égypte, la Jordanie, la périphérie de la Turquie et l'Iran, et il s'est propagé vers le Nord-Ouest par les plaines côtières du bassin méditerranéen et au travers des Balkans (Omari et Tahri, 2021).

III.1.2. Classification systématique

Comme les autres céréales, le blé est une plante monocotylédone appartenant à l'ordre des Poales et à la famille des Poaceae.

Selon Feillet (2000), la position systématique du blé dur est la suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Monocotylédones
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	Triticum
Espèces	<i>Triticum durum</i> (blé dur)

III.1.3. Caractères morphologiques du blé

Le blé est une espèce de plante herbacée caractérisée par des critères morphologiques particuliers. Sa hauteur moyenne peut atteindre jusqu'à 1,5 m selon les variétés. Pour une description détaillée de la plante, il y'a nécessité de décrire chaque organe constituant le blé (Figure 07). Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule lors de la levée, et des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent (Boulal et *al.*, 2007).

L'épi est issu du bourgeon terminal du plateau de tallage lorsque le développement de la tige est terminé. Celui-ci apparaît enveloppé dans la dernière feuille.

La tige est cylindrique, généralement creuse et subdivisée en entre-nœuds à partir desquelles se différencient les feuilles. Elle se présente comme des tubes cannelés, avec de longs et nombreux faisceaux conducteurs de sève.

Les feuilles sont alternées, rubanées, engainantes et peuvent atteindre 30cm². Elles se composent d'une gaine entourant la tige et un limbe qui se déploie lorsque la feuille atteint sa taille adulte.

Les épillets représentent des petits groupes de fleurs insérées sur l'axe de l'épi. Chaque fleur est dépourvue de pétales, protégées par des glumelles et des glumillules. Après la fécondation, la fleur donne naissance à un fruit unique, le caryopse ou grain (Hacini, 2014).

Le fruit, le grain appelé également caryopse, est à la fois le fruit et la graine. Il est de forme ovoïde et comprends deux faces : une dorsale un peu bombée et une ventrale plane. Le caryopse est constitué de 03 parties : les enveloppes, l'albumen ou amande, l'embryon ou germe. Sa couleur varie entre le blanc et le roux selon les conditions climatiques, pédologiques et culturales (Hacini, 2014).

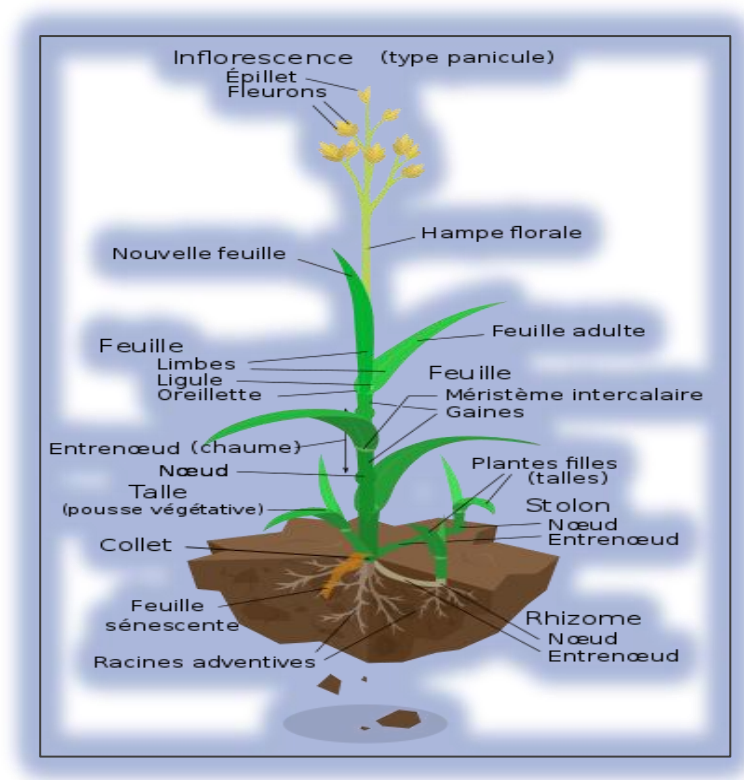


Figure 07 : Morphologie du blé (Sadouki, 2018).

III.1.4. Importance du blé dur

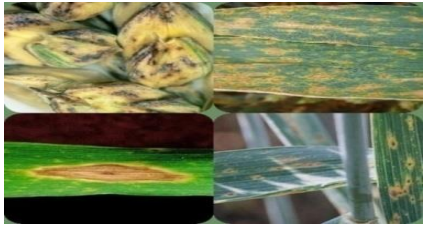



Le blé dur est une base de l'alimentation considérée comme source majeure d'énergie et de protéines végétales. Il sert à la production de pâtes alimentaires, du couscous, le pain, le

frik, et divers gâteaux (Agrichem, 2016). Au-delà de ses valeurs nutritionnelles, le blé possède des vertus médicinales. Par conséquent, cette plante est recommandée pour améliorer le transit intestinal, traiter la gastro-entérite, le rhume et la toux et il est utile contre le cholestérol en vue de la présence du phytostérols dans sa composition. La consommation quotidienne du son de blé prévient certains cancers.

III.2. Principales maladies du blé

Comme toutes les céréales, le blé peut être affecté par plusieurs maladies dont les maladies cryptogamiques pouvant entraîner de grandes pertes de production (Ezzahiri, 2017) (Tableau III).

Tableau III : Principales maladies du blé (Ezzahiri, 2017).

Maladies	facteurs favorisant son développement	Description de la maladie
 <p>Helminthosporioses (Tan spot)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -T° > 15°C ; - Vent ; -Alternance d'humidité et de sécheresse. 	<ul style="list-style-type: none"> - C'est une maladie foliaire ; -Elle est causée par <i>Pyrenophoratrifici-repentis</i> ; - Ses symptômes apparaissent principalement sur les feuilles.
 <p>Fusariose</p>	<ul style="list-style-type: none"> -T°>15°C ; -Climat humide ; -Episodes pluvieux. 	<ul style="list-style-type: none"> - Est une maladie fongique ; - Elle affecte la qualité du grain et son rendement. -Causée par deux genres de champignons: <i>Fusarium</i> et <i>Microdochium</i>.
 <p>La rouille brune du blé</p>	<ul style="list-style-type: none"> -T° comprises entre 15°C et 22°C ; -Une humidité relative de 100 %. -Le vent sec. 	<ul style="list-style-type: none"> - Une maladie cryptogamique ; -Elle affecte les feuilles, les tiges et grains du blé. -<i>Puccinia triticina</i> est le champignon responsable de cette maladie.
 <p>L'oïdium du blé</p>	<ul style="list-style-type: none"> -T° = 15°C ; -Humidité > 95 % ; -Les conditions de sécheresse. 	<ul style="list-style-type: none"> -Causée par <i>Blumeria graminis</i> ; -Se manifeste par des pustules blanches qui se développent sur les feuilles, les tiges et les épis.

III.3. Relations plante-pathogène

Dans l'environnement, les plantes sont associées aux micro-organismes qui constituent leur microbiote, dont certains nuisent gravement aux récoltes (bactéries, champignons, virus, etc). Tandis que d'autres améliorent leur santé (nutrition, résistance aux maladies). Par conséquent les plantes mettent en place des mécanismes efficaces qui contrôlent leurs expositions aux agents pathogènes. A cet égard, on distingue deux types de relation (Lepoivre, 2003) :

Relation non-hôte

C'est l'immunité d'une plante entière exprimée contre toutes les variantes génétiques de l'agent pathogène. Elle se manifeste par l'incapacité des microorganismes potentiellement pathogène à infecter la plante. Cette résistance est due à l'absence des éléments nécessaires à la colonisation efficace par l'agent pathogène (Lepoivre, 2003).

Relation hôte

L'évolution d'une maladie ainsi que ses symptômes sont étroitement liés aux relations qui s'établissent entre la plante et l'agent pathogène. Ce n'est qu'après cette reconnaissance que s'engagent les processus actifs de résistance ou de sensibilité, d'incompatibilité ou de comptabilité (Lepoivre, 2003).

- La relation est dite hôte incompatible, lorsque les plantes répondent rapidement à la tentative d'invasion et sont épargnées. Elles sont résistantes.
- La relation est dite hôte compatible, lorsque l'agent pathogène ne réveille pas les mécanismes de défense de la plante, il s'y installe pour s'y développer, la plante est alors dite sensible.

III.4. Moyens de lutte

La lutte contre les maladies cryptogamiques du blé vise à minimiser et retarder le développement des maladies. En général, elle peut se faire par plusieurs voies : biologique, chimique ou culturale, mais il est préférable d'intégrer ces différentes méthodes dans un seul programme, ce qui reviendra moins cher pour l'agriculteur (Eyal, 1999).

III.4.1. Lutte biologique

La lutte biologique est apparue vers le début du XXe siècle pour protéger les cultures des agents pathogènes. Elle désigne toute forme d'utilisation d'organismes vivants inoffensifs, l'inoculation de microorganismes bénéfiques ou de leurs sous-produits, ou

l'extraits de plantes afin d'éliminer et limiter la nocivité des divers ravageurs des cultures (rongeurs, insectes, nématodes, agents des maladies) (Lydie, 2010). Une lutte biologique réussie en nécessite l'application d'un agent de biocontrôle efficace doté d'une capacité à coloniser et s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (Singh et *al.*, 2003).

▪ Auxiliaires utilisés en lutte biologique et leur mode d'action

Un auxiliaire a la même signification qu'un antagoniste ou ennemi naturel. Plusieurs organismes peuvent être considérés comme des auxiliaires ; les micro-organismes, les prédateurs, les nématodes et les insectes. Ces organismes bénéfiques utilisés en lutte biologique doivent avoir de bons taux de reproduction, une spécificité, une bonne capacité d'adaptation et leur cycle de vie doit être synchronisé à celui des ravageurs (Weeden et *al.*, 2007).

Parmi les micro-organismes ; les bactéries rhizosphériques sont les meilleurs candidats à appliquer sous forme de cellules vivantes. Elles exercent une activité antagoniste à travers différents mécanismes notamment : la compétition, les interactions directes cellule à cellule, l'antibiose, la dégradation des signaux de quorum sensing (QS) et les effets sur la résistance de l'hôte (Bojanowski, 2011).

▪ Avantages et inconvénients de la lutte biologique

D'un point de vue environnemental, social et économique, la lutte biologique présente de nombreux avantages (Lefort, 2010), mais aussi des lacunes (Tableau IV).

Tableau IV : Principaux avantages et inconvénients de la lutte biologique (Lefort, 2010).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> • Haute spécificité contre l'agent pathogène. • Efficace (peuvent agir à faible dose). • Très sécuritaire pour la santé humaine et l'environnement suite à l'utilisation d'auxiliaire. • Elle est conçue pour réduire la densité des populations des ravageurs. • Rendement à court et à long terme. • Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution. • Moins coûteux. • Moins toxique que les pesticides chimiques. • Très peu de résidus sur les plantes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité par rapport aux facteurs de l'environnement (température, pH...). • la lutte biologique nécessite une connaissance approfondie des ravageurs et des auxiliaires. • coûteux à élever en masse. • la lutte biologique ne convient pas à tous les ravageurs. • L'élimination totale d'un ravageur n'est pas possible. • Efficacité non constante d'une production à l'autre. • Des erreurs d'intégration d'auxiliaire peuvent survenir. • le traitement est souvent complexe.

III.4.2. Lutte chimique

C'est la méthode de lutte la plus utilisée en raison de son efficacité et qui confère aux plantes une protection contre tout les ravageurs en utilisant les pesticides (fongicides, insecticides, bactéricides, nématicides et herbicides) (Bolognesi et Merlo, 2011).

▪ Fongicides

Les fongicides sont des agents conçus à détruire, affaiblir ou inhiber le développement des champignons. Ils sont appliqués dans les industries pharmaceutiques, l'agriculture, dans la protection des semences pendant le stockage et la prévention de la croissance de champignons qui produisent des toxines (Oliver et Hewitt, 2014).

▪ Avantages et inconvénients de la lutte chimique

L'utilisation de la lutte chimique contre les ravageurs de culture présente des avantages ainsi que des inconvénients non négligeables (Tariq et *al.*, 2007) (Tableau V).

Tableau V : Principaux avantages et inconvénients de la lutte chimique (Tariq et *al.*, 2007).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> • Excellente efficacité. • Rapidité. • Les insecticides sont disponibles dans les magasins. 	<ul style="list-style-type: none"> • Le coût du traitement est élevé. • Non efficace au bout d'un certain temps. • Provoque des problèmes de santé. • Effets non négligeables sur l'écosystème (pollution importante, disparition de la biodiversité, etc.). • Ce traitement est largement tributaire des facteurs climatiques (pluie, etc.). • Développe une résistance des ravageurs face aux insecticides.



Deuxième partie
Etude expérimentale





Chapitre I :
Matériel et méthodes



I.1. Objectif de l'essai

L'objectif du présent travail consiste à isoler des bactéries promotrices de la croissance des plantes à partir de la rhizosphère du blé dur en se basant sur leurs caractères morphologiques : macroscopiques, microscopiques et biochimiques ; ainsi qu'à l'évaluation de leurs capacités à produire des métabolites qui auraient un impact bénéfique sur les plantes.

Ce travail a également porté sur l'étude de leurs capacités antagonistes à l'égard d'un champignon pathogène (*Alternaria sp*). Le dernier essai consiste à estimer l'effet de l'inoculation de ses souches rhizosphériques sur la germination des graines du blé et de la laitue.

Les manipulations ont été réalisées au sein des laboratoires pédagogiques de physico-chimie et d'analyse microbiologiques, Département des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période allant du mois de mai au mois de juillet 2022.

Le diagramme du travail effectué au cours de cette étude est présenté dans la Figure 08.

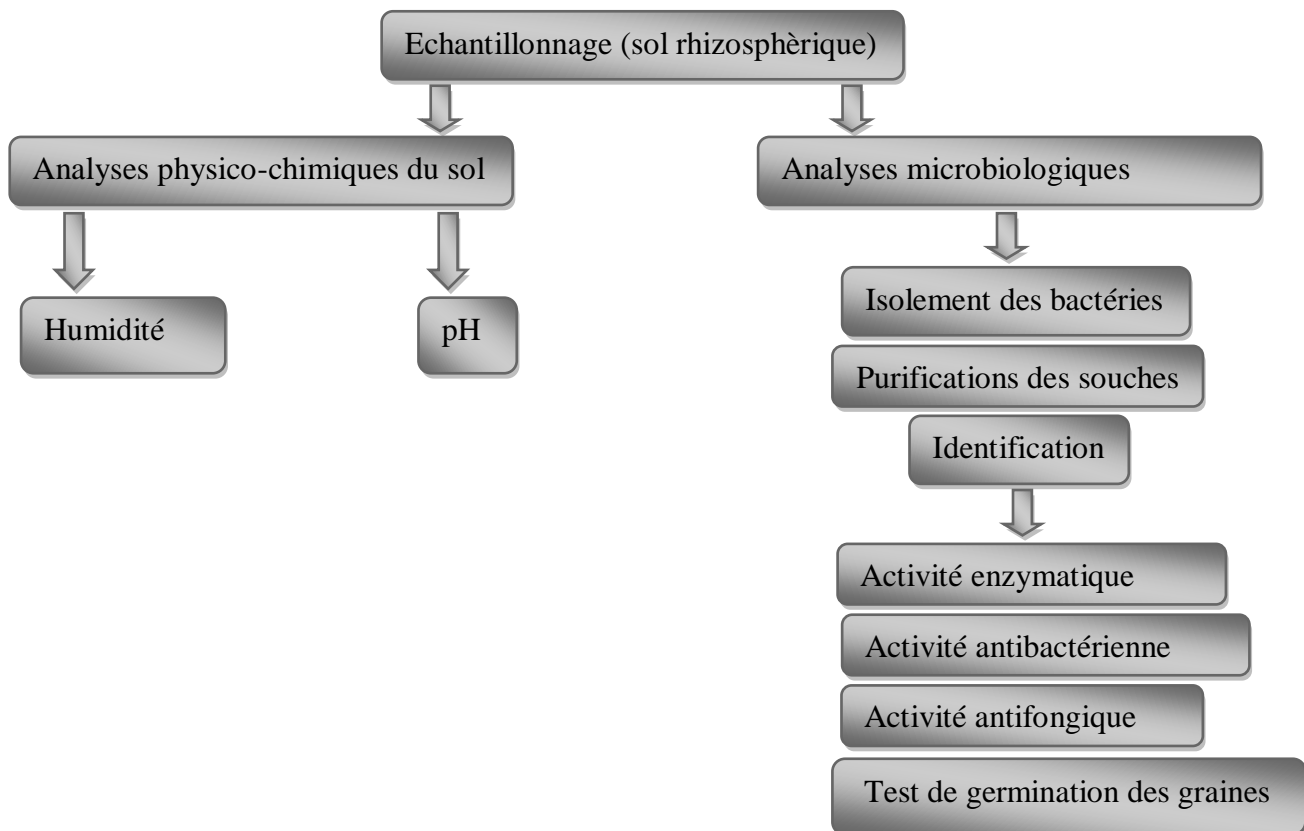


Figure 08 : Diagramme représentant l'ensemble des étapes expérimentales.

I.2. Matériel

I.2.1. Produits chimiques et milieux de culture

- **Produits chimiques**

Les différents produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités en Annexe 01.

- **Milieux de culture**

Pour la partie antibactérienne, les milieux de culture utilisés sont portés en Annexe 02.

I.2.2. Appareillage et outillage

Les appareils utilisés, et les différents outils en rapport avec la verrerie du laboratoire ainsi que des outils en rapport avec la microbiologie sont présentés en Annexe 03.

I.2.3. Matériel biologique

I.2.3.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail ont été isolées à partir du sol rhizosphérique du blé dur de la région de Boghni. Elles appartiennent à trois genres bactériens : *Bacillus* sp. *Actinomyces* sp. et *Pseudomonas* sp.

I.2.3.2. Souche fongique

La souche fongique utilisée dans cette étude appartient au genre *Alternaria* sp. Elle a été isolée à partir des tomates conservées au réfrigérateur, pour tester l'activité antagoniste des souches bactériennes isolées vis-à-vis de ce champignon.

I.2.4. Matériel végétal

Deux types de graines ont été choisis pour le test de germination: les graines du blé dur (*Triticum durum*) connues par leur pouvoir germinatif très élevé et les graines de laitue (*Lactuca sativa* L.) (Annexe 04) pour leur difficulté de semer et de germination.

I.3. Méthodes

I.3.1. Présentation de la parcelle d'étude

La parcelle de prélèvement se situe à proximité de 5,5 km de Sud-ouest de la ville de Boghni. A une altitude de 282 m et une latitude de 36.5483 m. C'est une parcelle d'environ 15ha, labourée et amendée et son précédent cultural a été toujours cultivé avec du blé dur, l'échantillonnage a été fait à partir du sol rhizosphérique du blé dur à l'aide d'une pioche.



Figure 09 : Parcelle d'étude (Boghni) (Avril, 2022).

I.3.2. Echantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé le 29 mai 2022, à partir du sol rhizosphérique du blé dur. Nos échantillons ont été prélevés à une profondeur de 10 à 15 cm après élimination de la partie superficielle du sol. Après prélèvement, le sol a été bien broyé et tamisé dans un tamis de 2 mm. Ensuite les racines ont été découpées, mélangées avec le sol, transportées dans des sachets stériles, puis conservés à 4°C pour l'analyse (Figure 10 ; 11).



Figure 10 : Échantillon du plant de blé dur.



Figure 11 : Sol rhizosphérique prélevé.

I.3.3. Analyses physico-chimiques du sol

Les paramètres physico-chimiques du sol influencent la diversité de la communauté microbienne de la rhizosphère. De ce fait, il était important de déterminer les paramètres du sol tel que le pH et l'humidité.

I.3.3.1. pH

Il est déterminé par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH mètre. Pour ce, nous avons homogénéisé 10 g de sol frais dans 25 mL d'eau distillée. Après 15 min d'agitation, le mélange est laissé reposer. Une décantation du sol s'en suit et la mesure du pH du surnageant est déterminée (Ilyas et al., 2012).

I.3.3.2. Humidité

Une prise d'essai de 50g du sol dans un cristalliseur a été étuvée à 105 °C pendant 24h. Les échantillons ont été pesés pour déterminer la constance du poids de l'échantillon de sol. Le calcul de l'humidité selon Ilyas et al. (2012) a été fait suivant la formule suivante :

$$\text{Humidité du sol (\%)} = \frac{\text{poids du sol humide (g)} - \text{poids du sol sec (g)}}{\text{poids du sol}} \times 100$$

I.3.4. Isolement des microorganismes du sol

Dix gramme de sol rhizosphérique (racines découpées + sol tamisé) sont dilués dans 90 mL d'eau physiologique stérile sous agitation. Après filtration, la solution mère obtenue est divisée en deux parties. L'une est portée au bain marie et chauffée à 80°C pendant 10 min afin d'éliminer toute forme végétative de *Bacillus* (Bouras, 2018). Ensuite, une série de dilutions décimales ont été réalisées (10^{-1} à 10^{-4}). L'autre quantité de la solution mère est soumise à une série de dilution de 10^{-1} à 10^{-7} afin de rechercher d'autres souches bactériennes telles que les *Pseudomonas* et Actinomyces. 0,1 mL de chacune des dilutions a été prélevé et étalé en surface sur gélose nutritive à l'aide d'un râteau à titre de 2 répétitions puis les boites sont incubées à 37°C pendant 24h.

I.3.4.1. Purification des souches bactériennes

Après obtention de cultures d'aspect et de couleurs différents dans les boites de Pétri, nous avons procédé à la purification des souches par la méthode des stries sur gélose nutritive. Cette étape délicate consiste à prélever chaque colonie présentant un aspect et une couleur différente et l'ensemencer dans une boite à part puis l'incuber à 37°C pendant 18 à 24h. Cela est répété plusieurs fois jusqu'à l'obtention de colonies identiques au sein d'une même boite.

I.3.5. Identification des isolats

L'identification des souches isolées à été réalisée en étudiant les caractères morphologiques : microscopique, macroscopique et quelques caractères biochimiques.

I.3.5.1. Critères morphologiques

✓ Etude macroscopique

L'étude macroscopique des bactéries est la première étude effectuée à partir de l'isolement après incubation. Elle nous a permis de différencier les colonies bactériennes de celles des moisissures et de réaliser une première caractérisation à l'œil nu en observant: la forme, la couleur, l'aspect, et la taille des colonies (Joffin et Leyral, 2006).

✓ Étude microscopique

La coloration de Gram est réalisée afin de déterminer le type de Gram de chaque bactérie.

-Réalisation d'un frottis, par prélèvement d'une colonie bactérienne pure, puis l'étaler sur une lame contenant une goutte d'eau, sécher et fixer sur la flamme du Bec bunsen.

-Fixation avec du violet de Gentiane pendant une minute. Rinçage rapidement à l'eau distillée puis traiter pendant une minute par une solution de lugol, et de nouveau laver rapidement à l'eau distillée. Le frottis est ensuite décoloré avec l'alcool pendant 30 secondes; laver abondamment à l'eau distillée pour stopper son action, recolorer le frottis avec la fuchsine pendant une minute, rincer à l'eau distillée et enfin sécher.

L'observation a été faite au microscope optique au grossissement 100X avec une goutte d'huile à immersion (Delarras, 2007).

I.3.5.2. Caractères biochimiques

✓ Mise en évidence des pigments

La mise en évidence de la pyocyanine et la pyoverdine des *Pseudomonas* sp. a été réalisée respectivement sur un milieu solide King A et King B, en prélevant des colonies bien isolées à l'aide d'une pipette Pasteur et l'ensemencées par des stries serrées sur la surface du milieu. Ces tubes ont été incubés à 37°C pendant 1 à 3 jours. Le développement des pigments a été révélé par le changement de couleur du milieu, la pyocyanine verdit le milieu King A, et la pyoverdine jaunit le milieu King B (King et *al.*, 1954).

✓ Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en eau métabolique et oxygène, selon la réaction suivante : $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Ce test a été révélé en déposant quelques gouttes d'eau oxygénée sur une lame, ensuite à l'aide d'une pipette Pasteur une colonie de chaque souche bactérienne testée a été prélevée et

mélangée avec les gouttes d'eau oxygénée. La réaction a été immédiate.

Catalase positive se traduit par un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles. S'il n'y a pas de bulles ; le test catalase est négatif (Delarras, 2007).

✓ Recherche de l'oxydase

L'oxydase est une enzyme qui intervient à la fin de la chaîne d'oxydoréduction en catalysant une réaction d'oxydoréduction impliquant une molécule d'O₂ comme accepteur d'électron.

Pour cela un disque d'oxydase est déposé sur une lame, il est imbibé avec une goutte d'eau physiologique stérile. A l'aide d'une pipette Pasteur, une colonie de chaque souche à étudier est prélevée et déposée doucement sur le disque.

Le résultat est immédiat ou se fait en quelques secondes. Si une coloration violette apparaît sur le disque, les bactéries sont oxydase positive. Si le disque reste incolore, les bactéries sont oxydase négative (Delarras, 2007).

✓ Nitrate réductase

Certaines bactéries ont la capacité de réduire le nitrate en nitrite, tandis que d'autres peuvent poursuivre cette réaction jusqu'au stade d'azote gazeux. La première et la dernière réaction sont respectivement catalysées par le nitrate et le nitrite réductase (Delarras, 2007).

Ce test consiste à mettre en évidence la nitrate réductase, en ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur les isolats bactériens à étudier dans le milieu bouillon nitraté. Les tubes inoculés sont incubés à 37°C pendant 24h, on rajoute ensuite 3 gouttes du réactif NR1 et 3 gouttes du réactif NR2. Après agitation des tubes, les résultats probables seront les suivants :

-Apparition d'une couleur rouge : les nitrates sont présents et la bactérie possède une nitrate-réductase.

-La couleur du milieu ne change pas : on ajoute la poudre du Zinc. Si le milieu devient rouge, cela indique que les nitrates sont encore présents dans le milieu et sont réduits en nitrites par le zinc, donc le test est négatif. Si le milieu reste inchangé cela veut dire que les nitrates sont réduits par les bactéries jusqu'au stade azote gazeux (N₂), donc la souche possède la Nitrate réductase.

✓ Recherche de l'uréase

L'uréase est l'enzyme responsable de l'hydrolyse de l'urée en NH₃ et CO₂, sa recherche s'effectue sur le milieu urée-indole (Christensen, 1946).

Trois tubes contenant le milieu urée-indole ont été richement ensemencés par des cultures jeunes des souches bactériennes à tester à l'aide d'une anse de platine puis agités et incubés à 30°C.

La lecture s'est faite après 24h et s'est poursuivie pendant une semaine d'incubation. Si la souche possède une uréase, la production de NH₃ fait virer l'indicateur au rouge violacé.

I.3.6. Activité enzymatique

I.3.6.1. Recherche de la lécithinase

La recherche d'une lécithinase a été faite sur une gélose au jaune d'œuf à 10% (Annexe 05), une boîte de Pétri contenant la gélose au jaune d'œuf à été répartie en 3 compartiments selon les souches. A l'aide d'une pipette Pasteur des colonies de chaque souche bactérienne ont été prélevées et déposées sur le milieu, puis incubées à 30°C.

Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, de triglycérides et d'une lipoprotéine, il permet donc de rechercher trois enzymes :

- La lécithinase : se traduit par l'apparition d'un halo opaque, blanc perlé jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à sa limite ;
- La lipase : indiquée par l'apparition d'un halo blanc perlé huileux et brillant ;
- La lipoprotéinase : se traduit par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie (Nitsch et Kutzner, 1969).

I.3.6.2. Recherche de l'amylase

La recherche de l'amylase est réalisée sur une gélose à base d'amidon (Annexe 05). Sur une même boîte de Pétri contenant la gélose à base d'amidon répartie en 3 compartiments, trois colonies bactériennes de chaque souche à tester ont été déposées sur la surface à l'aide d'une pipette Pasteur. Après incubation à 30°C pendant 5 jours, la boîte de Pétri est inondée par une solution d'iode lugol et la lecture se fait après quelques minutes. La présence de l'amidon dans le milieu donnera une couleur bleue noirâtre, ceci implique une absence d'activité amylasique. En revanche, si l'amidon est hydrolysé, une réaction positive est révélée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies cela se traduit par la présence d'une activité amylasique chez les isolats (Vinoth et *al.*, 2009).

I.3.6.3. Recherche des estérases

La recherche de l'estérase a été réalisée sur le milieu nutritif de Sierra additionné de Tween 80 (Annexe 05). Trois colonies bactériennes de chaque isolat à tester sont prélevées à

l'aide d'une pipette Pasteur et déposées sur une boîte de Pétri contenant le milieu nutritif additionnés de Tween 80. Après 5 jours d'incubation à 30°C, la lecture s'est effectuée :
-l'apparition d'un halo opaque autour des colonies implique la présence d'une estérase (Sierra, 1957).

I.3.6.4. Recherche de la lipase

La détermination de l'activité lipolytique est réalisée sur le milieu nutritif additionné de Tween 20 (Annexe 05). Ce test est réalisé de la même manière que l'activité estérasique. Cependant, le Tween 80 est remplacé par le Tween 20, une lecture positive est traduite par l'apparition des cristaux autour des colonies productrices de la lipase (Sierra, 1957).

I.3.6.5. Recherche de la caséinase

La mise en évidence de l'hydrolyse de la caséine a été étudiée sur un milieu gélosé contenant 5% de lait écrémé (Annexe 05). Une boîte de Pétri contenant le milieu gélosé additionné du lait écrémé est réparti en 3 compartiments. Ensuite, à l'aide d'une pipette Pasteur des colonies pures de chaque souche à tester ont été prélevées et déposées sur la gélose. L'incubation a été effectuée à 30°C et la lecture s'est faite après 05 jours. L'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la dégradation de la caséine (Roy *et al.*, 2014).

I.3.6.6. Action sur le lait écrémé

La coagulase est une enzyme capable de coaguler le lait. Dans le but de tester la capacité des bactéries isolées à partir de la rhizosphère à couaguler ou peptoniser le lait, nous avons prit 3 tubes contenant un volume de 20 mL de lait écrémé stérile, puis à l'aide d'une pipette Pasteur nous avonsensemencé les tubes avec les souches à tester.

Un autre tube rempli avec le même volume de lait écrémé est utilisé comme témoin négatif. Les tubes sont ensuite incubés à 30°C. Des observations régulières pendant une semaine permettent de noter la couagulation et la peptonisation du lait par ces souches bactériennes (Williams et Cross, 1971).

I.3.6.7. Solubilisation du phosphore

Ce test permet d'évaluer la capacité des isolats à solubiliser les phosphates. Il est réalisé selon la technique décrite par Beneduzi *et al.* (2008) sur milieu glucose Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA). Deux solutions ont été préparées séparément par dissolution de 5 g de K_2HPO_4 dans 50 mL d'eau distillée et 10 g de $CaCl_2$ dans 100 mL d'eau distillée. Ces deux solutions sont ajoutées à 1 L de TGEA. A l'aide d'une pipette Pasteur des

colonies de *Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp. *Actinomyces* sp. ont été prélevées respectivement et déposées par la suite sur la même boîte de Pétri divisée en trois compartiments et qui contient le milieu TGEA additionné aux solutions préparées, puis incubé à 30°C pendant 5 jours.

La solubilisation des phosphates se traduit par un halo clair autour de la colonie (Bouali et al., 2016).

I.3.7. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne, est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui vise à déterminer l'effet antagoniste et inhibiteur des souches bactérienne isolées à partir de la rhizosphère du blé dur.

I.3.7.1. Activité antibactérienne

➤ Revivification des souches

Les différentes souches bactériennes isolées à partir du sol rhizosphérique, requièrent une revivification par la méthode des stries sur des boîtes de Pétri préalablement coulées par le milieu gélose nutritive, suivie par une incubation à 37°C pendant 18 à 24h en vue d'obtenir une culture jeune.

➤ Préparation de la suspension bactérienne

La suspension bactérienne a été préparée à partir de la pré-culture préalablement repiquée sur le milieu gélose nutritive. À l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies ont été prélevées puis introduites dans des tubes à essai contenant 9 mL d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation de la suspension bactérienne, la densité optique lue à 625 nm doit être comprise entre [0,08-0,1], ce qui correspond à 10^7 - 10^8 UFC /ml (Nccls, 2001).

I.3.7.1.1. Activité antagoniste des souches isolées

Le test d'antagonisme a été réalisé par la méthode des cylindres d'agar, qui sert à mettre en évidence l'antagonisme entre les microorganismes par la présence ou non d'une zone d'inhibition, et à quantifier cette activité par la mesure du diamètre de cette zone.

➤ Caractérisation des souches testées

Les souches de référence utilisées appartiennent au laboratoire de microbiologie, à savoir deux bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus* MU 50 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et une bactérie Gram- (*Bacillus cereus* ATCC 14575).

➤ **Mode opératoire**

Cette technique consiste à ensemencer les souches bactériennes de référence sur la gélose Mueller-Hinton par un écouvillonnage. Ensuite, deux disques de 6 mm de diamètre de chaque isolat bactérien ont été déposés sur les boîtes ensemencées au préalable par chacune des bactéries de référence. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h (Gungi et *al.*, 1983).

I.3.7.1.2. Antibiogramme

La mise en évidence de la sensibilité des isolats bactériens aux différents antibiotiques est basée sur la méthode de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé. Cette technique permet d'estimer l'inhibition de la croissance bactérienne en présence des antibiotiques.

➤ **Mode opératoire**

Les boîtes de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton ont été ensemencées par un écouvillon stérile immergé dans la suspension bactérienne à tester ; l'opération a été répétée trois fois, en tournant la boîte de 90° sans oublier de faire passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, ensuite les disques d'antibiotiques (Kanamycine K30, Cephalothine KF 30, Amoxicilline AX 25) sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince stérile.

Après incubation à 37°C pendant 24h, l'absence de la croissance bactérienne se manifeste par un halo translucide autour des disques dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une règle. Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés et peuvent être symbolisés par des signes (Ponce et *al.*, 2003) :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

I.3.7.2. Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des bactéries isolées du sol rhizosphérique a été réalisée sur le milieu Sabouraud en utilisant la méthode des disques de mycélium fongique décrite par Patel et Brown (1969).

➤ **Préparation de l'inoculum**

Un disque fongique d'une culture pure d'*Alternaria* sp. a été déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud, puis incubé à 28 °C pendant 7 jours.

➤ Mise en évidence de l'activité antifongique

Cette technique consiste à déposer au centre de la même boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud, un disque d'*Alternaria* sp. de 6 mm de diamètre provenant d'une culture jeune, avec deux disques bactériens de chaque souche à tester du même diamètre provenant d'une culture de 24h déposés sur les deux côtés du disque fongique à une distance égale à 2 cm. En parallèle, le témoin négatif a été préparé en déposant un disque fongique au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud sans souche bactérienne. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant 10 jours.

Le suivi de la croissance fongique a été effectué tous les jours jusqu'à la fin de la durée appropriée d'incubation où l'on procède à la mesure du diamètre du champignon pour estimer le taux d'inhibition, calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition du mycélium} = (MIc - MI t) / MIc \times 100$$

MI c : diamètre de la colonie dans la boîte témoin ;

MI t : diamètre de la colonie dans les boîtes contenant les souches bactériennes.

Les bactéries antagonistes sont qualifiées de (Patel et Brown, 1969) :

- Très actives : inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est très sensible ;
- Actives : inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est sensible ;
- Moyennement actives : inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est limitée ;
- Peu ou pas actives : inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est peu sensible ou résistante.

I.3.8. Évaluation des souches rhizobactériennes pour leur activité stimulatrice de la croissance du blé et de la laitue

Le test de germination a été réalisé dans le but de détecter l'activité stimulatrice ou inhibitrice des souches rhizobactériennes sur la germination des graines de laitue et du blé.

I.3.8.1. Préparation de l'inoculum

Les souches à tester, requièrent une revivification par la méthode des stries sur des milieux solides gélose nutritive, suivie d'une incubation à 37°C pendant 24h. Après incubation, les cultures bactériennes ont été collectées par addition de MgSO₄ (0,1M) (Annexe 06) dans chaque boîte et raclées à l'aide d'un étaloire stérile. La densité optique des suspensions bactériennes a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 560 nm, la densité optique doit être de 2 équivalente à une concentration de 10⁹ à 10¹⁰ UFC/ml (Kirdi, 2011).

I.3.8.2. Désinfections et pré-germination des semences de laitue et du blé

La désinfection superficielle des semences a été réalisée par trempage dans l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 1-2 minutes. Rinçages abondant à l'eau distillée stérile pour chaque lot de semence (blé et laitue), puis trempage pendant 30 secondes dans l'éthanol à 70°C et rinçage de nouveau à l'eau distillée stérile. Les graines désinfectées sont transférées sur des compresses stériles pour le séchage. Ensuite elles sont dispersées sur des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée stérile à 1% puis incubées à 22 °C pendant 24h (Chaque culture est répétée deux fois) (Kirdi, 2011).

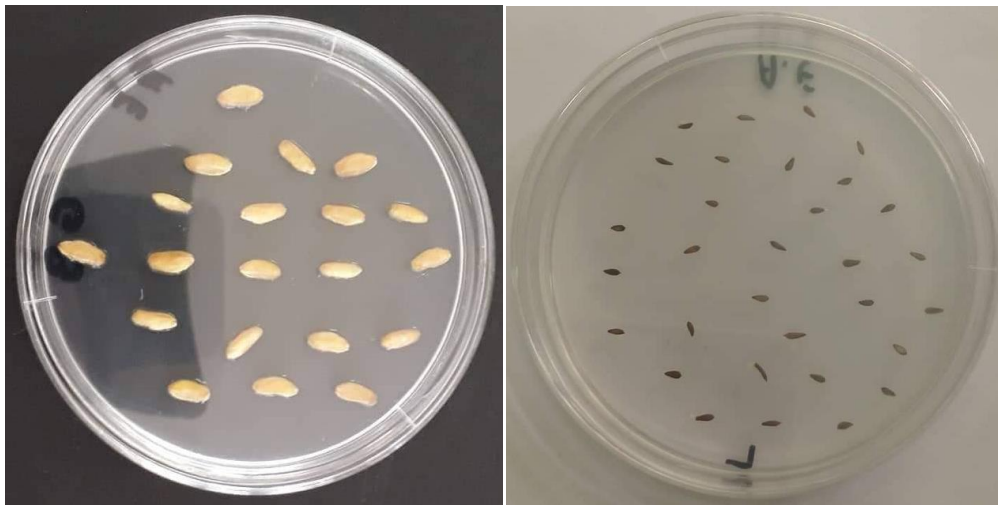


Figure 12 : Graines de blé et de laitue déposées pour la pré-germination.

I.3.8.3. Inoculation des graines pré-germées

Ce test consiste à prendre les graines pré germées d'une longueur de radicule uniforme 1,5-2 mm et les placer dans 04 boîtes contenant l'eau gélosé à 1% pour chaque type de graine à raison de 10 graines par boîte. Les graines de laitue et du blé sont inoculées par 30 μ l de chaque suspension bactérienne testée. Des boites témoins sont inoculées par 30 μ l de $MgSO_4$ Stérile (0,1M). Après incubation à 22 C° pendant 48 h, les longueurs des tiges et racines ont été mesurées pour déterminer les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes.

I.3.8.4. Paramètres étudiés

Les graines sont comptées pour déterminer la capacité et la période de germination. On considère qu'elles ont germées lorsque la radicule perce les téguments.

Taux de germination : $\text{Nombre de graines germées} \times 100 / \text{le nombre total de graines}$



Chapitre II :
Résultats et discussion



II.1. Caractérisation physico-chimique du sol

Les résultats de la caractérisation physico-chimique du sol étudié (Boghni) sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Caractéristiques physicochimiques du sol étudié.

Echantillon	pH	L'humidité %
Le sol	7,65 ± 0,31	10,4 ± 1,06

Le résultat de la détermination du pH montre une valeur de $7,65 \pm 0,31$. Ceci indique que le sol étudié est légèrement alcalin. Quant à l'humidité du sol a donnée une valeur de $10,4 \pm 1,06$ % cela signifie que le sol prélevé présente un taux d'humidité modéré.

Selon Lee et Hwang. (2002) le taux d'humidité d'un sol est considéré comme modéré s'il varie de (9.1 à 13.0).

Nos résultats se rapprochent considérablement de ceux trouvés par Minda et *al.* (2015) qui ont rapporté le caractère alcalin du sol rhizosphérique. L'étude élaborée par Cherif (2014), sur des échantillons de sol collectés stérilement de la rhizosphère du blé et de l'orge de trois régions différentes de la wilaya de Sétif, a donnée des valeurs de pH modérément alcalin à alcalin. Selon Bourbia (2014), le pH du sol rhizosphérique et du sol global de l'olivier peut varier entre un pH neutre à alcalin.

L'étude menée par Chibani (2017), sur douze échantillons du sol prélevés aléatoirement de la rhizosphère du blé d'une zone saline, a rapporté un pH légèrement alcalin. Ceci est similaire à nos résultats. Selon la même étude, des taux d'humidité variant de 10,52 à 18,60 % ont été montrés. Néanmoins ces valeurs sont supérieures à celles obtenus à partir du sol étudié.

La faible teneur en eau dans nos échantillons peut-être expliquée selon Bedjadj (2011), par l'aridité du climat (taux d'évaporation supérieur à celui des précipitations), la faible capacité de rétention en eau, faute de texture qui contient du sable qui ne stocke qu'une petite quantité d'eau, le reste s'infiltré rapidement vers le sous-sol. Les valeurs variées du pH sont la conséquence de la nature géomorphologique des sols, la variation saisonnière et la présence ou non d'une culture en période de croissance active (Cherif, 2014).

Les caractères physico-chimiques du sol, peuvent fortement influencer la distribution, la croissance et l'activité de la communauté microbienne (Tian et *al.*, 2013).

II.2. Caractérisation des isolats

Trois souches bactériennes ont été isolées à partir de la rhizosphère du blé dur de la région de Boghni, Tizi-Ouzou, cela en se basant sur l'étude des caractères morphologiques et biochimiques.

II.2.1. Critères morphologiques

✚ Étude macroscopique

Les premières observations macroscopiques des isolats bactériens sur la gélose nutritive, montrent une grande diversité dans la forme, la couleur, la taille, la surface, l'opacité et le relief des colonies (Tableau VII ; Figure 13).

Tableau VII : Caractères cultureux des souches bactériennes isolées de la rhizosphère du blé dur.

Isolats	Couleur	Forme	Taille	Surface	Opacité	Relief	Contour
Souche 1	Blanchâtre Jaune	Ronde	1 à 2 mm	Lisse, sèche	Translucide	Légèrement convexe	Régulier
Souche 2	Blanchâtre Jaune	Irrégulière	Envahissante	Lisse, brillante	Translucide	Plate	Irrégulier
Souche 3	Blanchâtre Rouge	Lobée	3 à 5 mm	Rugueuse, sèche	Opaque	Bombée	Irrégulier

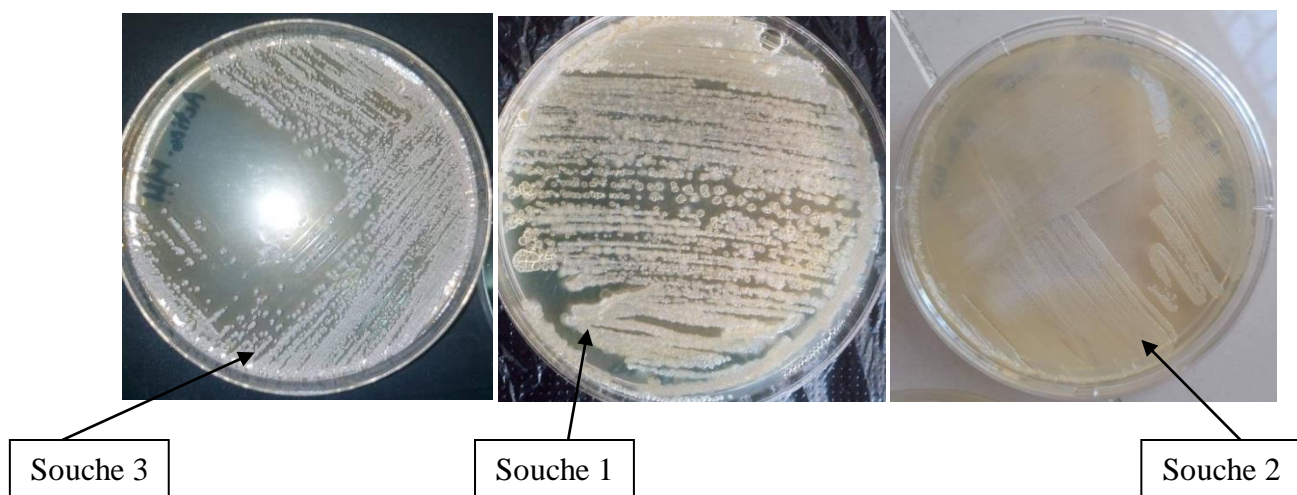


Figure 13 : Aspects des colonies formées sur gélose nutritive des souches bactériennes isolées.

✚ Étude microscopique

La coloration de Gram a permis d'observer la forme et le type de groupement, ainsi que déterminer l'appartenance des bactéries au groupe Gram positif ou Gram négatif.

L'examen microscopique des trois isolats bactériens a révélé deux souches à Gram positif et une souche à Gram négatif (Tableau VIII).

Tableau VIII : Caractéristiques microscopiques des souches bactériennes isolées de la rhizosphère du blé dur.

Isolats	Forme	Gram	L'agencement
Souche 1	Coccobacille	Négatif	Isolées, diplobacille
Souche 2	Gros bacilles avec des spores ovales	Positif	En chaîne
Souche 3	Une forme filamenteuse fine et ramifiée	Positif	Isolés ou en amas, parfois à courtes ou à longues chaînes, ou enchevêtrés non fragmentés

II.2.2. Caractères biochimiques

Les tests biochimiques ont été réalisés dans le but de pré-identifier les bactéries isolées. Les résultats sont présentés dans le Tableau IX.

Tableau IX: Caractères biochimiques des isolats bactériens.

Tests	Souche 1	Souche 2	Souche 3
Nitrate réductase	+	+	+
Catalase	+	+	+
Oxydase	+	-	-
Uréase	-	+	+
Production des pigments	+	/	/
Souches identifiées	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Actinomyces</i> sp.

(+) : Réaction positive ; (-) : Réaction négative

Sur le bouillon nitraté, les trois souches ont montrés une réaction positive (couleur rouge), qui signifie la réduction des nitrates en nitrites par l'enzyme nitrate réductase produite par les souches.

Le test catalase est positif pour l'ensemble des souches. Sa présence est traduite par un dégagement de bulles.

Une réaction oxydase positive pour la souche 1 s'est traduite par l'apparition d'une couleur violette foncée sur le disque d'oxydase, par contre une réaction négative pour les souches 2 et 3 s'est traduite par l'absence de la coloration violette.

Les souches 2 et 3 présentent une réaction positive pour l'activité uréasique, contrairement à la souche 1 ; ce qui signifie que cette dernière ne possède pas une uréase.

La mise en évidence des pigments a été faite uniquement pour la souche 1. Les résultats obtenus sur le milieu King A et King B montrent une pigmentation visible à l'œil nu sous la lumière naturelle. Un faible pigment vert a été observé sur le milieu King A indiquant la production de pyocyanine, tandis qu'une couleur jaune apparaît sur le milieu King B indiquant la production de pyoverdine par la souche 1.

Au vu des résultats de l'étude macroscopique, microscopique et biochimique, l'orientation des isolats bactériens 1, 2 et 3 est permise vers les genres *Pseudomonas* sp. *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. respectivement. On constate également que les deux souches : *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. possèdent les mêmes caractéristiques biochimiques (catalase, nitrate réductase, uréase positive, oxydase négative).

Les résultats de l'étude morphologique montrent différents types de colonies sur la boîte de culture, similaires à ceux trouvés par Oulebsir et *al.* (2020).

Plusieurs voies de recherche ont montrées la présence d'un grand nombre de bactéries présentant différentes formes (bâtonnet, spirale, cocci). Parmi celles-ci, les bacilles en forme de bâtonnet semblent être les plus abondantes dans le sol (khan et *al.*, 2010). Selon Milus et Rothrock (1993), *Bacillus* est abondante dans la rhizosphère du blé.

Hayet et *al.* (2010) ont trouvés plusieurs espèces bactériennes dans la rhizosphère, qualifiées comme étant des PGPR, notamment des bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*. Chibani (2017), a identifié plusieurs genres des *Pseudomonas* et *Bacillus* à partir de la rhizosphère des plantes de blé.

Ces études sont en parfaite concordance avec cette présente étude.

Bouras (2018), a identifié deux genres de *Bacillus* à partir du sol rhizosphérique de lentille, qui présentent des caractéristiques morphologiques similaires à nos résultats.

La majorité des résultats macroscopiques, microscopiques et biochimiques de la souche 1 et 2 sont en accord avec ceux obtenus par Oulebsir et *al.* (2020) pour la souche *Pseudomonas* sp. et *Bacillus* sp.

Bouras (2018), a révélé que la souche *Bacillus* isolée à partir d'un sol rhizosphérique de lentille est uréase positive. Ce qui est similaire aux présents résultats.

Boubguel et Kacel (2016), ont révélé que la souche *Pseudomonas* est uréase positive, contrairement à l'étude actuelle.

Cette variation peut s'expliquer par la différence de la localisation géographique, les conditions de la culture, la variété végétale ainsi que le protocole suivi.

Nos résultats morphologiques et biochimiques obtenus pour *Pseudomonas* et *Bacillus* sont conformes avec l'étude publiée par Abdallah et Kaci (2015) et Cherif (2014). Quant aux *Actinomyces*, les résultats se rapprochent de ceux de Ghadbane (2014).

La coloration de Gram des *Actinomyces* a révélée leurs appartenances au groupe Gram+, avec une forme filamenteuse fine ramifiée et enchevêtrée, correspondant aux résultats de Zerizer et *al.* (2006) et Djaballah (2010), qui montrent que l'observation microscopique des *Actinomyces*, particulièrement les *Streptomyces*, présentent un aspect filamenteux avec une présence de spores isolées ou en amas qui sont parfois à courtes ou à longues chaînes ou enchevêtrées non fragmentées, qui appartiennent au groupe des bactéries Gram positive (Kitouni, 2007).

II.3. Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires

Les enzymes sont des catalyseurs présents dans les cellules de tous les organismes où elles jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire (Drouin, 2005).

Un screening de plusieurs activités hydrolytiques extracellulaires a été effectué chez les trois souches d'intérêt. Les résultats illustrés dans le Tableau X montrent clairement la capacité de chaque souche isolée et testée à hydrolyser ou à dégrader différents substrats inducteurs utilisés, à savoir: l'amidon, la caséine du lait écrémé, les Tween 20 et Tween 80, la lécithine ainsi que leur pouvoir de solubiliser le phosphate.

Les résultats des activités enzymatiques étudiées figurent dans le tableau ci-dessous :

Tableau X : Résultats des activités enzymatiques.

Souches	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Actinomyces</i> sp.
Lécitinase	+	+	+
Amylase	+	-	+
Estérase	+	-	+
Lipase	+	+	+
Caséinase	+	-	+
Action sur le lait écrémé	+	+	+
Solubilisation du phosphore	+	+	+

II.3.1. Recherche de lécitinase

Les résultats obtenus montrent un halo clair autour des colonies indiquant que les trois isolats bactériens testés possèdent la lipoprotéinase, ainsi qu'un halo blanc perlé huileux et brillant autour des colonies de *Pseudomonas* et *Actinomyces*, ce qui signifie que les deux souches possèdent une lipase (Figure 14).

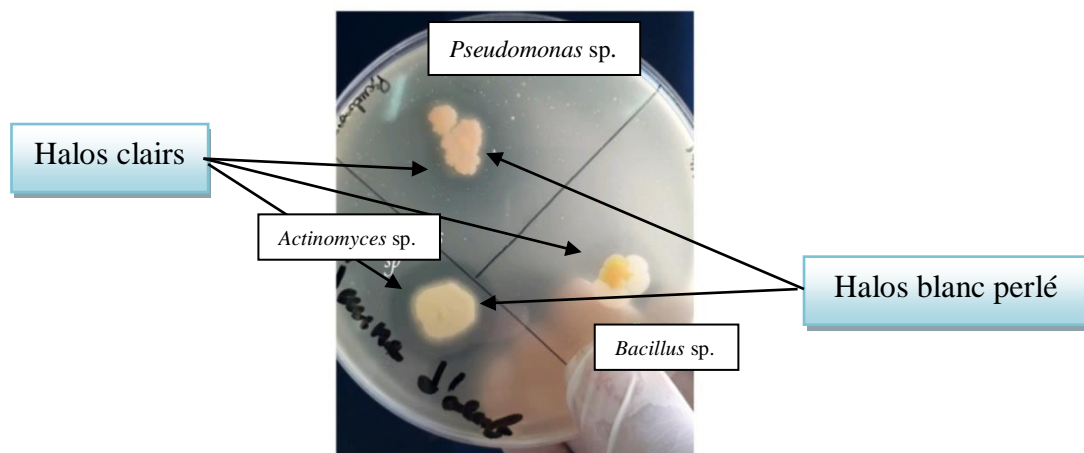


Figure 14 : Photographie représentant les résultats de la recherche d'une lécitinase.

Verma et Khuller (1983), ont rapporté la production d'une phospholipase C (lécithinase) chez *Streptomyces griseus* qui a été active à pH=7,5, comparativement à cette présente étude.

Bouali (2017), a trouvé que le genre *Bacillus cereus* est capable de produire la lécithinase, ce qui est similaire aux présents résultats.

II.3.2. Recherche de l'amylase

Les résultats de la recherche d'amylase s'expriment par l'apparition d'un halo d'éclaircissement autour des colonies, observé après addition d'une solution de lugol.

Un résultat positif pour *Pseudomonas* sp. et *Actinomyces* sp. s'est traduit par l'apparition d'une zone claire autour des colonies, prouvant la dégradation de l'amidon ; tandis qu'un résultat négatif est enregistré pour *Bacillus* sp. (Figure 15).

En comparant les résultats obtenus, on constate que les deux types de bactéries (Gram +, Gram -) sont capables de dégrader l'amidon.

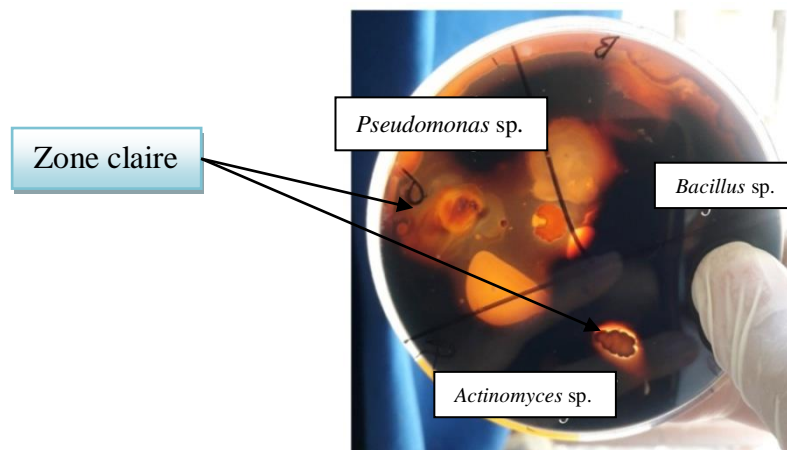


Figure 15 : Photographie représentant les résultats de la recherche d'amylase.

Suite à notre étude, il en ressort que *Bacillus* n'a pas dégradé l'amidon, contrairement à ce qu'est a été cité dans la bibliographie. De nombreuses espèces du genre *Bacillus* sont capables d'exprimer une large gamme d'enzymes extracellulaires thermostables telle que les protéases, les lipases, et les amylases (Sarethy et al., 2011). Cette différence peut-être due aux erreurs de manipulation, ou à la différence des sites des prélèvements ainsi qu'à la variabilité et la diversité génétique des isolats.

Viollet (2010), signale que les *Pseudomonas* productrices d'amylase stimulent la croissance et la santé des plantes.

Les travaux de Janaki (2017), sur la recherche de l'amylase, montrent que plusieurs espèces d'Actinomycètes comme les *Streptomyces limosus*, *Thermomonospora curvata* et *Thermomonospora viridis* sont une source puissante de l'enzyme amylase.

II.3.3. Recherche de l'estérase

Ce test s'est révélé positif pour l'ensemble des souches testées suite à l'apparition d'un halo autour des colonies (Figure 16).

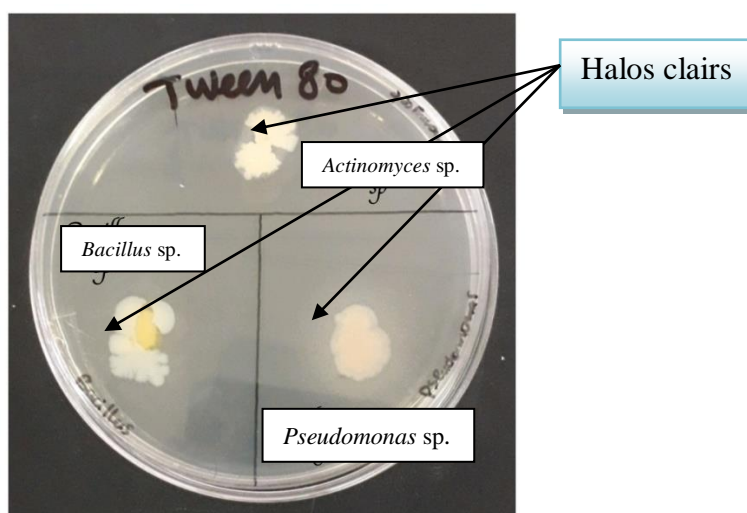


Figure 16 : Photographie représentant les résultats de la recherche d'estérase.

Les travaux de Ji et *al.* (2014) ont montrés que les bactéries du genre *Bacillus* produisent des estérases et des lipases. Ceci confirme nos résultats.

Ghadbane (2014), a révélé que les isolats de *Streptomyces* n'ont manifesté aucun pouvoir de production d'estérase, à l'inverse du résultat obtenu pour l'*Actinomyces* dans l'étude actuelle.

Les lipases et les estérases constituent deux biocatalyseurs les plus recherchés en biotechnologie (Pliego et *al.*, 2015). Elles ont été mises en évidence, dès 1901, chez des bactéries telles que *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus* et *Bacillus fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* (Fickers et *al.*, 2008).

II.3.4. Recherche de la lipase

Les résultats de ce test ont montrés que toutes les souches bactériennes sont dotées d'activités lipasiques importantes, traduites par l'apparition des cristaux autour des colonies bactériennes avec des diamètres différents. Ceci confirme que nos isolats produisent des enzymes extracellulaires responsables de ce type d'activité (Figure 17).

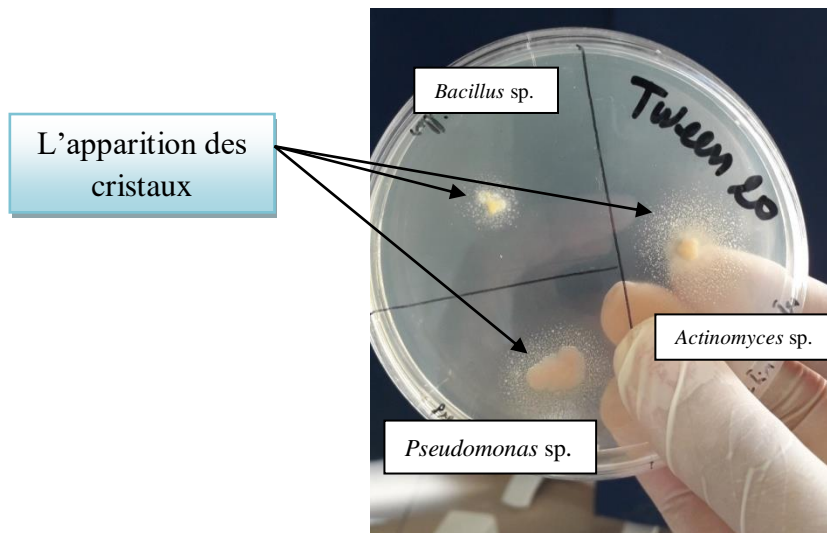


Figure 17 : Photographie représentant les résultats de l'activité lipasique.

Les résultats obtenus pour *Pseudomonas* sp. et *Bacillus* sp. sont cohérents avec les travaux d'Oulebsir (2020). D'après Bouras (2018), le genre *Bacillus* n'a manifesté aucun pouvoir de production de la lipase. Cette étude est en parfaite contradiction avec nos résultats, car nous avons obtenu une activité lipasique avec *Bacillus*. Selon Fickers et al. (2008) les lipases sont largement répandues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. Des lipases, des amylases, des tyrosinases et des pectinases ont été également produites à partir de *Streptomyces* (Rodrigues, 2006).

II.3.5. Recherche de la caséinase

Les résultats obtenus montrent la présence d'un halo clair autour des colonies de *Pseudomonas* sp. et d'*Actinomyces* sp. ce qui indique que le test est positif pour ces deux souches, excepté *Bacillus* sp. qui n'a manifesté aucune activité (Figure 18).

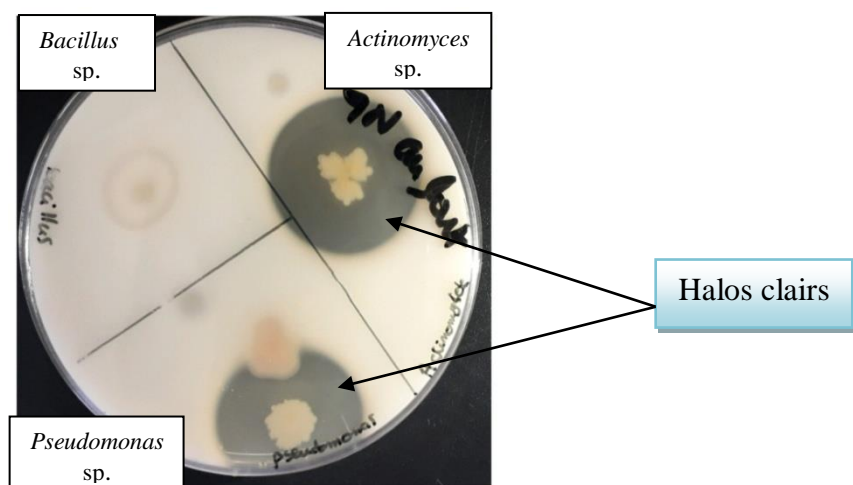


Figure 18 : Photographie représentant les résultats de la recherche de la caséinase.

Les travaux menés par Okpukpara et George-okafor (2016), affirment que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Streptosporangium* possèdent une activité protéolytique importante.

Ghadbane (2014), a mentionné que les isolats de *Streptomyces* sp. sont des producteurs importants de protéases sur le milieu gélosé contenant le lait écrémé, un résultat similaire a été obtenu dans notre étude concernant les *Actinomyces*.

Bouras (2018), a démontré que parmi les souches isolées du genre *Bacillus*, une seule souche s'est montrée négative à ce test, ce qui concorde avec nos résultats obtenus pour la souche *Bacillus* sp. Certaines bactéries appartenant au genre *Bacillus* productrices de protéases, sont considérablement impactées par les conditions de culture (Sharmin et al., 2005).

II.3.6. Action sur le lait écémé

Les trois souches isolées, induisent la coagulation des protéines du lait écrémé, tandis que le tube témoin est resté intact. Cela signifie que les isolats bactériens possèdent l'enzyme coagulase (Figure 19).

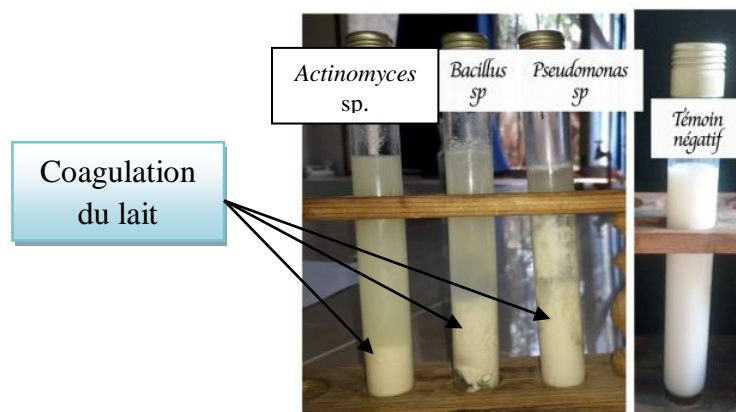


Figure 19 : Photographie représentant les résultats du test de coagulation

Kaioua et Grairi (2015), ont trouvé que le genre *Actinomyces* est capable de coaguler le lait comparativement à nos résultats.

II.3.7. Solubilisation du phosphore

Les souches isolées (*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Actinomyces* sp.) ont été testées pour leurs pouvoirs à solubiliser le phosphate sur le milieu TGEA. Après 5 jours d'incubation à 30°C, nous avons observé la formation des halos transparents de différents diamètres autour des colonies bactériennes, indiquant la présence de substances dissolvant le phosphore. On

déduits que nos isolats bactérien ont la faculté de solubiliser le phosphore inorganique (Figure 20).

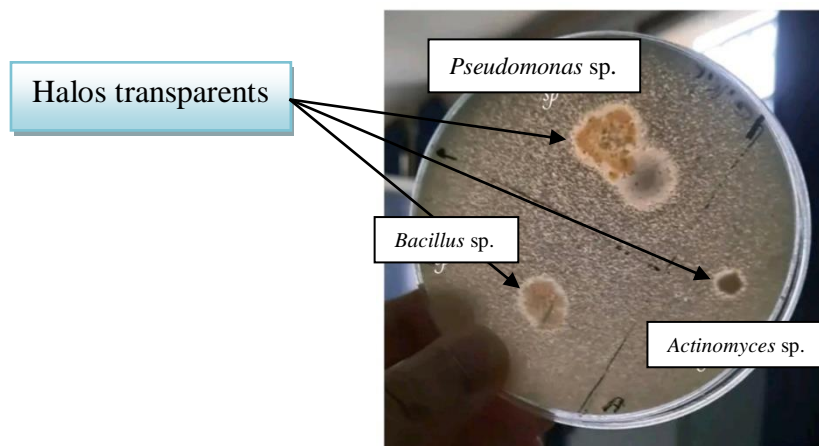


Figure 20 : Photographie présentant les résultats de la solubilisation du phosphore.

Selon la littérature, les espèces du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* ont un grand potentiel de solubilisation de phosphate présent dans le sol (Gull et al., 2004). Qureshi et al. (2012) ont montrés que *Bacillus* sp. est caractérisée par la biosynthèse de l'auxine et la solubilisation du phosphate. Ces deux études ainsi que les travaux rapportés par Bouras (2018), correspondent à nos résultats.

Concernant l'*Actinomyces* sp. le résultat obtenu est similaire aux données de la littérature qui confirment leurs richesse en métabolites secondaires et en enzymes à activités biologiques, pouvant être une source importante de molécules originales (Gopalakrishnan et al., 2011).

Les bactéries solubilisant le phosphate ont été aussi signalées dans des sols rhizosphériques de plusieurs cultures agricoles, y compris le blé (*Triticuma estivum*) (Babana et al., 2013).

Irving et Cosgrove (1971), et Singh et al. (2013) ont constatés que *Pseudomonas* solubilise le phosphate en améliorant la biodisponibilité des nutriments essentiels pour les plantes. Conformément à d'autres revues, la dissolution des phosphates inorganiques dans le sol est étroitement liée à l'activité des microorganismes (Richardson, 2001).

II.4. Résultat du test d'antagonisme

Le test de l'activité antagoniste des isolats bactériens vis-à-vis des souches bactériennes de référence montre un résultat négatif pour l'ensemble des souches testées.

Selon Abdesselam et Latache (2017), le résultat trouvé pour la souche de *Bacillus* est similaire à celui de notre étude.

Jihani (2013), a isolé vingt souches d'*Actinomyces* à partir d'échantillons de sol et de bois. L'activité antimicrobienne réalisée par la technique des cylindres d'agar et celle des stries croisées, a été déterminée contre des bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* 5262, *Bacillus cereus* 14579, *Staphylococcus aureus* 7625, *Staphylococcus epidermidis* 6821), des bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* 76110, *Escherichia coli* 7624) et la levure *Candida albicans*. Parmi les vingt isolats, douze (60 %) ont montré une activité contre au moins une des souches tests.

La variation des résultats peut-être due aux différentes contaminations.

II.5. Résultat de l'antibiogramme

L'action des antibiotiques sur les isolats bactériens a été évaluée *in vitro* sur le milieu Mueller Hinton. Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous avec les diamètres des zones d'inhibition :

Tableau XI : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches testées.

Antibiotique	Kanamycine (K30)	Cephalothine (KF 30)	Amoxicilline (AX 25)
<i>Pseudomonas</i> sp.	19 mm	0 mm	9 mm
<i>Bacillus</i> sp.	27 mm	0 mm	0 mm
<i>Actinomyces</i> sp.	25 mm	0 mm	0 mm

Note : Le diamètre du disque d'antibiotique est de 6 mm.
Il est inclut dans la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

La lecture du tableau, montre que l'ensemble des souches testées (*Pseudomonas* sp. *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp.) présentent des sensibilités à la Kanamycine avec des zones respectives de 19mm, 27mm et 25mm.

Concernant la Cephalothine, aucune zone d'inhibition de la croissance n'a été constatée autour des disques, ce qui montre la résistance des isolats bactériens à cet antibiotique.

Au sujet de l'amoxicilline, seul *Pseudomonas* sp. s'est montrée sensible avec une zone d'inhibition de 9mm et aucun effet inhibiteur n'a été constaté vis-à-vis de *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. montrant ainsi la résistance de ces dernières à cet antibiotique.

L'effet inhibiteur le plus puissant a été enregistré avec la Kanamycine (K30) vis-à-vis de *Bacillus* sp. qui s'est révélée extrêmement sensible avec une grande zone d'inhibition de 27

mm, suivi par *Actinomyces* sp. et *Pseudomonas* sp. avec des zones de 25 et 19mm respectivement.



Figure 21 : Photographies présentant les résultats de l'antibiogramme réalisé sur les isolats bactériens (*Actinomyces* sp. *Pseudomonas* sp. *Bacillus* sp. respectivement).

Nos résultats sont conformes avec l'étude publiée par Bentaleb (2017), sur la résistance aux antibiotiques des *Pseudomonas* isolées à partir de la rhizosphère du cèdre, qui a montré que toutes les souches présentent des sensibilités à la Kanamycine. Les travaux de Benhacene et al. (2016) sur la résistance de deux genres de *Pseudomonas* à l'Amoxicilline, ont montré qu'elles sont résistantes à cet antibiotique. Ces résultats sont en contradiction avec notre étude.

Ghadbane (2014), a mentionné que toutes les souches de *Streptomyces* sp. sont résistantes à la kanamycine (100 µg.ml⁻¹), contrairement au test actuel, où les *Actinomyces* sont sensibles à cet antibiotique.

Merabti et al. (2016) ont montré la résistance à l'Amoxicilline de différentes souches d'actinomycètes étudiés, excepté une souche. Ces résultats sont similaires à ceux qu'on a obtenus. Ainsi, Bouchedak et Merchla (2020), ont démontré la résistance à 100% à l'Amoxicilline des souches de *Bacillus licheniformis*, ce qui est similaire au résultat trouvé pour la souche de *Bacillus* sp. isolé du sol rhizosphérique du blé dur.

II.6. Résultats de l'activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique des souches isolées vis-à-vis du champignon *Alternaria* sp. ont montré la présence d'une action inhibitrice avec des pourcentages variés (Tableau XII ; Figure 22).

Tableau XII : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

Souches bactériennes	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Bacillus sp.</i>	21,73%
<i>Pseudomonas sp.</i>	13,06%
<i>Actinomyces sp.</i>	60,86%

Les résultats de cette activité montrent que le diamètre des colonies mycéliennes a été réduit en présence des souches antagonistes d'*Actinomyces sp.*, *Bacillus sp.* et *Pseudomonas sp.* comparé au témoin.

Le meilleur taux d'inhibition a été enregistré par *Actinomyces sp.* qui a atteint 60,86 %, suivie par *Bacillus sp.* avec 21,73%, tandis que la plus faible activité a été obtenue par la souche *Pseudomonas sp.* avec un pourcentage de 13,06%.

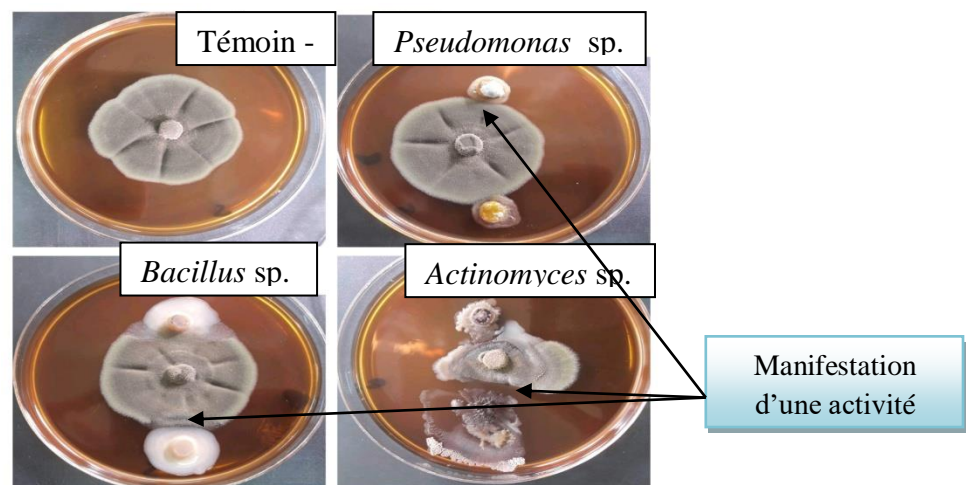


Figure 22: Photographie présentant l'effet antifongique des isolats bactériens vis-à-vis d'*Alternaria sp.*

Le genre *Streptomyces* est considéré comme une source antifongique puissante selon Khamna et al. (2009).

Les genres *Pseudomonas sp.* et *Bacillus sp.* sont largement connus pour leur activité antifongique à l'égard des bactéries et des champignons phytopathogènes (sindhu et al., 2009)

Arif (2015), a montré un effet significatif de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis d'*Alternaria alternata* avec un pourcentage de 27% ; une valeur qui semble être plus importante comparativement au résultat obtenu avec la souche *Pseudomonas sp.*

Cherif (2014), a montré l'efficacité de 15 souches de *Bacillus* contre *Alternaria alternata*. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus dans notre étude.

Thakur et al. (2007) montrent que parmi 110 souches d'Actinomycètes du sol des forêts protégées, 65 (59,09%) ont présentées une activité antibactérienne, 47 (42,75%) une activité antifongique et 33 (30%) un large spectre d'activité à la fois sur les bactéries et les champignons.

Les différences d'intensité du pouvoir inhibiteur de nos souches pourraient être liées à la nature, la quantité et l'effet des substances inhibitrices diffusibles secrétées par celles-ci, provoquant l'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène (Mishagui et al., 1982). Il faut également noter que l'activité antagoniste *in vitro* dépend non seulement des espèces des isolats testés, mais aussi de la composition du milieu de culture (Buyer et Leong, 1986).

II.7. Résultats du test de germination

L'étude de l'activité stimulatrice ou inhibitrice de la croissance des souches isolées, sur la germination des graines du blé dur et de laitue, est effectuée par l'évaluation des paramètres de croissance (la longueur des racines et des tiges), après 72 heures d'incubation.

II.7.1. Effet sur le taux de germination des graines du blé dur et de laitue

Globalement, les résultats obtenus montrent que l'inoculation par les différents isolats bactériens semble affecter considérablement la germination des graines du blé dur, tandis que la bactérisation n'a pas eu un effet considérable sur la germination des graines de laitue.

Les valeurs de taux de germination varient entre 30% et 100% (Figure 23). Concernant les graines du blé dur, le taux de germination le plus opulent a atteint 100% par le témoin ainsi que les souches *Pseudomonas* sp. et *Actinomyces* sp. Quant à *Bacillus* sp. elle détient la valeur la plus faible (40%) et qui était différente du témoin, ce qui signifie un effet négatif sur la germination des graines du blé. Néanmoins, les résultats de l'inoculation des graines de laitue montrent que la souche *Pseudomonas* sp. a enregistré le taux de germination le plus élevé (60%), par rapport au témoin (un taux faible de 30%). L'effet de la bactérisation par les souches *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. montrent également des valeurs faibles de 40% et 30%, respectivement. Celles-ci sont proches ou égale au témoin indiquant que le taux de la germination est faible.

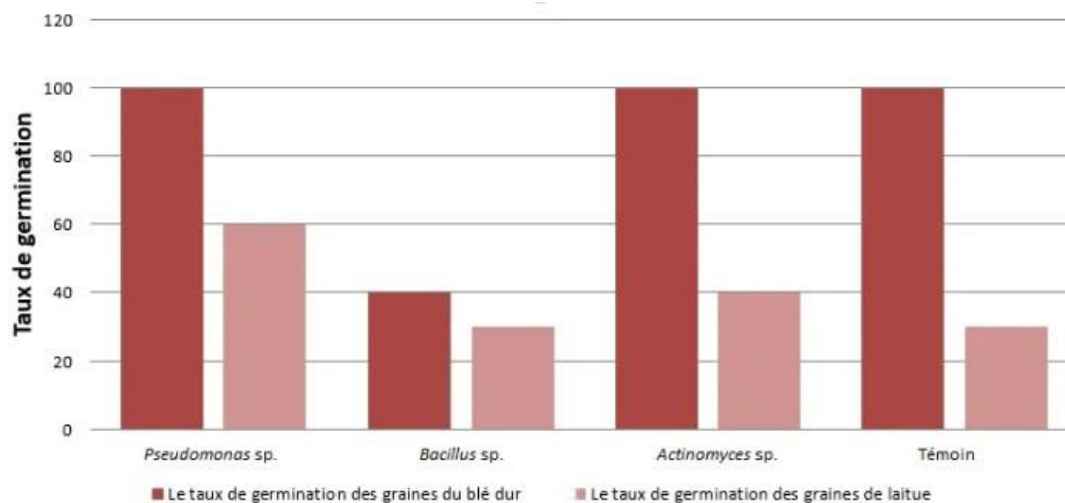


Figure 23 : Effet de la bactérisation par les différents isolats bactériens sur le taux de germination de graines du blé dur et de laitue.

En comparant entre les résultats obtenus pour les graines de laitue et du blé, on constate que toutes les souches testées ont manifesté un taux de germination grandement supérieur sur les graines du blé que sur ceux de laitue.

II.7.2. Effet de l'inoculation bactérienne sur la longueur des racines et des tiges

L'ensemble des isolats testés ont montré une activité stimulatrice de croissance considérable sur les paramètres mesurés (Tableau XIV ; Figure 23). Sur la longueur des racines du blé, une longueur maximale de 9 cm a été observée chez *Actinomyces sp.* suivi par *Bacillus sp.* (entre 8,8 à 7,5cm) et *Pseudomonas sp.* avec des valeurs qui varient entre 7 à 4,4 cm. Par rapport au témoin, l'effet de ses souches n'était pas différent.

Une croissance maximale de la longueur des tiges du blé par rapport au témoin a été induite par *Pseudomonas sp.* (4 cm) ; tandis que les souches *Bacillus sp.* et *Actinomyces sp.* ont données une valeur égale à celle du témoin (3 cm).

Au sujet des graines de laitue, une longueur maximale des racines a été enregistrée par *Actinomyces sp.* (3cm), suivi par les souches *Pseudomonas sp.* et *Bacillus sp.* avec des valeurs de 2,5cm et 2,4cm, respectivement. En revanche, au niveau du témoin nous avons enregistré une très faible valeur (0,2cm) pour ce paramètre.

A propos de la longueur de la tige, la souche *Pseudomonas* sp. a donné la valeur la plus importante de 3,7cm, suivie par *Bacillus* sp. (3cm) et *Actinomyces* sp. (2,3cm). Cependant, la longueur de la tige a été très faible au niveau du témoin (0,3cm).

Tableau XIII : Evaluation de la longueur des racines et des tiges des graines du blé dur et de laitue, inoculées par les différents isolats bactériens.

72 h	<i>Bacillus</i> sp.		<i>Pseudomonas</i> sp.		<i>Actinomyces</i> sp.		Témoin-	
	Tige	Racines	Tige	Racines	Tige	Racines	Tige	Racines
Blé	4/10		10/10		10/10		10/10	
	3	7,5	2,5	6,2	3	8	2,5	6,5
	2,2	8,1	2	6,5	2,3	8,5	2,5	7,5
	2,5	8,8	2,2	7	2,5	8,5	2,5	8,5
	2,5	7,8	2	6	3	9	2,5	8,4
			3,3	5,5	2	8,8	2,5	8
			4	4,5	2,5	9	2,5	7,5
			2,2	6,2	2,5	8,5	3	9
			2	5,5	2	2,5	2,7	8,4
			3	6,5	3	8,5	2	8
			2,5	6,5	2,5	6,8	2,8	7
	Laitue	3/10		6/10		4/10		3/10
3		2,4	3,7	2,5	1	3		
2		1,8	0,2	0,1	0,5	0	0,3	0,2
3		2	0,2	0,1	2,3	2,3	0,2	0
			0	0	2,2	1,5	0,2	0
			0,2	0				
			0	0,2				
		0,2	0,3					

Pour cette étude, la capacité des isolats bactériens à stimuler ou inhiber la croissance de l'espèce végétale a été testée dans des boîtes de Pétri cultivées par les graines du blé dur et de laitue.

D'après les résultats de notre essai, la bactérisation par les souches bactériennes *Pseudomonas* sp. *Actinomyces* sp. et *Bacillus* sp. sur les graines du blé dur, a donné un taux de germination élevé que celui obtenu avec les graines de laitue. Concernant la longueur des tiges et des racines des graines des espèces cultivées, on constate que l'ensemble des souches testées ont manifestées un effet stimulateur comparativement au témoin (Figure 24).

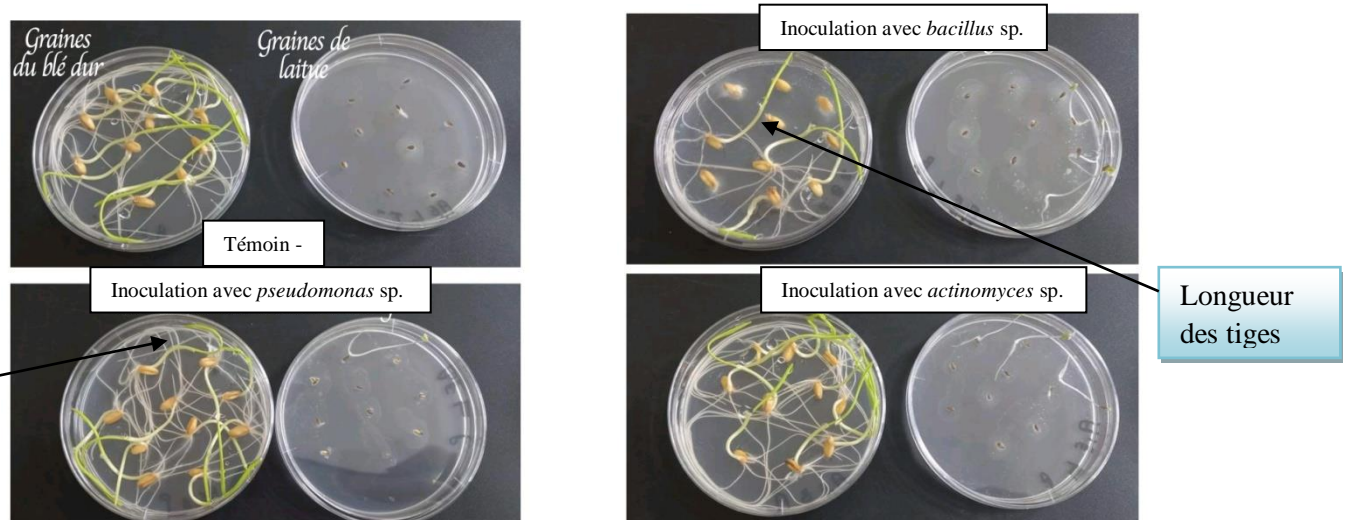


Figure 24 : Photographies présentant l'effet de l'inoculation par les isolats bactériens sur les graines du blé dur et de laitue.

Les résultats obtenus pour les graines de laitue et du blé dur rejoignent ceux trouvés par Zermane (2005), qui affirme qu'en plus des rhizobactéries stimulatrices, il y a des inhibiteurs de croissance racinaire.

Le résultat de nos essais sur la germination des graines du blé dur ont démontrés l'efficacité des *Actinomyces* sp. ceci est approuvé par Ghadbane (2014), qui a mentionné que différentes souches de *Streptomyces* apportent un effet bénéfique sur la croissance des plants de pois chiche. De même, nos résultats se rapprochent également de ceux obtenus par Jog et *al.* (2014) qui ont traité des plants de blé par des souches de *Streptomyces* sp. isolées à partir de la rhizosphère, capables de solubiliser le phosphate.

Selon Kumar et *al.* (2012) la plupart des espèces de *Pseudomonas* sp. isolées ont un effet sur la promotion de la croissance des semis de sorgho. Ceci est semblable aux résultats obtenus après l'inoculation des graines du blé dur et de laitue par *Pseudomonas* sp.

Bouras (2018), a traité le plant de lentille par différentes souches de *Bacillus* sp. et a constaté que certaines sont stimulatrices des graines de lentille, tandis que d'autres provoquent une diminution de certains caractères morphologiques, ce qui est similaire à nos résultats obtenus après inoculation des graines de laitue et du blé par la souche *Bacillus* sp.

Les études réalisées par Nelson et ces collaborateurs (2004), ont rapporté l'effet bénéfique des *Bacillus* lors de leur utilisation dans l'agriculture comme agents inoculant.

Li et Alexander (1988), ont démontré que l'inoculation des graines et des racines avec les bactéries PGPR de *Bacillus* et *Paenibacillus* cause une modification considérable de la

composition de la rhizosphère et l'augmentation de la croissance et du rendement de différentes cultures.

Il est connu depuis longtemps que l'inoculation des espèces végétales avec les PGPR peut augmenter la concentration en éléments nutritifs dans la plante hôte (Lai et *al.*, 2008). Cette variabilité dans les résultats obtenus peut être liée à des conditions normales d'expérimentation (incubation à 22°C pendant 24h) alors que lors de notre étude, l'incubation a été réalisée à température ambiante en vue de l'absence d'une étuve réfrigérée. La stimulation de la croissance du système racinaire des plants du blé et de laitue, inoculés par *Actinomyces* sp. *Pseudomonas* sp. et *Bacillus* sp. pourrait aussi être expliquée par l'aptitude de ses souches à solubiliser le phosphate, ou par le fait que ces souches peuvent agir par l'intermédiaire d'hormones et/ou d'enzymes. Plusieurs d'autres facteurs peuvent influencer le pouvoir germinatif des graines, tels que la pureté de la variété végétale et la stabilité des caractères, ainsi que des facteurs intrinsèques instables, qui participent à l'activation des hormones et des enzymes essentielles à la germination (Bove et *al.*, 2001).

Conclusion

Les bactéries qui colonisent la rhizosphère et les racines des plantes et qui améliorent leurs croissances par quel que soit le mécanisme, sont appelées PGPR (Lynch et Whipps, 1990).

Le présent travail, repose sur l'isolement de quelques souches bactériennes à partir de la rhizosphère du blé dur en se basant sur leurs critères morphologiques et biochimiques, ainsi que de déterminer leurs caractères métaboliques et étudier l'effet de leurs inoculations sur la variété du blé dur et de laitue.

Les résultats physicochimiques du sol montrent qu'il est légèrement alcalin avec un taux d'humidité modéré. Trois souches bactériennes ont été isolées et purifiées : *Pseudomonas* sp. *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. Quant au test de l'activité enzymatique, les souches *Pseudomonas* sp. et *Actinomyces* sp. produisent la lécithinase, l'amylase, estérase, lipase, caséinase, coagulase et sont capables de solubiliser le phosphore; tandis que la souche *Bacillus* sp. produit uniquement la lécithinase, la lipase, la caséinase et solubilise le phosphore.

Au sujet de l'activité antifongique, les souches bactériennes isolées, manifestent une activité inhibitrice vis-à-vis d'*Alternaria* sp. avec des potentialités inhibitrices très variées. L'activité inhibitrice la plus importante a été enregistrée par la souche *Actinomyces* sp.

L'inoculation des graines du blé dur et de laitue par les souches isolées, a montré un effet remarquable sur la germination et la croissance des tiges et racines chez les graines du blé dur contrairement aux graines de laitue.

Les résultats obtenus révèlent une grande importance à ces souches et ouvre plusieurs perspectives pour continuer :

- Isoler une large gamme de microorganismes ;
- Compléter l'identification des souches jusqu'au niveau de l'espèce ;
- Étudier l'effet antagoniste entre les souches isolées avec d'autres souches bactériennes et fongiques ;
- Étudier la capacité des souches à fixer l'azote, à produire l'acide Indole acétique et l'ammoniaque.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- **Abdallah, K. et Kaci, N. (2015).** Activités antagonistes in vitro de deux souches de *Pseudomonas spp fluorescens* vis -à-vis des fusarioses vasculaires. Mémoire. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou. 105p.
- **Abdesslam, N. et Latache N., E., H. (2017).** Identifications et caractérisations des bactéries isolées a partir de différents sols. Mémoire de master. Université de Tlemcen. 50p
- **Amann, R.I., Ludwig, W. et Schleifer, K.H. (1995).** Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Journal of Molecular and Biology Research*, 59 : 143-169.
- **Anton, H., Michael, R. et Michael, S. (2008).** « Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », *Plant and Soil*, vol. 312, n° 1-2, novembre, p. 7.
- **Arif, F. (2015).** Effets du stress salin et d'osmoprotecteurs naturels sur la germination de blé dur (*Triticum durum*) inoculé par *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Arora, NK., Tewari, S. et Singh, R. (2013).** Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their Mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs. In: Arora NK (ed.) *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. Springer.
- **Babana, A. H., Dicko, A. H., Maïga, K. et Traoré, D. (2013).** Characterization of rock phosphate-solubilizing microorganisms isolated from wheat (*Triticumaestivum L.*) rhizosphere in Mali. *Journal of Microbiology and Microbial Research*, 1(1), 1-6.
- **Badri, D.V., Chaparro, J. M., Zhang, R., Shen, Q. et Vivanco J.M. (2013).** Application of natural blends of phyto-chemicals derived from the root exudates of Arabidopsis to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. *Journal of Biological and Chemistry*, 288: 4502–4512.
- **Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. et Vivanco, J. M. (2006).** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*. 57 : 233-266.
- **Beauchamp, C.J. (2021).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. Vol-74 (1): 10p.
- **Bedjadj, S. (2011).** Contribution à l'étude du fonctionnement microbiologique du sol dans la région de Ouargla (Ex : l'université de l'ITAS). Mémoire de Master, agro, université Kasdi Merbah Ouargla., 12-68p.
- **Beneduzi, A., Peres, D., Vargas, L.K., Bodanese-Zanettini, M.H. et Passaglia, L.M.P. (2008).** Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing *bacilli* isolated from rice fields in South Brazil. *Applied Soil Ecology*, 39, 311–320.

Références bibliographiques

- **Beneduzi, A., Ambrosini, A. et Passaglia, L. M. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Journal of genetics and molecular biology*. 35(4):1044-1051.
- **Benhacene, Z., Messiad, I. et Slimane, B. L. (2016).** Évaluation et taxonomie numérique des bactéries promotrices des plantes isolées de rhizosphère du *capsicum nnuum* (Master dissertation, université 8 Mai 1945 Guelma Université).
- **Benhamou, C. (2012).** Modélisation de l'effet des interactions haies-cultures sur les transferts d'eau et d'azote à l'échelle d'un petit bassin versant agricole. Thèse de doctorat en Sciences de l'environnement.
- **Bentaleb, G. (2017).** Mise en évidence de l'effet des *Pseudomonas* spp. *Fluorescents* sur l'amélioration de la germination des graines du cèdre (*Cedrus atlantica*) de la station Tikjda et Chrèa et le Biocontrôle vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*. Master production végétale et agriculture durable. Université Mouloud Mammeri. 50 p.
- **Bolognesi, C. et Merlo, F.D. (2011).** Pesticides: human health effects. In : Encyclopedia of environmental health. Burlington: Elsevier. 438-453p.
- **Bouchedak, K. et Merchla, H. (2020).** Profil de résistance aux antibiotiques et capacité de formation de biofilm chez *Bacillus* et *Pseudomonas* isolés du milieu hospitalier. Master écologie et génie de l'environnement. Université 8 Mai 1945.
- **Boulal, H., Zaghouane, O., El mourid, M. et Rezghi, S. (2007).** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne dans le Maghreb. ITGC/ICARDA :176p.
- **Bouneghou, S. B. (2011).** L'effet inhibiteur de *Pythium* sp., sur la croissance mycélienne de *Fusarium roseum* et d'*Alternaria alternata*. Thèse de master en microbiologie. Université Mentouri Constantine. 50 Pages.
- **Bouras, F.Z. (2018).** Isolement et caractérisation des microorganismes stimulateurs de la croissance de lentille (*lnes culinaris*). Thèse de doctorat. Université Djillali Libas de SBA. 129p.
- **Bourbia, S. (2014).** Biodisponibilité du potassium dans la rhizosphère de *Olea europea L.* Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri. 78p.
- **Bove, J., Jullien, M. et Grappin, P. (2001).** Functional genomics in the study of seed germination. *Journal Genetics and biology*, 3 (1): 10021–10025
- **Buyer, J. S. et Leong, J. (1986).** Iron transport-mediated antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *Journal of Biological and Chemistry*. 261 : 791-794.
- **Cherif, H. (2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1.50p.

Références bibliographiques

- **Chibani, H. R. (2017).** Sélection et caractérisation des bactéries solubilisant le phosphate isolées du sol salin dans l'ouest algérien : effet sur la promotion de la croissance du blé (*Triticum* sp.).Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Benbadis. 44p.
- **Christensen, W.B. (1946).** Urea Decomposition as a Means of Differentiating *Proteus* and *Paracolon* Cultures from Each Other and from *Salmonella* and *Shigella* Types. *Journal Of Bacteriology*.
- **Courchesne, F., Gobran, G. et Clegg S. (2001).** Rhizospheric processes influencing the biogeochemistry of forest ecosystems. *Journal of Biogeochemistry* 42.107–12.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
- **Djaballah, C. (2010).** Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebkha d'Ain Milila. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 56p.
- **Djellout, H., Mekheldi, D., Belkacem, KK., Raio, A. et Krimi, Z. (2019).** Evaluation de potentiel de souche antagoniste de *Bacillus* spp. et de *pseudomonas* spp. Dans le contrôle d'*agrobacterium* spp. Pathogène impliqué dans la maladie de galle de collet. *Revue Agrobiologia* ; 9(1): 1267-1283.
- **Dommergues, Y. et Mangenot, F. (1970).** Écologie Microbienne du sol. Masson, Paris.
- **Drouin, M. (2005).** Étude de production de protéases alcalines par *Bacillus licheniformis* en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat. Mémoire de Maître ès sciences (M.Sc.). Canada.
- **Eyal, Z. (1999).** Integrated control of *Septoria tritici* of wheat. *Plant Disease*. 65, pp : 763-768.
- **Feillet, P. (2000).** Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. ISSN : 1144- 7605. ISBN :2- 73806 0896- 8. p 308.
- **Fickers, P., Destain , J. et Thonart, P. (2008).** Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Journal of Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 12 (2) : 119-130.
- **Garbaye, J. (2013).** La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. Edition Quae, Versailles, 251 p.
- **Garcia-Fraile, P., Menendez, E., et Rivas, R. (2015).** Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *Aims Bioengineering*. 2, 183–205. 10.3934/bioeng.2015.3.183.
- **Ghadbane, M. (2014).** Microflore rhizosphérique de quelques Fabacées (légumineuses) endémiques dans les régions de Boussaâda et de Biskra (Algérie). Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Références bibliographiques

- **Ghitri, I. (2018).** Caractérisation du potentiel PGP de la flore *Bacillus cereus* isolée du sol. (Master dissertation, Université de Tlemcen)..
- **Glick, B.R. (2012).** Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. Scientifica, 963401.
- **Gobat, M., Aragno, M. et Matthez, w. (2003).** Le sol vivant: bases de pédologie biologique des sols. Presses Polytechniques et Universitaires, Lausan. P 5-6.
- **Gobat, J. M., Aragno, M. et Matthey, W. (2010).** Le sol vivant : bases de pédologie, biologie des sols (14). PPUR Presses polytechniques. 656.
- **Gopalakrishnan, S., Pande, S., Sharma, M., Humayun, P., Kiran, B.K., Sandeep, D., Vidya, M.S., Deepthi, K. et Rupela, O. (2011).** Evaluation of *Actinomycète* isolates obtained from herbal vermin compost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea, Crop Protection., 30:1070–1078.
- **Govind, P. S., Singh, A. N. et Kumar, B. (2015).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. Journal of Microbiology and Biochemtechnol, p. 096-102.
- **Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar, U., Bose, P., Sharma, V., et Annapurna, K. (2010).** Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Journal of Microbiolgy. p : 346.
- **Gregory, J., et Hinsinger, P. (1999).** New approaches to studying chemical and physical changes in the rhizosphere: an overview (plant and soil, 211, Montpellier: INRA) 1-9.
- **Gull, I., Hafeez, F. Y., Saleem, M. et Malik, K. A. (2004).** Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and amixed *rhizobial* culture. Journal of Experimental Agriculture. 44, 623-628.
- **Hacini, N. (2014).** Etude de l'interaction Génotype X Environnement et effet de l'origine de quelques cultivars de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sur les aptitudes adaptatives et qualitatives, Université de Annaba - Badji Mokhtar.
- **Hayat, R., S. Ali, U., Amara, I. et Ahmed, H. (2010).** Bactéries bénéfiques pour le sol et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes: un aperçu. Journal of Microbiology. 60: 579-598.
- **Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P.J. et Wenzel, W. (2005).** Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes New phytologist 168, 293-303p.
- **Hirt, H. (2012).** Des microbes bénéfiques peuvent aider des plantes à acquérir une tolérance aux stress environnementaux Académie d'agriculture de France. Groupe de travail sur les potentiels de la science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement, 8p.

Références bibliographiques

- **Hodge, A., Berta, G., Doussan, C., Merchan, F. et Crespi, M. (2009).** Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil* 321, 153-187.
- **Hussein, K., et Joo, J. (2015).** Isolation and characterization of *rhizomicrobial* isolates for phosphate solubilization and indole acetic acid production. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, N° 58 P 847-855.
- **Ilyas, N., Bano, A. et Iqbal, S., N. I. (2012).** physiological, biochemical and molecular characterization of *azospirillum* spp. Isolated from maize under water stress. *Pakistan journal of botany*, 44, 71-80
- **Irving, G. C. J. et Cosgrove, D.J. (1971).** Inositol phosphate phosphatases of microbiological origin. Some properties of a partially purified bacterial (*Pseudomonas* sp.) phytase. *Journal of Biological Sciences*. 24, 547-57.
- **Janaki, T. (2017).** Enzymes from *Actinomycetes*. Review. *Journal of Chemistry*.10: 176-182.
- **Ji, S. H., Gururani, M.A. et Chul, C.S. (2014).** Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*. 169, 83– 98.
- **Joffin, J. N. et Leyral, G. (2006).** Microbiologie technique, 2ème Ed, Collection Biogietechnique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 304p.
- **Jog, R., Pandya, M., Nareshkumar, G. et Rajkumar, S. (2014).** Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth, *Microbiology*.160: 778–788.
- **Jourdan, E., Ongenara, M. et Thonart, p. (2008).** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Journal of Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*.12 (4), 437-449.
- **Khamna, S., Yokota, A. et Lumyong S. (2009 a).** *Actinobacteria* isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production, *World. Journal of Microbiology and Biotechnology J.* 25: 649–655.
- **Khan, H., Flint, S. et Yu, P. L., (2010).** Enterocins in food preservation, *Inter. Journ l Food Microbiology*, 141: 1–10.
- **Jihani, S. (2013).** Isolement et identification moléculaire de souches d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de biotopes marocains et caractérisation partielle des principes actifs. DART-Europe E-thèses Portal.
- **King, E.D., Ward, M. K. et Raney, D. E. (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44, 301–7.

Références bibliographiques

- **Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries *actinomycétales* productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaires des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine ,89 P.
- **kirdi, B. (2011).** Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites. Mémoire Magister en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach –Alger)
- **Koranda, M., Schneckner, J., Kaiser, C., Fuchslueger, L., Kitzler, B., Stange, C.F., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S. et Richter, A. (2011).** Microbial processes and community composition in the rhizosphere of European beech –The influence of plant C exudates, *Soil Biology and Biochemistry* , 43: 551–558.
- **Kumar, P., Dubey, R.C. et Maheshwari D.K. (2012).** *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens, *Microbiological*, 167: 493–499.
- **Lai, W. A., Rekha, P. D., Arun, A. B. et Young, C. C. (2008).** Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. *Biology and fertility of soils*, 45(2), 155-164.
- **Lee, J. Y. et Hwang, B. K., (2002).** Diversity of antifungal *actinomycetes* in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology* 48 : 407–417.
- **Lefort, F. (2010).** Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute Ecole de Paysage d'ingénierie et d'architecture. Genève.
- **Lepinay, C. (2015).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, 263p.
- **Lepoivre, P. (2003).** Les bactéries phytopathogènes. La Phytopathology. Edition De Boeck. Bruxelles.
- **Li, D. M. et Alexander, M. (1988).** Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. *Plant Soil*. 108:211-219.
- **Lugtenberg, B., Malfanova, N., Kamilova, F. Berg, G. (2013).** Plant growth promotion by microbes, In *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*. Journal de Bruijn (ed.), Chapter 53, Vol II, pp.: 559-573. Wiley-Blackwell Publisher, 1328 p.
- **Lydie, S. (2010).** La lutte biologique : vers de nouveaux équilibres économiques. Edition Quae. Science en partage. Versailles cedex. 151-163Pp.
- **Lynch, J. M. et Whipps, J. M. (1990).** Les arbustes de l'agroécosystème aride améliorent les activités enzymatiques pendant la saison sèche. *American Journal of Plant Sciences*.

Références bibliographiques

- **Lyngwi, N. A. et Joshi, S. R. (2014).** Economically important *Bacillus* and related genera: a mini review. in *Biology of Useful Plants and Microbes*. (New Delhi: Narosa Publishing House;), 33–43.
- **Maalem, A. et Sansri, D. (2014).** Activité anti-phytopathogènes de quelques souches rhizosphériques appartenant aux groupes des actinomycètes filamenteux et des *Pseudomonas* spp *fluorescents*. Université 8 Mai 1945 Guelma. 22p.
- **Malek, F. (2015).** Interaction microbienne cours assuré aux Master II microbiologie et Magistère Maitrise de la qualité et du développement microbien. Mémoire de magistère. Université de Tlemcen.
- **Mezaache, S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* Isolées de la Rhizosphère de la pomme de terre. Thèse de doctorat. Université Ferhat ABBAS Sétif. 221p.
- **Milus, E. A. et Rothrock, C. S. (1993).** Rhizosphere colonization of wheat by selected soil bacteria over diverse environments. *Revue canadienne de microbiologie* 39(3): 335-341.
- **Minda, Z. et Appl. B. (2015).** Influence des caractéristiques physico-chimiques des sols sur la flore et la végétation ligneuse de trois stations du tracé de la grande muraille verte du Tchad. *Journal of Applied Biosciences* 95:8937 – 8949.
- **Munees, A. et Mulugeta, K. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20.
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (2001).** Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing:eleventh informational supplement, M100-S11, Wayne,PA,USA
- **Nelson, L. M. (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants. *Crop Manag.* doi:10.1094/CM-2004-0301-05-RV.
- **Nitsch, B. et Kutzner, H. J. Z. (1969).** *Journal of Microbiology*.9, 613
- **Oliver, R. P. et Hewitt H. G. (2014).** *Fungicides in crop protection* (2d ed).
- **Omari, S. et Tahri, M. (2021).** La maladie de la tâche auréolée du blé dans la région d’Adrar. Master systèmes de production agro-écologiques, université Ahmed Draïa Adrar.
- **Oren, A. (2004).** Prokaryote diversity and taxonomy: current status and future challenges. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 359: 623-638.
- **Orozco-Mosqueda, M. d. C., Flores, A., Rojas-Sánchez, B., Urtis-Flores, C.A., Morales Cedeño, L.R., Valencia-Marin, M.F., Chávez-Avila, S., Rojas-Solis, D. et Santoyo, G. (2021).** Plant-Growth Promoting Bacteria as Bioinoculants Attributes and Challenges for Sustainable Crop Improvement, *Agronomy* ,MDPI, 11(1167): p 1-2.

Références bibliographiques

- **Oulebsir-Mohandkaci, H., Tihar-Benzina, F., Ait Belkacem, C. et Belgrade, A. N. (2020).** Recherche de molécules bioactives d'intérêt à partir d'une collection de souches bactériennes rhizosphériques et étude de leur effet antifongique, *Algerian J. Env. Sc. Technology*, 6 :3. 1459-1461p.
- **Patel, J. J. et Brown, M.E. (1969).** Interactions of *Azotobacter* with rhizosphere and root-surface microflora. *Plant Soil*. 31: 273-281.
- **Pliego, J., Mateos, J.C., Rodriguez, J., Valero, F., Baeza, M., Femat, R., Camacho, R., Sandoval, G. et Herrera-López, E.J. (2015).** Monitoring Lipase/Esterase Activity by Stopped Flow in a Sequential Injection Analysis System Using p-Nitrophenyl Butyrate. *Sensors*. 15, 2798-2811.
- **Ponce, A.G., Fritz ; R., Del ; V., et Roura, S.I.b(2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss L Wu. *Technol. Vol. 36: 679-684.*
- **Prabhu, N., Borkar, S., Garg, S. (2019).** Phosphate solubilization by microorganisms. *Advances in Biological Science Research*, 161–176, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>.
- **Qureshi, M. A., Ahmad, Z. A., Akhtar, N., Iqbal, A. et Mujeeb F. Shakir M. A. (2012).** Role of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(1): 204-210.
- **Richardson, A. E. (2001).** Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust.J.Plant Physiol.* 28, 897-906.
- **Rodrigues, K. (2006).** Identificação, produção de antimicrobianos e complexos enzimáticos de isolados de actinomicetos. MSc Dissertation. Agricultural and Environmental Microbiology Post-Graduation. Universidade Federal Rio Grande do Sul, Brazil. p. 129.
- **Romera, F.J., García, M.J., Lucena, C., Martínez-Medina, A., Aparicio, M.A., Ramos, J. et Pérez-Vicente, R. (2019).** Induced systemic resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants. *Front. Plant Sci.* 10, 287.
- **Roy, S., Das, I., Munjal, M., Karthik, I., Kumar, G., Kumar, S. et Rao, R.V.B. (2014).** Isolation and characterization of *tyrosinase* produced by marine anaerobacteria and its application in the removal of phenol from aqueous environment *Front. Biol.* 9(4): 306-316.
- **Rubin, R.L., Groenigen, K.J.V. et Hungate, B.H. (2017).** Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ 86011, USA, pp. 15.
- **Sadouki M. (2018).** Etude de la variabilité morpho-physiologique du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans les conditions climatiques du Haut Chélif. Thèse de maîtrise. Univ de Khemis-Miliana. 46p.

Références bibliographiques

- **Saharan, B. S. et Nehra, V. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21.
- **Sarety, I. P., Saxena, Y., Kapoor, A., Sharma, M., Sharma, S. K., Gupta, V. et Gupta, S. (2011).** Alkaliphilic bacteria: applications in industrial biotechnology. Journal of Microbiology and Biotechnology., 38: 769- 790.
- **Schroder, P. et Hartmann, A. (2003).** Global Soils: New Developments in Rhizosphere Research. Journal of Soils and Sediments. 3 (4). 227p.
- **Sharmin, S., Hossain, M. T. et Anwar, M. N. (2005).** Isolation and Characterization of a Protease Producing Bacteria *Bacillus Amovivorus* and Optimization of Some Factors of Culture Conditions for Protease Production. Journal of Biological sciences, 5 (3): 358-362.
- **Sierra, G. (1957).** A Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Antonie Van Leeuwenhoek 23 :15-22.
- **Sindhu, S. S., Rakshiya, Y. et Sahu, G. (2009).** Biological control of soilborne pathogens with rhizosphere bacteria. Pest Technol., 3: 10-21.
- **Singh, A., Mehta, S., Singh, H.B. et Nautiyal, C.S. (2003).** Biocontrol of collar rot disease of betelvine (*Piper betel* L.) caused by *Sclerotium rolfsii* by using rhizosphere competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI-N6 and *Pseudomonas fluorescens* NBRI-N. Current Microbiology. 47: 153-158Pp.
- **Singh, J. S. H. et Singh, D. P. (2013).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): microbes in sustainable agriculture. Springer Science + Business Media Dordrecht. 361-378Pp.
- **Spaepen, S., Vanderleyden, J. et Remans, R. (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism. Plant signaling. FEMS Microbiol.31(4): 425-448.
- **Tariq M. I., Afzal S., Hussain I. et Sultana N. (2007).** Pesticides exposure in Pakistan: A review. Environment international. 33(8): 1107-1122.
- **Thakur, D., Yadav, A., Gogo, B.K. et Bora, T.C. (2007).** Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. Journal de Mycologie Médicale.
- **Tian, J., Dippold, M., Pausch, J., Blagodatskaya, E., Fan, M., Li, X. et Kuzyakov, Y., (2013).** Microbial response to rhizodeposition depending on water regimes in paddy soils. Microbiology. Biol, 65: 195–203.
- **Vinoth, R. S., Kanikkai, R. A., Babu, V. A., Manoj, G., Tyagi, Naman, H., Amala, N.A., Santhose, B. et Sathiyaseelan, K. (2009).** Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. Recent Research in Science and Technology 1(1): 008–013.

Références bibliographiques

- **Viollet, A. (2010).** Influence du système de sécrétion de type III bactérien dans les interactions plante-*Pseudomonas* spp. *Fluorescents* non pathogènes. Thèse de Doctorat de Microbiologie des Sols et de l'Environnement. Spécialité : Ecologie Microbienne. Université de Bourgogne.
- **Weeden, C.R., Shelton, A.M. et Hoffman, M. P. (2007).** Biological Control: A Guide to Naturel Enemies on North America.
- **Whipps, J. M. et Lynch J. M. (1985).** Energy losses by the plant in rhizodeposition. Plant products and the new technology.
- **Williams, S.T. et Cross, T. (1971).** Actinomycetes. In: Booth, C., Eds., Methods in Microbiology, Academic Press, London.
- **Woese, C.R. (1987).** Journal of Bacterial evolution and Microbiology. 51 : 221-271.
- **Zerizer, H., Oulmi, L., Boughachiche, F., Rrghioua, S., Boudemagh, A. et Mand-Boulahrouf, A. (2006).** Identification d'une *Actinomycetale*, production d'antibactériens, isolée de sols arides de region de Biskra. Sciences et technologie C-24 :17-22.
- **Zermane, N. (2005).** Potentiel of rhizobacteria to control parasitic weeds of the genus Orobanche. Thèse de doctorat. Margraf Verlag (ed.), Weikersheim, Allemagne. 161 p.
- **Zhang, F., Shen, J., Zhang, J., Zuo, Y., Li, L. et Chen, X. (2010).** Rhizosphere Processes and Management for Improving Nutrient Use Efficiency and Crop Productivity: Implications for China. Advances in Agronomy 107, 1-32.
- **Zhou, X.G., Wu, F.Z. et Xiang W.S. (2014).** Syringic acid inhibited cucumber seedling growth and changed rhizosphere microbial communities, Plant soil Environ., 60:158–164.
- **Site web**
<http://www.biodiversite-poitou-charentes.org/Relations-entre-les-especes.html> consulté le 12/04/ 2022
[Ezzahiri, 2017 https://www.agri-mag.com/2017/06/20/cereales-maladies-ble/](https://www.agri-mag.com/2017/06/20/cereales-maladies-ble/) 15/06/ 2022.
Agrichem, 2016<https://agrichem.dz/culture/5/> 14/07/2022.



Annexes



Annexes

Annexe 01 : Produits chimiques.

Eau distillée ; eau physiologique ; lait écrémé ; hypochlorite de sodium ; Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4) ; Chlorure de calcium ($CaCl_2$) ; Sulfate de magnésium ($MgSO_4$) ; Fushine ; Kovacs ; violet de Gentiane ; huile à immersion ; solution de Lugol ; disque d'oxydase ; eau oxygénée (H_2O_2) ; disques d'antibiotiques ; alcool (Éthanol) ; Réactif NR1 ; Réactif NR2.

Annexe 02 : Milieux de culture.

Milieux de culture	Utilisation
Gélose Mueller-Hinton (gélose MH)	Repiquage des souches bactériennes et test d'antibiogramme
Gélose nutritive	Isolement des souches bactériennes
Gélose Sabouraud	Repiquage de la souche fongique
Milieu Urée-indole (UI)	Recherche de l'uréase
Bouillon nitraté	Recherche de nitrate réductase
King A et King B	Mise en évidence des pigments
Eau gélosée	Test de germination
Gélosé au lait écrémé	Recherche de caséinase
Gélose au jaune d'œuf (à 1%)	Recherche de lécithinase
Gélose à amidon	Recherche de l'amylase
Milieu de Sierra additionné de tween 80	Recherche de l'estérase
Milieu Sierra additionné de tween 20	Recherche de lipase
Milieu TGEA	Solubilisation du phosphore

Annexe 03 : Appareillage et outillage.

Outillage	Appareillages
Flacon	Étuve
Eprouvettes graduées	Réfrigérateur
Tubes à essai	Bain marie
Béchers	Spectrophotomètre
Spatule	Balance
Anse de platine	Microscope optique
Portoirs de tubes	Agitateur à plaque chauffante
Entonnoir	Agitateur a barreau magnétique non chauffant
Boîtes de Pétri	Autoclave
Pinces	Four Pasteur
Micropipettes	Bec bunsen
Seringues	pH mètre
Pipette Pasteur	
Écouvillons	
Erlenmeyer	
Papier filtre	
Papier aluminium	
Lames	
Pioche	

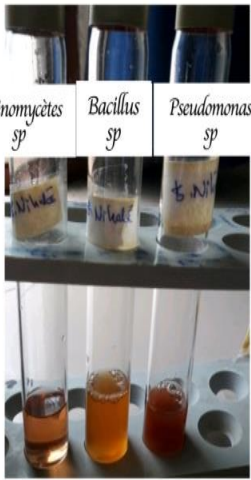
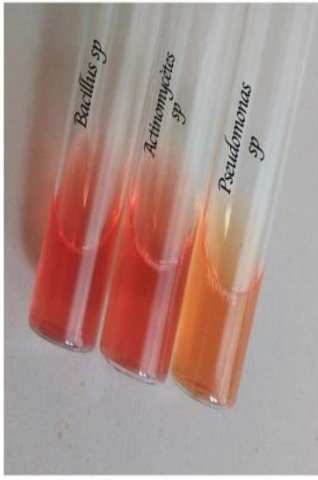
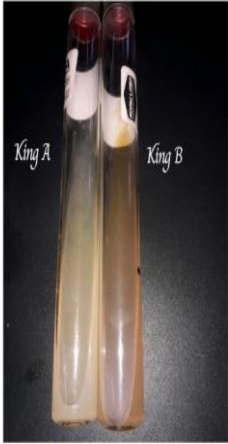
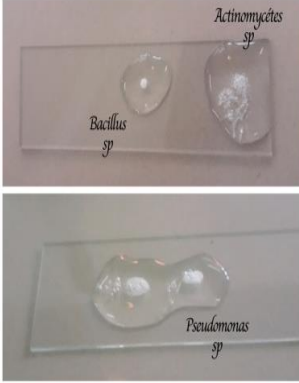
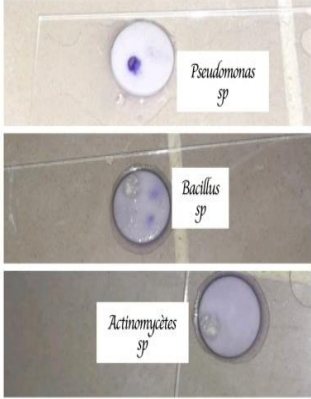
Annexe 04 : Généralité sur la laitue.

La laitue (*Lactuca sativa*) est une plante herbacée, annuelle, avec deux phases bien distinctes : la phase végétative, formant une pomme plus ou moins fermée, correspond au stade de développement, et a phase reproductrice au cours de laquelle la tige principale s'allonge aboutit à la floraison et à la production de graines. Elle appartient à la famille des Astéracées, division des magnoliophytes, et la classe des magnoliopsides.

Ses feuilles sont larges, allongées, cloquées et imbriquées en plusieurs couches plus ou moins serrées. Ses fleurs sont jaunes et réunies en grappes. Il Comparées aux hybrides, la plante d'origine se distingue d'un côté par sa forme très allongée à cause des feuilles qui sont moins larges et de l'autre par son goût amer. (Lakhdari et *al.*, 2010), sa température optimale de germination entre 18 et 20°C.

Annexes

Annexe 05 : Résultats du test biochimique.

Nétrate réductase		uréase		Production des pigments	
Catalase		Oxydase			

Annexe 06 : Milieux de cultures préparées.

La gélose au jaune d'œuf (à 1%)	Le milieu de Sierra additionné de tween 80	La gélose au lait écrémé	Le milieu de Sierra additionné de Tween 20	Milieu de culture à base d'amidon 1%	L'eau gélosée
Peptone 10 g Extrait de levure 5 g NaCl 10 g Agar 20 g Jaune d'œuf 100 mL Eau distillée 1000 mL PH = 7	Peptone 10 g NaCl 5g CaCl ₂ ·1H ₂ O 0.1g Eau distillée 1000 mL Agar 18 g Tween 80 10 mL PH = 7.4	Peptone 10 g NaCl 5 g Extrait de levure 03 g Agar 20 g Eau distillée 1000 mL Lait écrémé 100 g dans 1000 mL d'eau distillée pH = 6.5-7.2	Peptone 10 g NaCl 5g CaCl ₂ · 1H ₂ O 0.1g Eau distillée 1000 mL Agar 18 g Tween 20 10 mL pH : 7.4	Amidon 1g. Agar 20g. Eau distillée 1000 mL	L'eau distillée 100 mL Agar 15g

Annexe 07 : Préparation de MgSO₄

2.033 g de Sulfate de Magnésium, 100 mL d'eau distillé

Résumé

Les rhizobactéries jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre du sol. Parmi ces bactéries, il y a celles qui favorisent la croissance des plantes. Celles-ci sont connues sous le terme de Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), qui agissent positivement sur la croissance de la plante. Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à caractériser des bactéries promotrices de la croissance des plantes, isolées à partir de la rhizosphère du blé dur (*Triticum durum*). Trois souches bactériennes ont été identifiées à savoir: *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. et *Actinomyces* sp. L'évaluation de leur capacité hydrolytique extracellulaire a permis la révélation de la présence de différentes enzymes: lécitinase, amylase, estérase, lipase, caséinase, solubilisation du phosphore et coagulase. L'activité antagoniste des souches isolées vis-à-vis de trois souches de référence a montré un résultat négatif pour l'ensemble des souches. Les résultats de l'antibiogramme ont montré que l'ensemble des souches présentent des sensibilités à la Kanamycine et une résistance à la Cephalothine, tandis que seul *Pseudomonas* sp. est sensible à l'amoxicilline. L'évaluation de l'activité antifongique indique que les trois souches possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis d'*Alternaria* sp. avec des pourcentages variés. Concernant le test de germination, toutes les bactéries ont montré un effet sur la croissance de la longueur des racines et des tiges chez les graines du blé dur contrairement aux graines de laitue.

Mots clés : Rhizosphere, PGPR, germination, blé, sol, isolé, activité enzymatique, activité antibactérienne.

Abstract

Rhizobacteria play an important role in maintaining soil balance. Among these bacteria, there are those that promote plant growth. These are known as Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), which act positively on plant growth. In the present work, we were interested in characterizing plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of durum wheat (*Triticum durum*). Three bacterial strains were identified namely: *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., and *Actinomyces* sp. Evaluation of their extracellular hydrolytic capacity revealed the presence of different enzymes: lecitinase, amylase, esterase, lipase, caseinase, phosphorus solubilization and coagulase. The antagonistic activity of the isolated strains against three reference strains showed a negative result for all strains. The results of the antibiogram showed that all the strains showed sensitivities to Kanamycin and resistance to Cephalothin, while only *Pseudomonas* sp. was sensitive to Amoxicillin. The evaluation of the antifungal activity indicates that the three strains have an inhibitory activity towards *Alternaria* sp. with varying percentages. Concerning the germination test, all bacteria showed an effect on the growth of root and stem length in durum wheat seeds in contrast to lettuce seeds.

Key words: Rhizosphere, PGPR, germination, wheat, soil, isolated, enzymatic activity, antibacterial activity.