

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIES**



**En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Sciences  
Agronomiques  
Option: Production végétale**

***Thème***

**Etude de l'effet de bactérisation par les *Pseudomonas*  
Spp. *Fluorescents* sur la germination et la croissance  
de blé (*Triticum aestivum*).**

**Réalisé par**

**SAYAH ASSIA  
REKKAB KENZA**

**Soutenu le 05 /10/2022  
Devant le jury composé :**

**Président : M<sup>r</sup>. DAOUD.L  
Examineur : M<sup>me</sup> SI SMAIL. K  
Promotrice: M<sup>me</sup> DAHOUMANE- LARBAOUI.A**

**MCA  
MAA  
M.A.A**

**Promotion 2021/2022**

## **Remerciement**

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance à notre promotrice Madame Dahoumane-Larbaoui Akila pour la confiance et le respect qu'elle nous a offert ; on la remercie de nous avoir encadré, orienté, et pour sa patience et ses judicieux conseils.

Nos remerciements vont aux membres de jury : Nos sincères remerciements à M Daoudi d'avoir fait l'honneur de présider le Jury. Nos sincères remerciements à M<sup>me</sup> Si Smail a accepté d'examiner et d'évaluer notre travail. Nous tenons à remercier le personnel des laboratoires tout particulièrement à l'ingénieur de laboratoire D13 M<sup>me</sup> Haddadi K et D3 M<sup>me</sup> Zohra pour leur aide et encouragements, ainsi le personnel de la bibliothèque.

Nous remercions toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère adorable grand-  
mère.*

*A ma chère maman Saliha et mon cher papa Mourad que j'adore,  
pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études, et qui ont  
fait de moi ce que je suis aujourd'hui et j'espère qu'un jour je serai  
capable de leur donner au moins le minimum car quoiqu'on face on  
arrivera jamais à leurs rendre tout.*

*A mes très chers frères et sœurs que*

*j'aime : Amine, Amel,*

*Djouher  
, Ghania*

*Et mon oncle*

*Madjid. Et toute*

*ma famille.*

*Que Dieu le tout puissant les  
protégé.*

*A vous ma chère ASSIA que j'aime et contente de réaliser ce travail  
avec elle.*

*A ceux qui sont la source de mon inspiration et de mon courage, à qui  
je dois  
de l'amour et de la reconnaissance*

**REKKAB KENZA**

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère adorable grand-mère  
ZHOUR, et mon grand- père **Idir**.*

*A ma chère maman **Nassima** et mon cher papa **Akli** que j'adore, pour  
leur aide et leur soutien tout au long de mes études, et qui ont fait de moi ce  
que je suis aujourd'hui et j'espère qu'un jour je serai capable de leur donner  
au moins le minimum car quoiqu'on face on arrivera jamais à leurs rendre  
tout.*

*A mes très chers frères et sœurs que j'aime :*

***Areski, Kenza***

*Et toute ma famille **Sayah et  
Aouanough**.*

*Que Dieu le tout puissant les protégé.*

*A vous ma chère binôme **KENZA** que j'aime et contente de réaliser ce travail  
Avec elle.*

*A ceux qui sont la source de mon inspiration et de mon courage, à qui je dois  
de l'amour et de la reconnaissance*

**SAYAH ASSIA**

# Sommaire

## Introduction générale

### *Partie I : Synthèse bibliographique*

#### *Chapitre I : L'importance des Pseudomonas*

1. Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) .....	3
1.1. Définition.....	3
2. Les différents types des PGPR .....	4
3. Généralités sur les <i>Pseudomonas fluorescents</i> .....	5
3.1. Classification de Pseudomonas.....	6
3.2. Caractéristiques morphologiques et culturaux.....	7
4. Effet bénéfique des <i>Pseudomonas Spp Fluorescents</i> .....	8
4.1. Effet sur la croissance végétale biostimulation des végétaux .....	9
4.1.1. La stimulation de germination .....	9
4.1.2. La stimulation de croissance.....	9
4.2. Effet sur l'Effet sur le biocontrôle vis-vis les phytopathogènes .....	11
4.2.1 Compétition pour l'espace et les nutriments.....	11
4.2.2. Antibiose.....	11
4.2.3. Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance)....	12
9. Mécanismes d'action.....	13
5.1 Solubilisation du phosphore.....	13
5.2. Acide indole acétique (AIA) .....	14
5.3. Production des Sidérophores.....	14
5.4. Production d'HCN.....	16

## ***Chapitre 2 : Généralité sur le blé***

1. Origine et classification de blé.....	18
1.1 Origine du blé ( <i>Tritium durum</i> ) .....	18
1.2. Classification botanique.....	18
2. Les différentes variétés de blé dur.....	19
Les blés tendres.....	19
Les blés durs.....	19
Les blés mitadins.....	19
3. Cycle Végétatif du blé dur.....	20
3.1. La germination et la levée.....	20
3.2. Le taillage.....	20
3.3. La montaison –gonflement.....	20
3.4. L'épiaison – Floraison.....	20
4. Importance de blé ( <i>Tritium durum</i> ).....	21
4.1. Dans le monde.....	21
4.2. En Algérie.....	22

## **Partie II : Matériels et méthodes**

1. Matériel biologique .....	23
1.1. Souche bactérienne.....	23
1.2. Matériel végétal .....	23
1.3. Substrats.....	23
2. Caractérisation des souches bactériennes.....	23
2.1. Caractérisation morphologique.....	23
2. 1.1. Caractérisations macroscopique .....	23
2. 1.2. Caractérisation microscopique .....	23
2. 1.3. Caractérisations biochimique des couches bactériennes.....	25
3. La production de l'acide acétique (AIA).....	28

4. Solubilisation du phosphore par les souches bactériennes.....	28
5. Essai de la biostimulation de la croissance végétale.....	28
5.1. Stimulation de la germination.....	28
6. Paramètres étudiés.....	30
6.1. Taux de germination.....	30
6.2. Hauteur de la plumule et la radicule .....	30
6.3. Index vigor.....	31
7. stimulation de la croissance des plantules de T. durum.....	31
7.1. Transplantation.....	31
7.2. Dispositif expérimentale.....	32
7.3. Paramètres étudiés.....	33
8. Analyse statistique.....	33

## Partie III : Résultats et Discussion

1. Caractérisations des souches bactérienne.....	34
1.1 Caractérisation cultural.....	34
1.2. Caractérisation biochimiques et physiologiques.....	35
1.2.1. Galerie biochimique classique.....	35
2. Production de l'acide indole acétique.....	39
3. Solubilisation du phosphore par les souche bactériennes.....	40
4. Stimulation de la germination des graines de blé.....	42
4.1. Taux de germination.....	44
4.2 La hauteurs de la plume et de la radicule.....	44
4.3. Index vigor.....	46
3. résultat de la biostimulation de la croissance.....	47
Discussion.....	52
Conclussions .....	55



**PGPR:** Planth Growth Promoting Rhizobacteria

**AIA:** Acide indole acétique

**FOA:** *Fusarium oxysporum albedinis*

**FOL:** *Fusarium oxysporum lycopersici*

**Fs:** *Fusarium* spp de blè

**HCN:** Acide cyanhydrique

**KB:** King B

**PDA :** Potato-Dextrose Agar

**TG :** Taux de germination

**MS :** Milieu Minéral Salt Medium

**LPS :** Lipopolysaccharides

**RSI :** Résistance systémique induite

**BSP :** Bactéries solubilisant le phosphate

**DAPG :** 2,4-diacetylphloroglucinol

**RM :** Rouge de méthyle

**VP :** Voges Proskauer

**TSI :** Milieu triple sugar

iron

**H<sub>2</sub>S :** Sulfure d'hydrogènes

**PVK :** milieu Pikovskaya

**VI :** indice de Vigor

## Liste des figures

Figure 1: L'activité microbiologique de la rhizosphère (Vittorio et al, 2016)3. Les Rhizobactéries Promotrices de la croissance des plantes .....	10
Figure 2: Fonctions biologiques des Sidérophores (Khan et al. 2009) .....	15
Figure 3: Cycle de développement du blé (Henry, 2000). .....	21
Figure 4 : Variation de la production des céréales durant la période 2000-2007 (Laala Z., 2009. Analyse en chemin des relations entre le rendement en grains et les composantes chez des populations F3 de blé dur (Triticum durum Desf.) sous conditions semi-arides. Mémoire de master .....	22
Figure 5: Les étapes de la coloration de Gram .....	24
Figure 6: La Bacterisation des graines.....	29
Figure 7: Diapositive expérimentale de l'essai de mise en germination .....	30
Figure8 : Calcule la longueur de la racine et aussi la hauteur de la plumule .....	31
Figure 9: Transplantations des plantules de blé. ....	32
Figure 10:Les bactéries CH et S20 après incubation de 24H .....	34
Figure 11: résultat de test VP (original 2022) .....	34
Figure 12: résultat de test RM (original 2022) .....	34
Figure 13: résultat de test ADH (original 2022) .....	34
Figure 14: résultat de test urée indole (original 2022).....	34
Figure 15: Résultat de milieu de citrate de Simmons .....	37
Figure 16: résultat de teste gélatine.....	37
Figure 17: résultat de milieu Chapman .....	37
Figure 18 : Résultats de milieu gélose TSI.....	37
Figure 19 : Production d'AIA par les deux souches sur milieux MS .....	40
Figure 20: Solubilisation du phosphore sur milieux PVK par la souche B2(S20..	41
Figure 21: Taux de germination de blé dur pendant 8jour avec bacterisation et sans bacterisation .....	43
Figure 22: Effet de la bacterisation sur la hauteur de la feuille .....	45
Figure 23: Effet de la bacterisation sur la longueur racinaire.....	46
Figure 24: Effet de la bacterisation sur index vigor (original 2022) .....	47
Figure 25: Stimulation de la croissance avec traitements CH et le témoin non bactériiser .....	48
Figure 26: Stimulation de la croissance avec traitements CH et le témoin non bactériiser .....	49
Figure 27: Effet de la bacterisation sur la longueur racinaire.....	49
Figure 28: effet de la bacterisation sur Le poids frais racinaire de la plante...	50
Figure 29 :poid sec de la plante .....	50
Figure 30: effets l'interaction bactérie –plante sur la hauteur foliaire.....	51
Figure 31: effets l'interaction bactérie –plante sur le poids frais foliaire.....	51
Figure 32: effets l'interaction bactérie –plante sur le poids sec foliaire .....	51

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 Caractère physiologique et biochimique des deux souches bactériennes CH et S20 .....</b>	<b>38</b>
<b>Tableau 2 Les diamètres des zones de clarification formées par la solubilisation du phosphores sur le milieu PVK .....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau 3 Effet de la bacterisation sur les paramètres de la germination de blé .....</b>	<b>44</b>
<b>Tableau 4 La stimulation de la germination de blé et l'effet de la bacterisation sur la longueur de la plumule et la radicule par les souches CH et S20 .....</b>	<b>45</b>
<b>Tableaux 5 Effet de la bacterisation CH et S20 et non bactériser T sur les paramètres de germination de blé .....</b>	<b>46</b>
<b>Tableau 6 Effet de la bacterisation sur la croissance de blé .....</b>	<b>48</b>



## **Introduction générale**

La population mondiale devrait augmenter de 2 milliards de personnes au cours des trente prochaines années, passant de 7,7 milliards à 9,7 milliards en 2050 (Nations unies, 2019). En raison de cette croissance démographique significative, les besoins nutritionnels vont augmenter aussi. D'après (FAO, 2017), l'amélioration du rendement des cultures agricoles est l'une des solutions pour atteindre la suffisance alimentaire. De nos jours, l'amélioration se fait généralement par l'utilisation des engrais chimiques et des pesticides. L'utilisation massive de ces derniers dans les cultures agricoles pose plusieurs problèmes environnementaux tels que la pollution des sols et des nappes phréatiques (IAGRI, 2019), ainsi que des problèmes liés à la santé publique comme signalé par l'OMS (2018). En effet, les pesticides font partie des premières causes du cancer et de stérilité (OMS, 2018) ; vu qu'ils font partie des perturbateurs endocriniens (ATMO, 2020).

Pour surmonter ce problème, il existe deux solutions de base : la gestion durable des engrais chimiques (FAO, 2019) et l'utilisation des microorganismes promoteurs de la croissance des plantes (Rani et al. 2012). Également, l'intensification écologique vise à accroître la productivité de l'agriculture en renforçant la biodiversité et les services écosystémiques associés, tout en minimisant l'utilisation d'intrants synthétiques et l'expansion des terres cultivées (Griffon, 2013 ; Montesinos, 2019).

Certains groupes de microorganismes ont la capacité de stimuler la croissance des plantes de différentes manières. Parmi ces groupes se trouvent les champignons, en particulier ceux qui ont une relation symbiotique avec les plantes (mycorhizes) tels que *Rhizopogon* spp. et *Suillus* spp. (Duponnois et al. 2010). D'autres groupes sont des bactéries, parmi lesquelles : *Pseudomonas* (Neelam et Saraf, 2010), *Bacillus* (Kang et al. 2019) et les actinomycètes.

Dans l'ensemble, les bactéries ayant un impact positif sur la plante, par le biais d'un effet protecteur ou via une stimulation de sa croissance, ont communément été regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) dont appartiennent les *Pseudomonas* spp. Fluorescent (Mercado-Blanco et al, 2007).

Une grande part des recherches réalisées sur les rhizobactéries souligne l'importance et le potentiel du groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Cipriano et al, 2018). En effet, au cours des deux dernières décennies, des études ont signalé des augmentations significatives dans la croissance et le rendement des cultures en réponse à l'inoculation avec quelques souches

de *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Taguet et al, 2015 ; Turatto et al, 2018) qui sont des biofertilisants également appelés « biostimulants » ou « phytostimulants » (Faessel et al. 2015).

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents qui favorisent la croissance des plantes, stimulent directement la croissance de celles-ci en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux. Les *Pseudomonas* spp stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste sur la microflore qui leur est néfaste en transformant les métabolites toxiques et en stimulant la nodulation des légumineuses par les *Rhizobia*. Leurs effets antagonistes impliquent la production d'antibiotiques et la compétition nutritionnelle avec les pathogènes végétaux (Beauchamp, 1993).

Notre étude consiste à partir d'un matériel biologique étudié précédemment de mettre en évidence les potentialités de deux souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. Fluorescents dans la production de l'acide-indole-acétique et dans la solubilisation du phosphate tricalcique. Des essais d'évaluation des potentialités de stimulation de la germination et de biostimulation de la croissance végétale des plantules d'une variété locale de *Triticum durum* chez ces deux souches bactériennes ont été effectués.



# **Chapitre I**

## **L'importance des *Pseudomonas***

## 1. Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)

### 1.1. Définition

Le terme PGPR a été introduit pour la première fois à la fin des années 1970 par Kloepper et Schroth. Il est également connu sous les noms de Nodule Promoting Rhizobacteria (NPR) les Rhizobacteria favorisant les nodules (**Bazot, 2005**) et Plant Health Promoting Rhizobacteria (PHPR) rhizobactéries favorisant la santé des plantes (Singh, **2018**). Les PGPR sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère (**Benmati, 2014**). Sur la base de l'interaction, ils pourraient être distingués en deux types : symbiotique et libre. Le premier type est dû au fait qu'ils vivent à l'intérieur des parties de la plante et ont une source directe d'interaction concernant l'échange de métabolites, tandis que le second vit à l'extérieur. Certaines bactéries symbiotiques résident dans les espaces intercellulaires de la plante tandis que d'autres peuvent s'engager dans une interaction mutualiste comme un moyen de pénétrer à l'intérieur de la cellule végétale (**Singh, 2018**). Les bactéries du genre *Pseudomonas* occupent la plupart des environnements naturels. Elles sont isolées de l'eau, du sol et des végétaux. Elles présentent un fort potentiel d'adaptation physiologique et génétique et sont capables d'utiliser une grande variété de nutriments. D'un point de vue écologique, les *Pseudomonas* regroupent des espèces bénéfiques pour l'environnement et des espèces pathogènes (**Talon et al. 2006**).

Au niveau de la rhizosphère les *Pseudomonas* peuvent avoir un effet bénéfique en mobilisant certains nutriments nécessaires à la croissance de la plante. Elles peuvent aussi la protéger contre des micro-organismes pathogènes en stimulant les mécanismes de résistance intrinsèques de la plante par la sécrétion des composés antibactériens et antifongiques et/ou par la compétition vis-à-vis de certains nutriments. C'est notamment le cas de souches de *P. fluorescens*, décrites comme des bactéries phytoprotectrices jouant un rôle prépondérant dans le biocontrôle de la rhizosphère (**Walsh et al. 2001**). D'autres espèces sont des pathogènes pour les plantes, comme l'espèce *P. syringae* qui compte au moins 37 pathovars capables d'infecter de nombreuses espèces de végétaux (**Sawada et al. 2002**).

Les *Pseudomonas* spp. Sont capables de dégrader de nombreux composés organiques, tels des composés halogénés, des hydrocarbures aromatiques et des herbicides (**Ramos, 2004**). Elles peuvent ainsi être utilisées dans les processus de décontamination des sols « bioremédiation » (**Stallwood et al. 2005**).

Les *Pseudomonas* spp. Peuvent également se comporter comme des agents opportunistes et être à l'origine d'infections iatrogènes et/ou nosocomiales. En raison de la richesse de leurs voies métaboliques, souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques.

Ceci explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier, où elles peuvent être isolées de l'environnement humide, des denrées alimentaires, des réactifs biologiques, des solutés injectables, du sang ou des dérivés sanguins conservés au froid (**Feuilloy et al.2007**).

## **2. Les différents types des PGPR**

### **➤ Bio fertilisant:**

Une substance qui contient des microorganismes vivants, lorsqu'elle est appliquée sur la surface de la plante des semences ou le sol, colonisent la rhizosphère et promeuvent la croissance des plantes en augmentant le nombre des éléments fertilisants primaires de la plante hôte. Leurs mécanismes d'action :

-La fixation biologique d'azote.

-Utilisation du phosphore insoluble (**Vessey, 2003**) (**Somers et al. 2004**)

### **➤ Phytobénéfique:**

Micro-organisme, capable de produire des phytohormones acide indole acétiques,

L'acide gibbérellique les cytokines et de l'éthylène (**Lugtenberg et al. 2002**) (**Vessey, 2003**) (**Somers et al. 2004**)

### **➤ Bio pesticides:**

Les micro-organismes qui favorisent la croissance des plantes en contrôlant les agents Phytopathogènes. Leurs modes d'action :

- Production d'antibiotiques, sidérophores, d'enzymes, hydrolytiques acquis et systémique

Induite la résistance (**Somers et al. 2004**) (**Chandler et al. 2008**).

### 3. Généralités sur les *Pseudomonas* fluorescents

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas* Fluorescents sont parmi les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60 % de la microflore bactérienne totale du sol (Allaire, 2005). Ces bactéries peuvent agir favorablement sur la plante en modifiant son environnement immédiat par des effets d'antibiose et /ou en stimulant directement sa croissance par des effets bénéfiques ou PGPR (Plant, Growth, Promoting Rhizobacteria).

Le genre *Pseudomonas* est le groupe le plus hétérogène écologiquement significatif de bactéries connues, et comprend des bâtonnets aérobies Gram-négatives qui sont largement répandues dans la nature et caractérisées par une polyvalence élevée du métabolisme, grâce à la présence d'un système enzymatique complexe. Les exigences nutritionnelles de *Pseudomonas* spp sont très simples, et le genre se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, le de mer, etc. Mais il a également été isolé des sujets cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (Franzetti et Scarpellini, 2007). Certains membres du genre *Pseudomonas* appartiennent aux Gamma- Protéobactéries. Ce groupe englobe la majorité des espèces de bactéries phytopathogènes importants et des agents porteurs d'infections humaines, alors que d'autres souches et espèces sont responsables des activités de bioremédiation et de contrôle biologique (Tripathy et al. 2006).

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des Pseudomonaceae, il comprend une soixantaine d'espèces. Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *Pseudomonas fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différents biovars. Le groupe de *Pseudomonas* se compose de bactéries sous forme de bâtonnets, Gram

Négatifs, mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*), non sporulant, elles sont

Aérobies obligatoires. Les *Pseudomonas* ont un métabolisme mésophile et chimioorganotrophe, peu exigeantes, et incapable de fermenter le glucose, se caractérisent par la pluralité des substances hydrocarbonées utilisées comme source de carbone et d'énergie, produisant des pigments, la plupart étant saprophytes et pouvant coloniser les cellules corticales mortes des racines (Cook et al. 1996).

En effet, ces bactéries sont d'excellents compétiteurs vis-à-vis de la microflore fongique et bactérienne du sol par leur temps de génération (multiplication) « in situ »

Relativement court, leur capacité à chélater les ions ferriques et à produire des substances antibiotiques. Chez les

*Pseudomonas*, d'autres molécules antifongiques comme la viscosamide, la pyoluteorine, le 2,4 diacetylphloroglucinol, la pyrroinitrine, les phénazines et les butyrolactones sont impliquées dans le biocontrôle (**Haas & Defago, 2005**).

Elles peuvent également agir sur le métabolisme de la plante par effet hormonal et/ou par solubilisation de formes de phosphore insolubles, rendant ainsi le phosphore bio disponible, il est également reconnu que des bactéries de la mycorrhizosphère, encore appelées bactéries auxiliaires de la mycorrhization, stimulent sélectivement l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne (**Picard et al. 1992 & Girlanda et al. 2001**).

Les genres *Pseudomonas* produisent un pigment fluorescent jaune vert (**Botelho & Leda, 2006**) soluble sur le milieu King B contenant une faible concentration en fer. Elles forment toutes des colonies fluorescentes (**Whipps & Walsh et al. 2001**).

### **3.1. Classification de *Pseudomonas***

Les *Pseudomonas* sont classés selon la hiérarchie suivante (**Palleroni, 1984 ; Krieg et al. 1984 ; Holt et al. 1994**) :

Règne : Bacteria

Embranchement : Prokaryota

Division : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Dans l'édition de 1974 du *Bergey's Manual*, ces bactéries sont incluses dans la famille des *Pseudomonadaceae*. Leur classification repose sur des caractéristiques phénotypiques, seules la composition en G+C furent rajoutées comme caractéristique génétique. Dans la première décennie du nouveau millénaire, la révision taxonomique la plus détaillée du genre *Pseudomonas* basée sur le séquençage du gène codant l'ARNr 16S, fut entreprise par (**Anzai et**

al. 2000). En analysant les séquences de 128 espèces de *Pseudomonas* (certaines sont des souches de références), ils ont conclu que 57 seulement appartenaient aux groupe des *Pseudomonas sensu stricto* ; la comparaison de 1073 nucléotides les a subdivisées en 7 groupes :

- 1 .Le groupe de *P. syringae*.
- 2 .Le groupe de *P. chlororaphis*.
- 3 .Le groupe de *P. fluorescens*.
- 4 .Le groupe de *P. putida*.
- 5 .Le groupe de *P. stutzeri*.
- 6 .Le groupe de *P. aeruginosa*.
7. Le groupe de *P. pertucinogena*

### **3.2. Caractéristiques morphologiques et culturels**

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1,5 à 5,0  $\mu\text{m}$  (ou plus) de longueur, non sporulés. Ces bactéries sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (**Garrity, 2005**). La culture de ces bactérie est facile avec ou sans production de pigments, sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate et des milieux sélectifs à base decétrimide que l'on peut additionner d'acide nalidixique.

Les colonies de *P.aeruginosa* sont polymorphes, soit large avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier (œufs sur le plat), soit des petites colonies mates légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, des colonies muqueuses bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes. (**Avril et al., 2000**).

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces Fluorescentes produisant des pigments spécifiques. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture. Les espèces pigmentées sont par exemple : *P. aeruginosa* produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P. putida*, *P.syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine et *P.aureofaciens*

produit un pigment jaune orange ou pourpre. Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes*, *P. stutzeri*. (Martin, 2007).

#### **4. Effet bénéfique des *Pseudomonas Spp* Fluorescents**

Les *Pseudomonas Spp* Fluorescents sont parmi les rhizobactéries non symbiotique qui font l'objet d'une attention particulière et significative sur l'augmentation de rendement des cultures.

Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises par Kloepper et Schroth (1978) sous le terme « PGPR » (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).

L'augmentation et la qualité de la productivité agricole sont indispensables. Les applications des PGPR sont les pratiques les plus fiables offrant de meilleurs rendements des cultures agricoles.

L'installation des PGPR dans la rhizosphère est influencée par les substances libérées par les racines des plantes (Prescott et al, 2003 ; Sturz et Christie, 2003). Ces rhizobactéries non seulement augmentent en nombre lorsque ces éléments nutritifs deviennent disponibles mais leur assemblage et leur fonction changent aussi (Prescott et al. 2003). Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson, 2004). Grâce à leur pouvoir adapté aux conditions rhizosphériques, ajouté à leurs mécanismes d'action bénéfiques, ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (Siddiqui, 2003).

Les *Pseudomonas Spp* fluorescents influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et sa germination (voie directe) et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (voie indirecte).

Les modes directs incluent la fixation d'azote atmosphérique, l'apport de nutriments non disponibles, (phosphore et autres nutriments minéraux), la production de régulateurs de croissance végétale (auxines, cytokinines et gibbérellines) et la répression de la synthèse d'éthylène (Hassen et Labuschagne, 2010)

Indirects sont les éliminations des agents phytopathogènes à travers la compétition pour l'espace et les nutriments, la synthèse d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des enzymes ou

des toxines produites par les pathogènes, et l'induction des mécanismes de résistance de la plante (**Antoun et Prévost., 2005**)

#### **4.1. Effet sur la biostimulation de la croissance végétale**

##### **4.1.1. La stimulation de germination**

Les PGPR sont en mesure d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes telles que l'augmentation du taux de germination des graines. De nombreux travaux ont prouvé que l'utilisation des PGPR telles que *Azospirillum Spp* (**Rodriguez et al. 2001**) *Pseudomonas* (**Zaidi, 2003**), *Azotobacter chroococcum C2* (**Basavaraju et al. 2002**) et *Azotobacter sp.* (**Reyes et al. 2008**) ont donné une meilleure germination des graines de tomates, de poivre, de laitue, du radis, du maïs et des plants de soja.

Les *Pseudomonas spp* Fluorescents stimulent et améliorent la germination des graines et la levée des plantes particulièrement dans des conditions environnementales défavorables à leur germination (**Haas et Déffago, 2005**). Chez plusieurs espèces végétales surtout les espèces herbacées après leur bactérisation, la vitesse de levée a été accru (**Digat et al. 1990 ; Matiru et Dakora, 2004 ; Sharma et al. 2007 ; Wang et al. 2012**).

L'inoculation des plants par des PGPR biocontrôles peut modifier la synthèse métabolique de la plante hôte. Des études réalisées sur le pois chiche (*Cicer arietinum*) montrent qu'en condition inoculée avec la souche *Pseudomonas fluoresces Pf4* et la souche *P. aeruginosa*, fait l'objet d'interprétations en ce qui concerne son rôle physiologique au niveau de la plante.

##### **4.1.2. La stimulation de croissance**

Les *Pseudomonas Spp* Fluorescents été reconnue comme bénéfique pour la croissance des plantes (**Kloepper et al. 1988 ; Weller and Cook, 1986**). Cette bactérie peut améliorer la croissance des plantes grâce à la production de Sidérophores qui fixent efficacement le fer de l'environnement et le rendent indisponible pour d'autres composantes de la microflore du sol.

Certaines PGPR stimulent la croissance des plantes en l'absence de pathogènes. Ces effets directs regroupent les accroissements de la masse aérienne et racinaire, l'élongation racinaire et les levées accélérées des plantules. Ces augmentations s'expliquent généralement par des meilleurs prélèvements et assimilation des éléments nutritifs par la plante, la production de phytohormones et le développement de résistance induite chez les plantes. Diverses bactéries

ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase, ou le phosphore inorganique par la libération d'acides organiques (Kloepper et al 1989). Les semences de canola (*Brassica campestris* L.) inoculées avec la PGPR, ont un contenu en phosphore supérieur aux témoins non-inoculés (Lifshitz et al. 1987).

Selon d'autres auteurs, les régulateurs de croissance qui sont produits dans la rhizosphère peuvent être prélevés directement par les racines et stimuler la croissance de la plante. Les quantités produites varient avec le microorganisme impliqué et la présence des précurseurs métaboliques des régulateurs de croissance. L'acide indole acétique (AIA) est le groupe le plus important de l'auxine, il affecte à la fois la promotion de la croissance de la plante et la nodulation des racines (Taghavi et al. 2009).

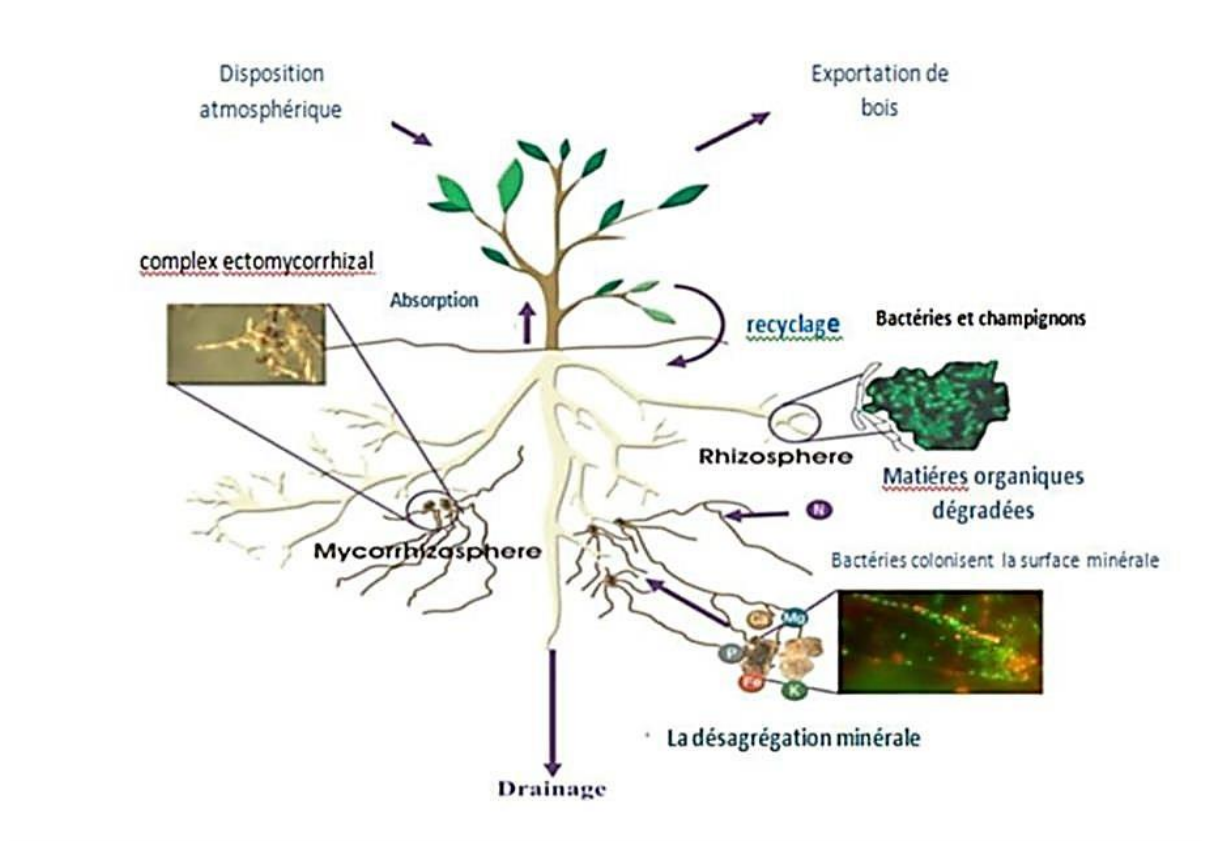


Figure 1: l'activité microbiologique de la rhizosphère (vittorio et al, 2016)3. Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes.

## **4.2. Effet sur le biocontrôle vis-vis les phytopathogènes**

Les micro-organismes phytopathogènes sont une menace majeure à long terme pour la stabilité, de l'agriculture et des écosystèmes mondiaux durables, qui a bouleversé l'écologie des sols et perturbé l'environnement en réduisant la fertilité du sol et affectant ainsi négativement la santé humaine et contaminant les eaux souterraines. Parmi en trouve :

### **4.2.1 Compétition pour l'espace et les nutriments**

Dans certains cas, les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer les pathogènes fongiques par une compétition pour le carbone et les sources d'énergie (**Kamilova et al. 2005**). Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments

Dans la rhizosphère (**Haas et Defago, 2005**). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (**Lugtenberg et Kamilova, 2009**).

### **4.2.2. Antibiose**

L'utilisation d'antagonistes microbiens contre les agents pathogènes des plantes dans les cultures agricoles a été proposée comme alternative aux pesticides chimiques. Une méthode de lutte biologique alternative et respectueuse de l'environnement est nécessaire pour lutter contre la maladie ; les PGPR constituent un important groupe de microbes capables de coloniser les racines des plantes (**Hashemet al. 2017**).

Les actinomycètes sont la principale source naturelle de métabolites anti cellulaires. Ils sont connus comme de nobles usines pour la production de nombreux composés biologiquement actifs comme les antibactériens, les antifongiques, les antiviraux, les inhibiteurs enzymatiques (**Ahmad et al. 2017**), Les insecticides, l'anti protozoaires et les agents herbicides (**Kekuda ,2013**). Les actinomycètes endophytes résident dans des tissus végétaux sains poursuit et ne produit pas (du moins à court terme) des symptômes évidents d'infection. En raison de leurs rôles, qui favorisent la croissance des plantes hôtes, augmentant la résistance des plantes aux maladies et permettre aux plantes de s'établir le stress ainsi que le niveau de résistance aux

insectes et aux mauvaises herbes, les actinomycètes endophytes sont devenus un nouveau type favorable de ressource biologique (Song et al. 2020).

#### **4.2.3. Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance)**

L'expression de mécanismes de défense systémique chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes lors d'un phénomène appelé ISR, ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelle attaque des agents pathogènes (virus, bactéries et champignons). De nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), Sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (Gupta et al. 2015 ; Shameer et Prasad 2017).

La Résistance Systémique Induite (RSI) est un mécanisme de réponse des peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes lors d'un phénomène appelé ISR, ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelle attaque des agents pathogènes (virus, bactéries et champignons). (Van Loon et al. 1998) se sont référés au processus de traitement des plantes avec des PGPR pour déclencher les défenses de l'hôte comme réduisant la gravité ou l'incidence des maladies causées par des agents pathogènes qui sont spatialement séparés de l'inducteur. Dans la plupart des cas, les caractéristiques non spécifiques de la résistance induite augmenteront le niveau de base de résistance à plusieurs agents pathogènes en même temps, ce qui est bénéfique dans des conditions naturelles où plusieurs agents pathogènes existent encore. Les PGPR telles que les souches de *Pseudomonas* sont connues pour induire une résistance systémique chez les œillets, tandis que les Sidérophores de *Pseudo actine* produits par les souches de *Pseudomonas* induisent une résistance systémique chez le tabac et *Arabidopsis*.

L'expression phénotypique du phénomène de la RSI peut être divisée en quatre étapes principales. Ces étapes sont :

- La perception par la plante des molécules bactériennes responsables de l'élicitations du phénomène.
- La transmission du signal nécessaire à la systémisation du phénomène dans la plante,
- La mise en alerte de la plante au niveau systémique qui, dans la plupart des cas, n'est pas accompagnée de modifications majeures de l'activité transcriptionnelle avant l'attaque du pathogène.

- L'expression du ou des mécanisme(s) de défense sensu stricto induits permettant de limiter voire inhiber la pénétration du pathogène dans les tissus de l'hôte végétal (Cherif, 2014).

## 5. Mécanismes d'action

### 5.1 Solubilisation du phosphore

L'amélioration de la fertilité du sol est l'une des stratégies les plus communes pour augmenter la production agricole. En plus de la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates est également importante. Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. Contrairement à l'azote, il n'existe pas de source biologiquement disponible (Ezawa et al. 2002). Même dans les sols riches la plupart du phosphore n'est pas disponible pour les plantes, une grande quantité se trouve sous forme insoluble. Les bactéries solubilisant le phosphate, PSB (Phosphate Solubilizing Bacteria) sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (Vessey, 2003). Les micro-organismes permettent la disponibilité du P pour les plantes par minéralisation du P organique du sol et par solubilisation des phosphates précipités (Kucey et al. 1989 ; Pradhan et Sukla, 2005). La capacité de quelques micro-organismes à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important pour les PGPR. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent biofertilisant dans l'agriculture (Sharma et al ; 2007).

Le principal mécanisme de solubilisation des phosphates est la production d'acides organiques. L'acide gluconique et 2-cétogluconique sont les plus fréquemment rencontrés. Les acides glycolique, oxalique, malonique et succinique, ont également été identifiés. Certaines souches sont capables de produire en plus des mélanges d'acides lactiques, isovalérique, isobutyrique et acétique. La libération de ces acides mobilisant le phosphore par l'intermédiaire d'interactions ioniques avec les cations du sel de phosphate conduisent à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement et par conséquent la libération du phosphate sous forme ionique. La libération des groupements phosphates liés à la matière organique est assurée par l'action des phosphatases (Kumar et Narula 1999 ; Whitelaw, 2000 ; Gyaneshwar et al. 2002).

Parmi les communautés bactériennes du sol, les espèces de *Bacillus*, Entérobactérie, *Erwinia* et *Pseudomonas* Spp. (Subbarao, 1988 ; Kucey et al. 1989). *B. megaterium*, *polymyxa*, *circulans*, *coagulans*, *subtiles*, *sircalmous* sont les plus performantes (Podile et Kishore, 2006) dans la solubilisation des phosphates. Celle-ci permet à *B. megaterium*, par exemple, d'améliorer le nombre et le poids sec de nodules, le rendement des composants, la disponibilité et l'absorption des nutriments des cultures du soja (Son et al. 2006 ; Sharma et al. 2007) demande de phosphore par 50 % sans affecter le rendement du maïs (Yazdani et al. 2009). L'inoculation par *B. megaterium* solubilisant les phosphates améliore les rendements de la canne à sucre de 12,6 % (Sundar et al. 2002).

Les PSB sont communes dans la rhizosphère des plantes cultivées, et quelques exemples d'association bénéfiques comprennent *B. megaterium* et les Pois chiches (Elkoca et al., 2008), *B. licheniformis*, *B. megaterium* et le blé et les épinards (Cakmakci et al., 2007), *Pantoea agglomerans* et la tomate (Kim et al., 1998), *Pseudomonas chlororaphis*, *P. putida* et le soja (Cattelan et al., 1999), *Avena sativa* et les souches PGPR isolées de la rhizosphère de fourrage (Wenxing et al., 2008), *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* spp, et le maïs (Hameeda et al., 2008).

## **5.2. Acide indole acétique (AIA)**

AIA est le plus important du groupe des auxines (Ashrafuzzaman et al. 2009) La plupart sont produits par PGPR. Il fonctionne comme une molécule de signalisation importante dans la régulation de Croissance des plantes, effets sur l'organogenèse, réponses nutritionnelles, réponses cellulaires Expansion cellulaire, division, différenciation, régulation des gènes, etc. (Ryu et Patten, 2008). Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en imitant l'action des bactéries Application directe d'AIA sur les racines. Favorise la survie des bactéries de la rhizosphère. Ou L'ajout d'AIA augmente le poids des tiges et des racines de blé. Différents types de bactéries ont la capacité de produire de l'AIA. Grosse part (80%) Les bactéries qui colonisent la rhizosphère la synthétisent, et les bactéries Gram-positives sont faibles Producteur (Loper et Schroth, 1986).

## **5. 3. Production des Sidérophores**

Le fer est un nutriment essentiel pour presque toutes les formes de vie (Neilands, 1995). Certains PGPR produisent des Sidérophores, des composés de faible poids moléculaire Groupes

fonctionnels généralement inférieurs à 1 k Da Séquestre le fer en le rendant disponible pour l'absorption par les plantes (**Kirdi et Zermane, 2010**). Les Sidérophores sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire. Entre 200 et 2000 Daltons, son rôle est de le résoudre, le chélater et l'extraire Rend le fer plus disponible à partir de nombreux minéraux ou complexes organiques Sur les micro-organismes (**Neilands, 1995**). Les Sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation des ions ferriques par des micro-organismes aérobies comme les bactéries, mais aussi par certains champignons organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) qui réagissent aux conditions environnementales Carence en fer (**Ratledge et Dover, 2000**). Après sécrétion par les bactéries, les Sidérophores se chélatent avec une forte affinité Absorbe le fer dans l'environnement extracellulaire et le transporte via des voies anaboliques Spécifique (**Krewulak et Vogel, 2008**).

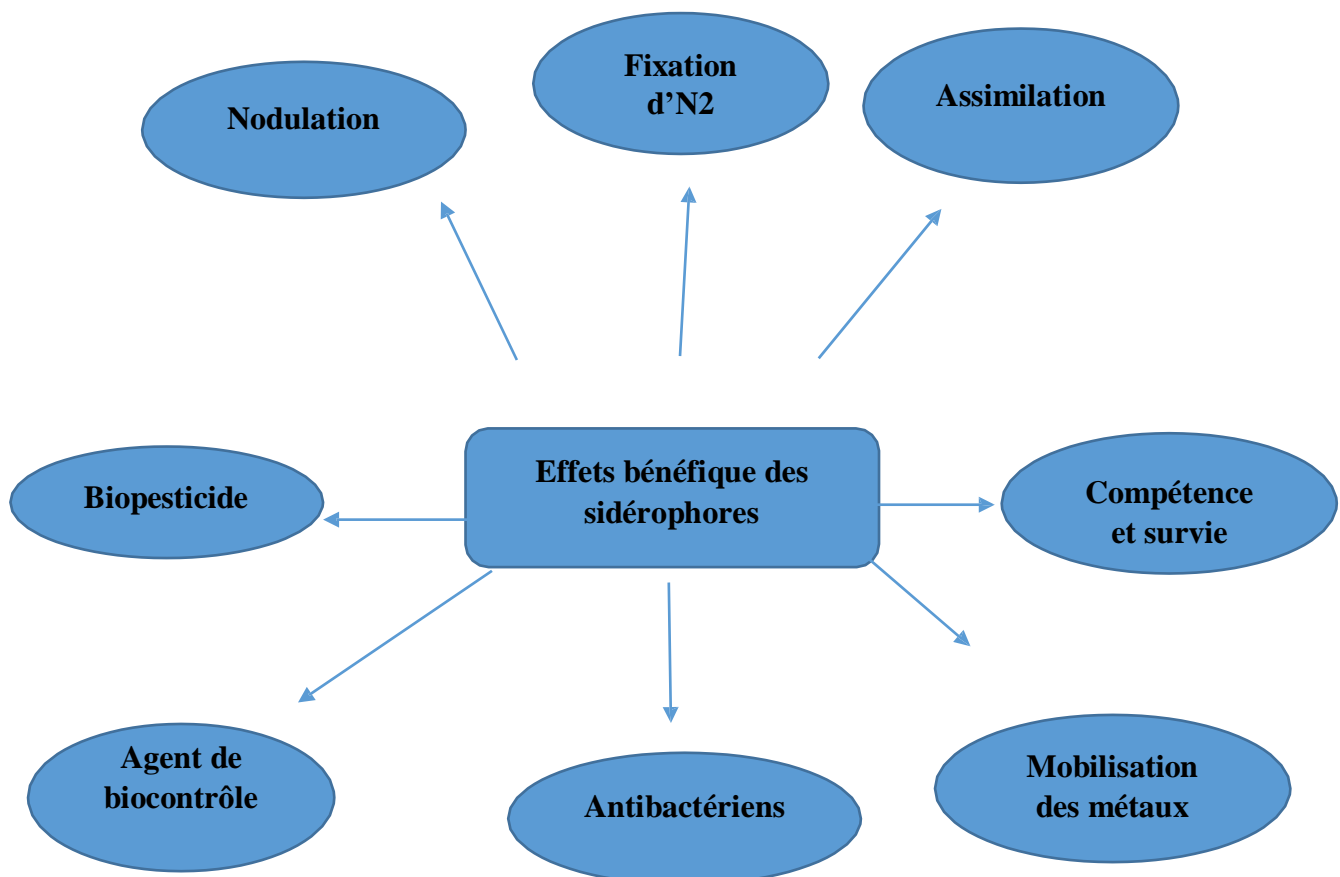


Figure 2: Fonctions biologiques des Sidérophores (Khan et al. 2009)

#### 5.4. Production d'HCN

De nombreuses bactéries peuvent produire du cyanure d'hydrogène (HCN) sous la forme de leur métabolite volatil ou exogène dans un milieu de culture qui peut également être exploité à des fins agricoles, comme mesure potentielle contre un bon nombre d'agents pathogènes des plantes et des cultures agricoles ainsi que pour le contrôle des mauvaises herbes dans les champs agricoles. HCN est un métabolite secondaire microbien volatil à large spectre bien connu, beaucoup plus efficace toxique pour les agents pathogènes des plantes (**Pal et al. 2000 ; Voisard et al., 1989**) produit par un certain nombre d'agents favorisant la croissance des plantes rhizobactéries (PGPR). Le HCN peut jouer un rôle clé dans la suppression des maladies de diverses cultures (**Defago et al., 1990, Voisard et al., 1989 ; Stutz et al. 1986**) en plus de leur rôle contre les agents pathogènes du sol afin de supprimer eux (**Weller et al. 2002 ; Voisard et al. 1989**) et aussi dans le contrôle des mauvaises herbes (**Heydari et al. 2015 ; Kamei, et al. 2014 ; Kremer et Souissi 2001**). Le HCN joue un rôle important dans la lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes grâce à la limitation de la croissance fongique contribuant à leur antagonisme (**Ahamad et al. 2008 ; Rezzonico et al. 2007 ; Siddiqui et al., 2006**). Le HCN peut également être responsable de la suppression de différentes maladies des racines des plantes dans le tabac, concombre et tomate (**Flaishman et al. 1996 ; Ramettee et al. 2003 ; Voisard et al., 1989**) ainsi que de provoquer effet néfaste sur de nombreux nématodes phytopathogènes (**Insunza et al. 2002, Gallagher et Manoil 2001**). De nombreux *Pseudomonas* fluorescents associés aux plantes ont leur potentiel pour le contrôle biologique des agents pathogènes des plantes par leur production de plusieurs composés antimicrobiens dont le HCN (**Haas et Defago 2005**).

Outre les études de biocontrôle, certains travaux ont également suggéré que le HCN produit par les PGPR joue leur rôle important dans la formation de complexes avec les métaux de transition présents dans les minéraux (**Faramarazi et Brand L 2006 ; Fairbrother et al., 2009**) et aussi avec des fers (**Keel et al., 1997**) et réduit ainsi les niveaux de fer disponibles pour phytopathogènes afin d'apporter une dimension supplémentaire au biocontrôle et au métabolisme des nutriments éléments provenant d'environnements rocheux naturels (**Wongfun et al. 2014; Lapanje et al., 2014; Frey et al. 2010**).

En plus, HCN joue également un rôle clé indirect dans la disponibilité du phosphore et la démonstration des métaux (**Rijavec et Lapanje 2016**), Contribuant à l'augmentation directe

de la disponibilité des nutriments facilitant l'amélioration de la croissance et développement (Rijavec et Lapanje 2016).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and rounded corners on the right, framing the chapter title.

## **Chapitre 2**

### **Généralité sur le blé**

## **1. Origine et classification de blé**

### **1.1. Origine du blé :**

Depuis la naissance de l'agriculture, le blé est la base de la nourriture de l'homme (**Ruel, 2006**), c'est une espèce connue depuis la plus haute antiquité, dont il constitue la base alimentaire des populations du globe (**Yves et Buyer, 2000**). Pendant plusieurs siècles, il a été vénéré comme un dieu et associé à la pluie, l'agriculture et la fécondité (**Ruel, 2006**). Cette catégorie de blé est cultivée dans les pays de climat chaud et sec. Les grains de blé dur sont allongés, souvent même pointus, avec des enveloppes assez minces et légèrement translucides. Ils donnent moins de son que les blés tendres, bien que contenant plus de gluten (12 à 14%), se prêtent moins bien à la panification. C'est un blé utilisé essentiellement en semoulerie, pour la fabrication des pâtes alimentaires et des couscous (**Abecassis, 1993**). L'origine génétique du blé dur remonte au croisement réalisé entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage *Aegilops sétoises*. Le blé dur est appelé *Triticum durum* à cause de la dureté de son grain. Il possède, à l'inverse des espèces ancestrales originaires de Syrie et de Palestine  $2n=4x=28$  Chromosomes (**huang et 2002**).

### **1.2. Classification botanique**

Le blé dur est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille qui sont caractérisée par des critères morphologiques particuliers. Le blé dur est une monocotylédone qui obéit à la classification suivante :

Embranchement : Spermaphytes

S/Embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Super Ordre : Commeliniflorales

Ordre : Poales

Famille : Graminacée

Tribu : Triticeae

Sous tribu : Triticinae

Genre : *Triticum*

Espèce : *Triticum durum* Desf

## **2. Les différentes variétés de blé dur**

Il existe un très grand nombre de variétés de blé. Ce sont les cultivateurs et les producteurs qui essaient d'adapter au mieux ces variétés en fonction de la nature du sol et du climat de la région, afin d'obtenir le meilleur rendement possible. Toutes les différentes variétés de blé sont classées en trois grandes catégories :

### **Les blés tendres :**

Les grains des blés sont arrondis, les enveloppes sont épaisses, sans transparence. Ils se prêtent particulièrement bien à la mouture ; en effet, lors du passage entre les cylindres, les enveloppes s'aplatissent et s'ouvrent sans se broyer, libérant l'amande et donnant une très forte proportion de son. Les blés tendres permettent d'obtenir une farine de bonne qualité, contenant environ 8 à 10 % de gluten, ayant de bonnes aptitudes pour la panification.

### **Les blés durs :**

Cette catégorie de blé est cultivée dans les pays de climat chaud et sec. Les grains de blés durs sont allongés, souvent même pointus, les enveloppes sont assez minces et légèrement translucides. Ils donnent moins de son que les blés tendres et la farine obtenue, bien que contenant plus de gluten (12 à 14 %), se prêtent moins bien à la panification.

### **Les blés mitadins :**

Ces blés ont des caractéristiques et des qualités intermédiaires entre les blés tendres et les blés durs. Les grains sont plus plats que les grains de blé tendre et moins longs que ceux du blé dur. Les enveloppes assez résistantes sont d'une épaisseur moyenne. Contenant du gluten de très bonne qualité, les blés mitadins sont parfois employés comme des blés de force, mélangés à des blés tendres, ce qui donne des farine de très bonne qualité pour la panification (Abecassis, 1993)

Malgré la grande richesse des ressources génétiques, les variétés connues actuellement présentent un spectre assez réduit au regard de la diversité des conditions agro climatiques de l'Algérie pour plusieurs raisons, dont quelques-unes sont liées à une méthodologie d'amélioration empirique, d'autres à l'introduction précipitée de matériel végétal présentant des caractéristiques d'adaptation spécifique (Ait kaki, 2007).

### **3. Cycle Végétatif du blé dur**

#### **3.1. La germination et la levée**

La germination de la graine se caractérise par l'émergence du coléorhize donnant naissance à des racines séminales et de la coléoptile qui protège la sortie de première feuille fonctionnelle. La levée se fait réellement de la sortie des feuilles à la surface du sol. Au sien d'un peuplement, la levée est atteinte lorsque la majorité des tiges de semis sont visibles (**Gate, 1995**). Durant la phase semis-levée l'alimentation de la plante dépend uniquement de son système racinaire primaire et des réserves de la graine. La réalisation de cette phase dépend de la chaleur, l'aération et l'humidité (**Eliard, 1979 ; Nadjem, 2012**).

#### **3.2. Le tallage**

La production de talle commence à l'issue du développement de la troisième feuille, à 45 jours environ après la date du semis (**Moule, 1971 in Nadjem, 2012**). Les talles secondaires peuvent apparaître et être susceptibles d'émettre des talles tertiaires. Le nombre de talles produites est fonction de la variété, du climat, de l'alimentation minérale et hydrique de la plante, ainsi que de la densité de semis (**Masale, 1980 Nadjem, 2012**).

#### **3.3. La montaison –gonflement**

La montaison débute à la fin de tallage. Elle est caractérisée par l'allongement des entrenœuds et la différenciation des pièces florales. A cette phase, un certain nombre de talle herbacée commence à régresser alors que d'autres se trouvent couronnées par des épis. Pendant cette phase de croissance active, les besoins en élément nutritifs notamment en azote sont accrus. La montaison s'achèvera la fin de l'émission de la dernière feuille et les manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la graine (**Clement Grancourt et Prats, 1971 in Nadjem, 2012**)

#### **3.4. L'épiaison – Floraison**

Elle est marquée par la méiose pollinique, l'éclatement de la gaine avec l'émergence de l'épi. C'est au cours de cette phase que s'achève la formation des organes floraux (l'anthèse) et s'effectue la fécondation. Cette phase est atteinte quand 50% des épis sont à moitié sortis de la gaine de la dernière feuille (**Gate, 1995**). Elle correspond au maximum de la croissance de la plante qui aura élaboré les trois quarts de la matière sèche

totale et dépend étroitement de nutrition minérale et de la transpiration qui influencent le nombre final des grains par épi (Masale, 1980) (Figure 3).

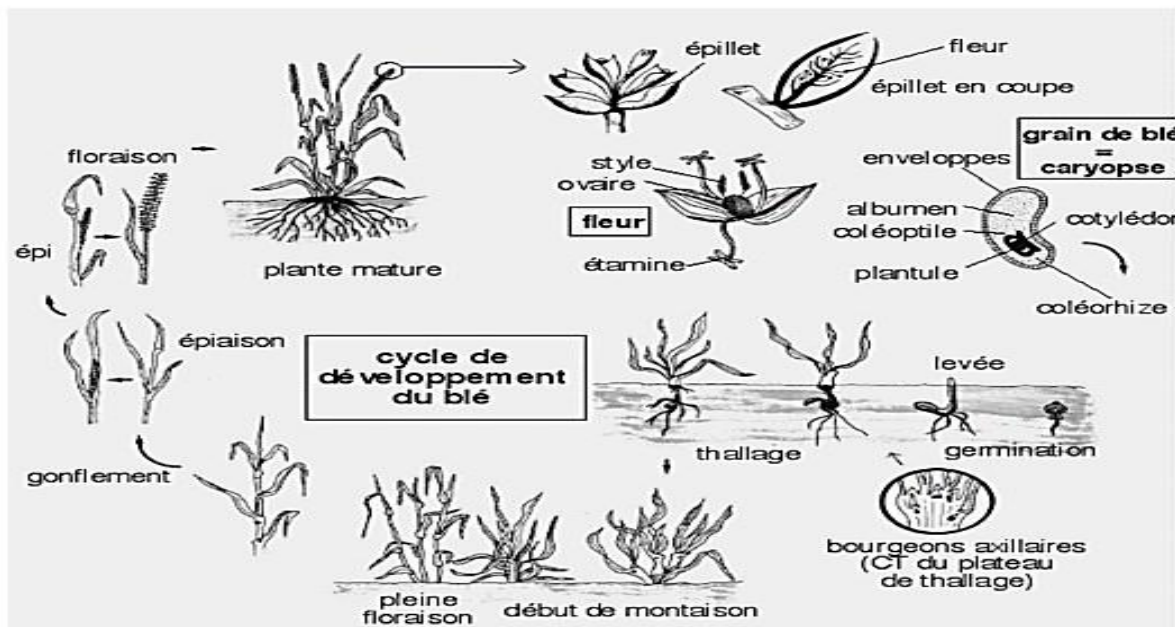


Figure 3: Cycle de développement du blé (Henry, 2000).

## 4. Importance de blé dur (*Tritium durum*)

### 4.1. Dans le monde

Selon, Kantety et al. (2005), le blé dur est cultivé sur 10% des superficies réservées aux céréales (blé dur, tendre, riz et maïs). La culture de cette espèce est surtout localisée dans les pays du pourtour méditerranéen (Algérie, Maroc, Espagne, France, Italie, Grèce, Syrie), le Kazakhstan, Ethiopie, Argentine, le Chili, la Russie, le Mexique, le Canada (Ammar et al. 2006).

La production mondiale de blé dur est de 29.3 millions de tonne moyenne annuelle pour la période 1988/1997 (ADE, 2000). Les plus grands producteurs de blé dur dans le monde sont l'Union Européenne avec une moyenne de production de 7,9 millions de tonnes (1987/1997). Cette production le fait de quatre pays membre : l'Italie, la Grèce, la France et l'Espagne, avec une production moyenne annuelle respectivement égale à : 4,1 ; 1,5 ; 1,4 et 0,9 millions de tonnes. En dehors, de la Communauté Européenne les autres pays gros producteurs sont la Turquie, le Canada, les États-Unis d'Amérique dont la production est respectivement 4,3 ; 4,0 ; et 2,5 millions de tonnes.

## 4.2. En Algérie

En Algérie, la superficie consacrée traditionnellement aux céréales varie de 3 à 3,5 millions hectares. Le blé dur occupe une place privilégiée suite à son utilisation dans alimentation quotidienne de la population sous diverses formes.

Les rendements restent faibles et très variables d'une année à une autre, à image de la production qui varie de 4.9 à 20 millions de quintaux/an pour la même période (Figure 2). La culture des céréales d'hiver demeure encore difficile à maîtriser tant que celle-ci reste confrontée et soumise à plusieurs contraintes (aléas climatiques, faible maîtrise de l'itinéraire technique, etc.). La faiblesse de la production céréalière en Algérie découle en majeure

Partie des faibles potentiels des rendements. Il est donc impératif de faire accroître les rendements à l'hectare, parce qu'il n'est plus possible d'étendre les superficies consacrées aux céréales d'hiver (**Benbelkacem et Kellou, 2001**). D'après Acevedo (1989), les futurs progrès visent l'accroissement du rendement dans les zones défavorables par le biais du développement de cultivars à adaptation spécifique au stress de l'environnement.

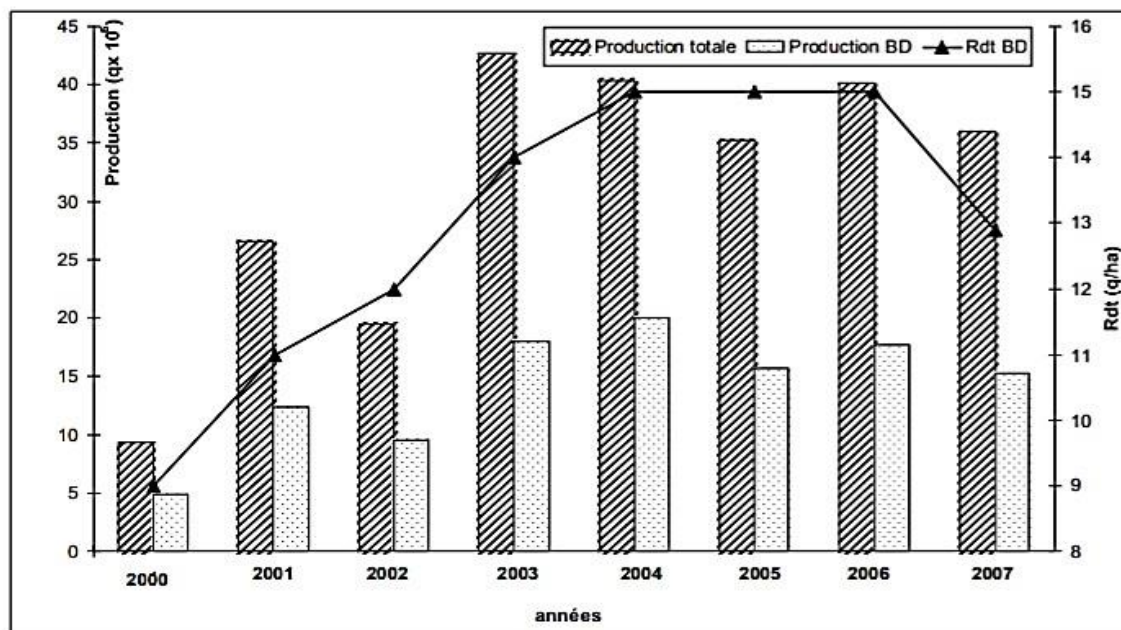


Figure 4 : variation de la production des céréales durant la période 2000-2007 (Laala. 2009).



## **Matériels et méthodes**

## **1. Matériel biologique**

### **1.1 Souches bactériennes**

Dans notre étude, nous avons utilisées des souches CH et S<sub>20</sub> de *Pseudomonas* Spp. *Fluorescents* (Collection du laboratoire de phytopathologie).

### **1.2. Matériel végétal**

Cet essai a été réalisé avec une variété de blé dur *Triticum durum*. Cette dernière c'est une Variété locale utilisé par les agriculteurs locaux.

### **1.3. Substrats**

Les substrats utilisés et de la tourbe désinfecter à une température 120c° pendant 30mint

## **2. Caractérisation des souches bactériennes**

### **2 .1. Caractérisation morphologique :**

#### **2.1.1. Caractérisations macroscopique**

La caractérisation morphologique des souches bactériennes a été effectuée sur milieu de King B après incubation à 28°C pendant 24 heures. Elle consiste à une observation à l'œil nu des caractères cultureux tels que : La forme, la couleur, l'aspect ainsi que l'élévation et les dimensions des colonies. Egalement la recherche d'une diffusion d'un pigment fluorescent dans le milieu a été effectuée après 24 à 96 h d'incubation à 25°C± 2. (Figure 5)

#### **2.1.2. Caractérisation microscopique**

##### **➤ La coloration de Gram:**

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique classique décrite par Hildebrand et al. (1988), qui consiste à :

##### **➤ Préparation du frottis:**

- Nettoyer une lame avec l'alcool.
- prélèvement d'une colonie de bactérie âgée de 24 heures à l'aide d'une anse àensemencé.
- l'étaler sur une lame propre qui contient une goutte d'eau physiologique.

➤ **Fixation:**

-la fixation du frottis a été réalisée par maintenance de la lame dans un air chaud de la flamme de bec Bunsen. (Fixation de l'échantillon à l'aide de la chaleur).

➤ **La coloration:**

On procède donc à la coloration comme suit :

1- Recouvrir le frottis fixé et parfaitement refroidi du violet de Gentiane laisser agir une minute on effectue ensuite un lavage à l'eau distillée stérile.

2- Recouvrir la lame du Lugol pendant une minute pour la fixation.

3- Décolorer à l'alcool pendant (30 secondes). Sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatives » puis rincer à l'eau distillée stérile.

4- Recolorer le frottis avec la fuchsine pendant une minute, rincer à l'eau distillée stérile et laisser le sécher.

5- l'observation se fait au microscope optique avec objectif 1000 avec l'huile à immersion.

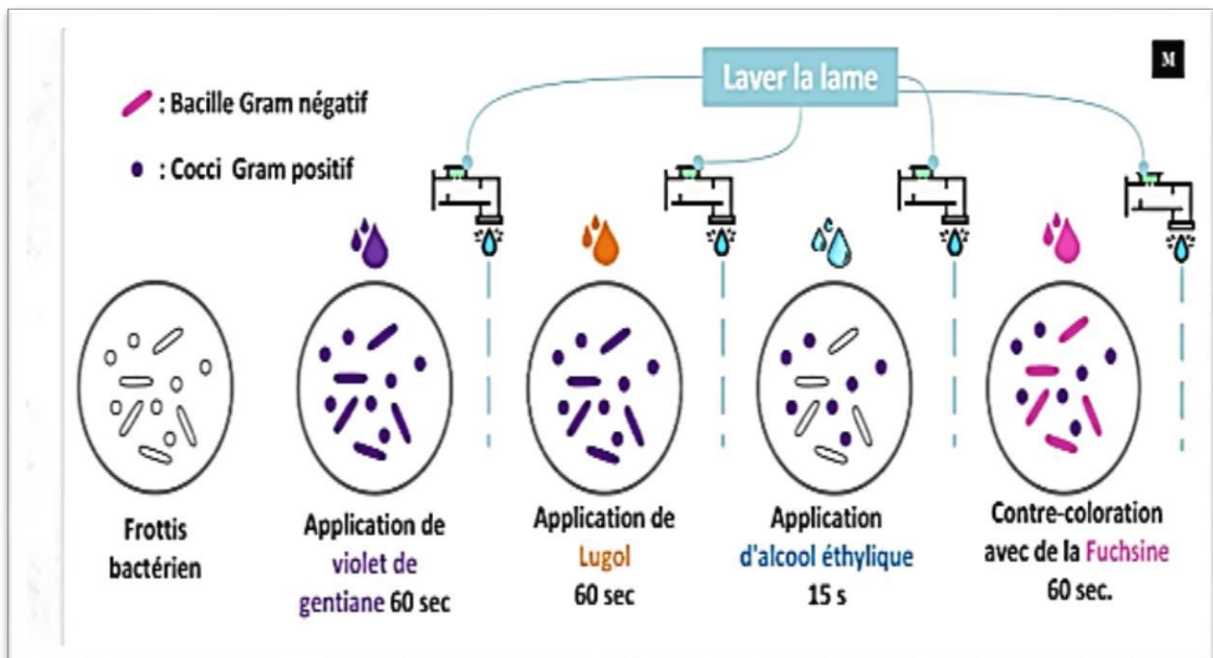


Figure 5: Les étapes de la coloration de Gram

### 2.1.3. Caractérisation biochimique des souches bactériennes

#### 1. Teste catalase :

C'est une enzyme décomposant l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux.



La méthode consiste à mettre quelque goutte d'H<sub>2</sub>O sur une culture. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme.

#### 2. Teste d'oxydase :

Appelé aussi phénylène diamine oxydase est une enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction. Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (-). Placer un disque d'oxydase sur une lame propre et stérile. Déposer à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte de suspension bactérienne pure sur "un disque oxydase", celui-ci contient de l'oxalate de diméthyle paraphénylène diamine. Les bactéries oxydase-positives donnent rapidement une coloration violette foncée ; dans le cas contraire, il n'y a pas de coloration.

#### 3. Les nitrates réductases :

En l'absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne. Ce test consiste à mettre en évidence les nitrites ou la disparition des nitrates initiaux. Elle utilise deux types de réactifs (réactifs de Griess) : l'acide sulfanilique (nitrite 1) et l' $\alpha$ -naphtylamine (nitrite 2) en solution (dans l'acide éthanoïque).



La recherche des nitrates a été à partir de bouillon nitraté. La coloration rouge témoigne la présence des nitrites dans le milieu (NR+). Si le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que le nitrate réductase vis à vis des nitrates. Présence de coloration rouge : on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme. Résultat NR-. Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. Résultat NR+ au stade azote.

#### 4. Production d'urées (métabolisme protéique)

En l'absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne. Ce test consiste à mettre en évidence les nitrites ou la disparition des nitrates initiaux. Elle utilise deux types de réactifs (réactifs de Griess) : l'acide sulfanilique (nitrite 1) et l' $\alpha$ -naphtylamine (nitrite 2) en solution (dans l'acide éthanoïque).



La recherche peut s'effectuer à partir de milieu gélosé nitraté, de bouillon nitraté ou à partir du milieu mannitol mobilité. La coloration rouge témoigne la présence des nitrites dans le milieu (NR+). Si le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que le nitrate réductase vis à vis des nitrates. Présence de coloration rouge : on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme. Résultat NR-. Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. Résultat NR+ au stade azote.

#### 5. Milieu Clark et Lubs :

Ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation du glucose (tests RM et VP). Le bouillon Clark et Lubs est inoculé par une goutte d'une suspension trouble bactérienne. Après 18h à 28°C, on divise le bouillon dans 2 tubes stériles.

##### 5.1. Test RM (rouge de méthyle) :

Ce test permet la mise en évidence, grâce au rouge de méthyle, de la fermentation du glucose en acides mixtes par acidification d'un milieu glucosé.

##### 5.2. Test VP (Voges-Proskauer) :

Ce test permet la mise en évidence de la production d'acétone (ou 3-hydroxybutanone) au cours de la fermentation butylène glycolique : en présence d'une base forte (soude ou potasse) et d' $\alpha$ -naphtol, l'acétone donne une coloration rouge en milieu très oxygéné.

#### 6. Citrate de Simmons :

Ce milieu est un exemple de milieu synthétique. Dans ce milieu le citrate (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub><sup>3-</sup>) est l'unique source de carbone. L'utilisation de ce substrat, pour la plupart des bactéries

pouvant le cataboliser, est une utilisation aérobie, et se traduira par une alcalinisation du milieu. L'équation de l'oxydation par respiration aérobie du citrate est :



Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée. La pente estensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension bactérienne. La lecture se fait après incubation à 28C pendant 24h. Après inoculation un virage de couleur bleu apparie au milieu qui signifie que la bactérie possède les citrates perméases.

### **7. Teste mobilité :**

Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol (caractère biochimique) et la mobilité de la souche (caractère morphologique). L'ensemencement des souches bactériennes a été effectué sur un milieu Mannitol mobilité par pique central à l'aide d'un fil droit. L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune). Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement.

### **8. Tolérance au sel :**

La détermination de la résistance des isolats bactériens à la salinité a été effectué l'ensemencement en strie des souches âgées de 24 heures sur milieu de culture de Chapman. La lecture des résultats portant sur la présence ou l'absence de la croissance bactérienne est réalisée après incubation de 24 à 72 heures à une température de 25°C±2.

### **9. Principe de la production d'H<sub>2</sub>S :**

La mise en évidence de la production d'H<sub>2</sub>S se fait grâce à la présence de thiosulfate de sodium et de citrate ferrique (fer III). En effet, chez une souche dite H<sub>2</sub>S + : Le thiosulfate est réduit en anaérobiose en H<sub>2</sub>S. L'H<sub>2</sub>S ainsi formé se

Combine au citrate de fer présent pour former un précipité de sulfure de fer noir.

**10. Teste ADH (Arginine) :**

Décarboxylation d'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase.

D'après les résultats de notre étude, les souches bactériennes CH et S20 ont montrés un effet significatif sur le taux de germination et la vitesse de germination des graines par rapport au graines non bactériiser témoin T.

Les *Pseudomonas Spp* Fluorescents font l'objet d'une attention particulière l'inoculation des plantes à l'aide de certaines souches de *Pseudomonas Spp* s'accompagne en effet d'une augmentation significative du rendement de la culture. Celle-ci résulte de la stimulation de la croissance des plantes et de leur protection contre des microorganismes pathogènes. Deux types de mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques. L'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère. L'autre, la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante. Les *Pseudomonas Spp* affectent également la croissance des plantes en améliorant leur alimentation minérale et en synthétisant des substances de croissance. Ces bactéries peuvent enfin provoquer une augmentation du niveau de résistance des plantes aux maladies.

Les effets bénéfiques de l'inoculation bactérienne ne se manifestent que si certaines conditions sont réunies. En premier lieu, il est nécessaire de sélectionner des souches efficaces (Lemanceau, 1992).

Les *Pseudomonas* fluorescentes sont des Protéobactéries connues pour leur capacité à coloniser diverses niches écologiques. Cette adaptabilité se reflète dans leurs systèmes d'absorption du fer sophistiqués et diversifiés. La majorité des *Pseudomonas spp* fluorescentes produisent des sidérophores peptidiques complexes appelés pyoverdine ou pseudobactéries, qui sont des piègeurs de fer très efficaces. Une grande variété de pyoverdine a été observée, chaque espèce produisant une pyoverdine différente. Cette variété peut être utilisée comme un outil intéressant pour étudier la diversité (P. Cornelis.2002).

Le sol rhizosphériques est un habitat particulièrement favorable à la croissance comparé au sol sans racines. La survie des souches de *Pseudomonas* peut varier en fonction de la proximité des racines (de Weert et al. 2002). Selon Miller et al. (1990) le groupe de *Pseudomonas* fluorescents isolées à partir du rhizoplan de l'orge et du blé peut représenter respectivement 58,9% et 23% de la population bactérienne totale dans la rhizosphère. Le milieu S1 utilisé pour leur isolement est très sélectif. La présence de Sodium lauryl Sarcosique (SLS) permet seulement la croissance des bactéries à Gram négatif. En outre, l'amendement du milieu en triméthoprime empêche la croissance des espèces non fluorescentes de *Pseudomonas*. Du fait de sa composition spéciale, ce milieu permet la récupération de 82,5% des phénotypes

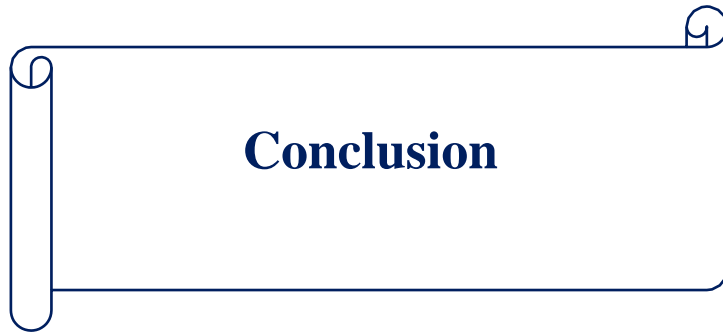
fluorescents à partir du sol (Gould et al. 1985). Les tests clefs d'identification ont permis la détection d'une souche de *P. fluorescens* (Ps6), et deux autres de *P. putida* (Ps1 et Ps3) tandis que les restes appartiennent à l'espèce de *P. aeruginosa*. Au fait, les plantes exercent naturellement une pression sélective qui tend généralement à réduire la diversité microbienne. La qualité et la quantité des éléments nutritifs déversés dans la rhizosphère peuvent favoriser la croissance et la multiplication des espèces ou des souches particulières (Bertrand et al. 2000). Aussi, la colonisation du rhizoplan est soumise à des contraintes supplémentaires liées à la capacité des bactéries à adhérer aux surfaces racinaires. 72 De plus, les habitats salés sont caractérisés par une faible diversité microbienne. Ils sont souvent influencés par de nombreux facteurs interagissant susceptibles de réduire la croissance et la capacité de survie des organismes. La diversité des microorganismes vivants dans ces biotopes dépend de la salinité, de la solubilité de l'oxygène, de la température, du pH, du potentiel hydrique et la disponibilité des éléments nutritifs. Les souches doivent donc posséder les caractéristiques requises pour s'adapter aux diverses contraintes de l'environnement (Cacciari et al. 2003). Aux facteurs abiotiques, il faut encore ajouter les facteurs biotiques négatifs comme la compétition et la prédation, etc. Dans de tels habitats, la capacité de survie d'une souche bactérienne revient de sa capacité à croître à un taux suffisant pour compenser la mort causée par les facteurs précédemment recensés. Les espèces de *Pseudomonas* fluorescents sont dominantes dans les régions à faible concentration de sel. Néanmoins, *P. aeruginosa*, *fluorescens* et *stutzeri* peuvent être rencontrées dans les régions salées à côté des espèces non fluorescentes (*P. alcaligenes* et *P. pseudoalcaligenes*) (Rangarajan et al. 2001).

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en évidence la production d'AIA par les souches bactériennes ainsi leur capacité à solubiliser le phosphore inorganique. L'acide indole acétique 'AIA', présente un intérêt potentiel pour l'amélioration des rendements agricoles par stimulation de la croissance de la plante par stimulation la germination des semences, augmentant le développement des racines et le contrôle des processus de croissance végétative (Loper et Schroth, 1986). Par contre d'autre recherche scientifique avance que les PGPR augmentent le pourcentage et la vitesse de germination et l'indice de vigueur des graines (Nehra et al, 2016). Les isolats obtenus de la rhizosphère des espèces de l'*Acacia* appliqués sur les graines de (*Triticum aestivum* L.) Peut accélérer la vitesse de germination et la vigueur de la plante (Prasad et al. 2017).

L'application d'isolats de PGPR améliore considérablement le pourcentage de germination des graines dans des conditions de culture difficile (Hossain et al. 2016).

Lors de la solubilisation du phosphate en milieu liquide, les bactéries à Gram négatif acidifient l'espace périplasmique par une oxydation directe du glucose. Ceci conduit à la libération de différents acides organiques tels les acides lactique, gluconique, isobutyrique, acétique, glycolique, oxalique, malonique et succinique. L'acide gluconique est fréquent chez les espèces de *P. aeruginosa*, *cepacia* et *fluorescens*. Malgré qu'aucune solubilisation n'ait été observée chez la souche Ps2 sur milieu solide, celle-ci solubilise efficacement le phosphate en milieu liquide (96,42µg/ml). Au fait les acides organiques sécrétés, afin de solubiliser le phosphate, circulent difficilement en milieu solide. Alors que ce n'est pas le cas en milieu liquide (Nautiyal, 1999).

-



**Conclusion**

Les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. Fluorescent étudiées ont montré une stabilité dans les caractéristiques culturales et biochimiques. Sur le milieu de culture King B, les deux souches testées S20 et CH sont dotées d'une bonne fluorescence. L'intensité de cette fluorescence est plus importante chez la souche S20 par rapport à la souche CH après 24h d'incubation.

En ce qui concerne la production de l'AIA, les deux souches bactériennes ont montré une capacité à produire cette phytohormone de croissance. La souche S20 a montré un niveau de production plus élevé que les souches CH. Egalement, les deux souches bactériennes sont capables de solubiliser le phosphore inorganique sur milieu PVK. La souche S20 est dotée d'une capacité meilleure à solubiliser le phosphore inorganique par rapport à la souche CH.

La bactérisation des graines et des substrats a montré des effets très remarquables des souches bactériennes étudiées sur la stimulation de la germination et la biostimulation des plants de *Triticum durum*. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les graines bactérisées par les souches bactériennes ont montré des taux de germination et des valeurs d'index vigor nettement supérieures par rapport aux graines témoins (non inoculées). Au stade plantule, l'application des souches bactériennes a eu un effet positif uniquement sur le poids frais et le poids sec des racines du blé. Cette phytostimulation au stade germination et au stade plantule a été fortement observée dans le cas de la souche S20.

D'après les résultats de notre expérimentation, nous pouvons supposer que la souche S20 et la souche CH de *Pseudomonas fluorescens* peuvent assurer l'amélioration de la croissance végétales et donc peuvent être utilisés comme biofertilisants. Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles (Yang et al. 2009).

Selon les résultats obtenus, il est intéressant de poursuivre les essais dans conditions expérimentales plus contrôlées. Egalement, il serait nécessaire d'étudier la capacité rhizosphérique et d'adhérence racinaire des souches bactériennes afin d'assurer une meilleure biostimulation de la croissance végétale.



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

- Peptone .....20g
- Nitrate de Potassium.....1g
- Mannito .....12g
- Rouge de Phéno.....140g
- Gélose.....4g
- Eaud distillé q.s.q .....1000Mml

Ajuster à un PH= 8,1. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

### 2-Bouillon nitraté(BN) (Garden et Luisitti, 1981)

- Peptone .....10g
- Extrait de viande.....5g
- Chlorure de sodium .....5g

Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

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

- Sulfate de magnésium (Mgso4).....0,2g
- Ammonium dihydrogenophosphate .....1g
- Phosphate dipotassique.....1g
- Citrate de Sodium .....2g
- Clorure de Sodium (Nacl) .....5g
- Bleu de bromothymo .....10,08g
- Agar .....20g
- Eau distillée q.s.q .....1000ml

Ajuster à un PH= 6,6. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

### 4-Milieu Mevag (Marchal et bourdon, 1981)

- Tryptone .....3g
- Dipotassium phosphate.....0,3g
- Potassium chlori .....5g
- Eau distillée q.s.q.....1000ml

Ajuster à un PH= 7,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

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

- Peptone tryptique ou polypeptone.....5à7g
- Glucose .....5g
- Phosphate bipotassique (K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) .....5g
- L'eau distillé q.s.q .....1000ml

Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

**6-Milieu Chapman**

- Extrait de viande.....1g
- Nac .....175g
- Peptone .....20g
- Mannito .....110g
- Gélose.....20g
- Rouge de pheno .....10.25g
- Eau distillée q .s.p .....1000ml

**7- Milieu TSI (Garden et Luisetti, 1981)**

- Peptone .....20g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure .....3g
- Chlorure de Sodium.....5g
- Citrate ferrique..... 0.3g
- Thio sulfate de Sodium .....0.3g
- Lactose.....10g
- Saccharose .....10g
- Glucose .....1g
- Rouge de Phéno .....1 0.5g
- Agar agar .....2g.

Ajuster à un pH =7.4

**8-Milieu Mineral Salt Medium (MS) (Edi, 2006)**

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....2.13 g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....1.36g
- NH<sub>4</sub>Cl .....1.0 g
- MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O .....0.2 g
- Eau distillée .....1000ml

Ajuster à un PH= 7.

**9-Milieu Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948)**

- Glucose .....10g
- Extrait de levure .....0.5g
- Phosphate Calcium ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) .....5g
- Sulphate Ammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  .....0.5g
- Potassium Chloride (KCl) .....0.2g
- Sulphate Magnesium ( $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ ) .....0.1g
- Sulphate Manganese ( $\text{MnSO}_4$ ).....0.002g
- Sulphate Ferrous ( $\text{FeSO}_4$ ) .....0.002g
- Agar-Agar.....20g
- H<sub>2</sub>O .....1000ml

**10-Milieu de King « KB » (King et al. 1954)**

- Peptone.....20g
- Glycérol.....15g
- K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>.....1,5g
- Mg SO<sub>4</sub>.....1,5g
- Agar agar.....20 g
- Eau distillée q.s.q.....1000ml

Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

**11-Potatos Dextrose Agar PDA (Jonsthor et booth, 1954)**

- Pomme de terre.....200g
- Dextrose.....20g
- Agar agar .....20g
- Eau distillée q.s.q .....1000ml

Ajuster à un PH= 6,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn



**Référence bibliographique**

- Ammar, K., Lage, J., Villegas, D., Crossa, J., Hernandez, E., Alvarado, G., (2006).** Association Anzai, Y., Kim, H., Park, J-Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1563–1589.
- Avril, J. M., Dabernat, H., et Monteil, D. H. (2000).** Bactériologie clinique. 3<sup>ème</sup> Ed. EdEllepses. Paris. 602 P.
- ADE, (2000).** Le marché mondial du blé dur et la place de l'Union Européenne. Rapport D'évaluation de la politique Communautaire du blé dur, 30.p.
- Acevedo, E. (1989).** Improvement of winter wheat crops in Mediterranean environments Use of yield, morphological traits. Dans: *Physiology Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments. Les Colloques de l'INRA*, 55 : 273-305.
- Antoun, H., and Prévost, D., (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR : Biocontrol and Biofertilization*. p 1–38
- Ahmad, M. S., El-Gendy, A. O., Ahmed, R. R., Hassan, H. M., El-Kabbany, H. M.&Merdash, A. G. (2017).** Exploring the Antimicrobial and Antitumor Potentials of *Streptomyces* sp. AGM12-1 Isolated from Egyptian Soil. *Frontiers in Microbiology*, 8.
- Ashrafuzzaman, M., Hossen, F., Ismail, M., Hoque, M., Islam, M., Shahidullah, S., et Meon, S., (2009).** Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice Growth. *Afri. J. Biotechnol.*, N°8 P 1247-1252.
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181
- Abcassis J., 1993.** Nouvelles possibilités d'apprécier la valeur meunière et la valeur semoulière des blés. *Ind .Céréales* N°, pp32.
- Basavaraju, O., A.R.M. Rao et T.H. Shankarappa (2002).** Effect of *Azotobacter* inoculation and nitrogen levels on growth and yield of radish (*Raphanus sativus* L.). In : *Proceedings of Microbial Technology for Sustainable Development and Productivity*, (Ed., Rajak D.C.), Jabalpur, *Biotechnology of Microbes and Sustainable Utilization*, pp. 155-16
- Bazot, S. 2005.** Contribution à l'étude de l'allocation des photoassimilats récents dans la plante et la rhizosphère chez une graminée pérenne (*Lolium perenne* L.). Thèse de doctorat en science, Institut National Polytechnique de Lorraine. 201 p.
- Benbelkacem, A., Kellou, K.,(2001).** Évaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) cultivées en Algérie. *Options méditerranéennes*. 6: 105-10.

**Benbelkacem, A., Kellou, K.,(2001).** Évaluation du progrès génétique chez quelques variétés de blé dur (*Triticum turgidum* L. var. durum) cultivées en Algérie. Options méditerranéennes. 6: 105-10.

**Bertrand, H., C. Plassard, X. Pinochet, B. Touraine, P. Normand, et J.C. Cleyet-Marel. 2000.** Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growthpromoting rhizobium (*Achromobacter* sp.). *Can. J. Microbiol.*, 46: 229- 36

**Cook, R., Bruckart, W., Coulson, J., Goettel, M., Lumsden, R., Maddox, J., McManus, M., Moore, L., Meyer, S., Quimby, P., Stack, J ET Vaughn, J. (1996).** Sécurité des micro-organismes destinés à la lutte antiparasitaire et de lutte contre les maladies des plantes : un cadre pour l'évaluation scientifique. *Biol. Contrôle.* 14-24p.

**Clement G., Prats., (1971).** Les céréales. *Ed.J.B. Bailliers et Fils*, 360p

**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 en Sciences.Université de Ferhat Abbas, Sétif, Algérie. 162.

**Cacciari, I., E. Dimattia, P. Quatrini, M.C. Moscatelli, S. Grego, D. Lippi, et M.R. De paolis. 2003.** Réponses adaptatives des isolats de *Rhizobium* aux stress, p. 231-248. In M. Grouzis, E. Le Floch, (ed.), *Un arbre ou désert, Acacia raddiana*. IRD Éditions. Paris.

**Defago, G., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., & Wüthrich, B. (1990).** Suppression of black root root tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. *Biological control of soil-borne plant pathogens*, 93-108

**Ezawa, T., SE. Smith et FA. Smith (2002).** P metabolism and transport in AM fungi. *Plant Soil*, 244: 221–230.

**Franzetti L and Scarpellini M (2007).** **Characterisation** of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology.* 57(1): 39-47. *Immunol*, 322: 249- 289 *Interface.*

**Garrity, G.M. (2005).** The Proteobacteria - Part B: The Gammaproteobacteria. In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'. (Springer: New York).

**Gupta G, Singh Parihar S, Kumar Ahirwar N, Kumar Snehi S. et Singh V. (2015).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J Microb Biochem Technol.* Volume 7(2), 96-102.

**Gould, W. D., C. Hagedorn., R. Bardinellit, et R.M. Zablutowicz. 1985.** New selective media for enumeration and recovery of fluorescent *Pseudomonads* from various habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 28-32

- Hassen A. I., Labuschagne N. (2010).** Root colonization and growth enhancement in wheat and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1837–1846.
- Haas, D; Défago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Natra. Rev. Microb.* N°3 P 307–319.
- Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Radhakrishnan, R., & Kumar, A.(2017).** Plant defense approach of *Bacillus subtilis* (BERA 71) against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in mungbean *Lycopersiconpimpinellifolium*,12(1), 390-401.
- Hameeda, B., G. Harini, OP. Rupela, SP. Wani et G. Reddy (2008).** Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol. Res.* 163:234–242
- Heydari, S., Rezvani-Moghadam, P., & Arab, M. (2015).** Hydrogen cyanide production ability by *Pseudomonas fluorescens* bacteria and their inhibition potential on weed germination. *Competition for Resources in a changing world: New drive for rural development, Tropentag, Hohenheim.* <http://www.tropentag.de/2008/abstracts/full/676.pdf>. Accessed, 26
- Henry Y. J., Buysen., (2000).** L'origine du blé. *Pour la Science* 26 :60-62. Feillet, P., 2000. Le grain de blé. Composition et utilisation. Éd. INRA. 308 p Cretois, 1985. Valeur technologique de quelques variétés de blé. *Bull. Industries des cereals.* 20, 26-32.
- Hossain, M. M., Das, K. C., Yesmin, S., & Shahriar, S., (2016).** Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in seed germination and root-shoot development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under different salinity condition. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 3(1), 105-113.
- Jennifer, A., Anderson,G., Jamie, S., Mary, C et Jamie, H., 2018 .** Safety of *Pseudomonas chlororaphis* as a gene source for genetically modified crops .N° 27. P 103–113.
- Kloepper ,J.W, Hume , D.J,Scher ,F.M,Singleton ,C, Tipping ,B,laliberte ,M,Frauley,K, Kutchaw,T, Simonson ,C,Lifshitz,R, et al.1988.** Plant growth –promoting rhizobacteria on canola (rapeseed). *Plant Dis* 72.42. 46
- Kantety, R.V., Diab, A., Sorrells, M.E., (2005).** Contribution à la mise en place d'une approche intégrée de lutte contre la sécheresse chez le blé dur au Maroc In: Conxita
- Karima, B., Boudemagh S and Boulahrouf A. (2014).** Antifungal activity Of actinomycetes isolated from several algerian ecosystems against *Pinus halepensis* wood decay fungi. *Sciences et Technologie* 42, pp.44-52.

- Kekuda, T.R .P., Dileep N., Syed Junaid., Rakesh K.N., Sunita C. Mesta, S. C., Onkarappa, R. (2013).** Biological activities of *Streptomyces* species SRDP-07 isolated from soil of Thirthahalli, Karnataka, India.
- Kucey, R.M.N., H.H. Janzen et M.E. Legget (1989).** Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.* 42:199–228
- Kumar, V. et N. Narula (1999).** Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, 28(3):301-305
- Kim, KY., D. Jordan, GA. McDonald (1998).** *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilising bacteria, and microbial activity in soil: effect of carbon sources. *Soil Biol. Biochem.* 30:995–1003
- Kirdi, B., Zermane, N., (2010).** Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites : *Orobanche crenata* Forsk. Et *Cuscuta campestris* Yuncker / “Role of PGPR in Plant Prowth Promotion and control of the parasitic weeds: *Orobanche crenata* Forsk. and *Cuscuta campestris* Yuncker”.
- Krewulak, K., and Vogel, H., (2008).** Structural biology of bacterial iron uptake *Biochim. Biophys. Acta* N° 1778 P 1781–1804.
- Kamei, A., Dolai, A. K., & Kamei, A. (2014).** Role of hydrogen cyanide secondary metabolite of plant growth promoting rhizobacteria as biopesticides of weeds. *Global J Sci Front Res*, 14(6), 109-12
- Kremer, R. J., & Souissi, T. (2001).** Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Current microbiology*, 43(3), 182-186
- Lugtenberg, B., et F. Kamilova. 2009.** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-56
- Lemanceau, P., 1992.** Beneficial effects of rhizobacteria on plants: exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12: 413-437.V
- Loper, J.E., Schroth, M.N. (1986)** Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology* 76 : 386–389
- Moule C., (1971).** Céréales II. Phytotechnique spéciale. *Ed. La maison rustique*, Paris, 236 p
- Masale M.J., (1980).** L’élaboration du nombre d’épi chez le blé d’hiver. Influences de différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l’utilisation de l’azote et de la lumière. *Thèse.Doc. Ing. INA, Paris Grignon*, 274 p

**Martin, C. (2007).** Bacilles à Gram négatif non fermentaires. In : Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E. et Quentin R. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed Elsevier Masson. Paris. P : 330-343.

**Matrivu, V., DAKORA, F., (2004).** Potentiel use of Rhizobial Bacteria as Promoters of Plant Growth for increased yeild in land races of african cereal crops. African.J.Biotechnol. N°3 P 1-7.

**Miller, H.J., E. Liljeroth, G. Henken, et J.A. Van Veen. 1990.** Fluctuations in the fluorescent pseudomonad and actinomycet populations of rhizosphere during the growth spring wheat. Can. J. Microbiol. 36 : 254- 258

**Nehra, V., Saharan, B. S., & Choudhary, M., (2016).** Evaluation of *Brevibacillus brevis* as a potential plant growth promoting rhizobacteria for cotton (*Gossypium hirsutum*) crop. Springerplus, 5(1), 948.

**Nadjem. K., (2012).** Contribution a l'étude des effets du semis direct sur L'efficience d'utilisation de l'eau et le comportement variétal de la culture de blé en région semi-aride. Thèse Magister Université Ferhat Abbas Sétif, p : 31

**Neilands, J., (1995).** Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem. N° 270 P 26723–26726

**Nautiyal, C.S. 1999.** An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilization microorganisms. FEMS Microbiol. Lett. 170: 265-270

**Pyoverdines .P Cornelis , S Matthijs - Microbiologie environnementale, 2002 - Wiley Online Library.**

**Palleroni, N.J.(1984)** .Genus I. *Pseudomonas* Migula 237 AL (n. m. cons. opin. 5

**Picard, C., Di Cello, F., Ventura, M., Fani, R. and Guckert, A., (2000).** Frequency and biodiversity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. Appl. Environ. Microbiol. 66: 948–955 • Pittet D, Wenzel R.P. (1995). Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates.

**Rodriguez, MN., RD. Villalonga, RAJ. Castillo, AJL. Marques, LR. Gonzalez, SP. Llanes et FM. Peguero (2001).** Influence of application of a biofertilizer based on *Azospirillum* on germination of seed and production of vegetable crops. Centro Agricola 28 :38–41

**Ryu, R., et Patten, C., (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. Am. Soc. Microbiol. N° 19 P 1-35.

**Ruel T., (2006),** Document sur la culture du blé, édition Educagri

**Stutz, E. W., Défago, G., & Kern, H. (1986).** Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco. *Phytopathology*, 76(2), 181-185

**Son, TTN., CN. Diep et TTM. Giang (2006).** Effect of bradyrhizobia and phosphate solubilizing Bacteria application on Soybean inrotational system in the Mekong delta. *Omonrice* 14:48–57.

**Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar et R. Sharma (2007).** Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of Cicer arietinum seed sand seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 1: 61-63.

**Sundara, B., V. Natarajan et K. Hari (2002).** Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane yields. *Field Crops Res.* 77:43–49.

**Singh, I. 2018.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions. *European Journal of Biological Research*, 8, 191-213.

**Stallwood B., Shears J., Williams P.A., Hughes K.A. (2005).** Lowtemperaturebioremediation of oil-contaminate dsoilusingbiostimulation and bioaugmentation with a Pseudomonas sp. from maritime Antarctica. *J ApplMicrobiol*99: 794-802.

**Syed Shameer, T. N. V. K. V Prasad. (2017).** Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses.

**Song, L., Ni Jiang, Shugen Wei, Zuzai Lan and Limei Pan**To cite this article : **Lisha Song, Ni Jiang, Shugen Wei, Zuzai Lan & Limei Pan (2020).** Isolation, Screening, and identification of Actinomycetes with Antifungal and Enzyme Activity Assay against Colletotrichum dematium of Sarcandra glabra, *Mycobiology*, 48 :1, 37-43 DOI : 10.1080/12298093.2020.1716604.

**Sawada H., Kanaya S., Tsuda M., Suzuki F., Azegami K., Saitou N. (2002).** A phylogenomic study of the OCTase genes in Pseudomonas syringae pathovars : the horizontal transfer of the argK-tox cluster and the evolutionary history of OCTase genes on their genomes. *J MolEvol* 54: 437-457.

**Talon D., Thouverez M., Bertrand X. (2006).** Role des Pseudomonas et apparentés dans les infections nosocomiales. XVIIe Congrès national de la SFHH. 22-24.

**Tripathy S, Kumar N, Mohanty S, Samanta M, Mandal RN and Maiti NK.(2006).** Characterisation of Pseudomonas aeruginosa isolated. From freshwater culture systems. *Microbiol. Res.* 162:391-396.

- Van Loon, LC., PA. Bakker et CM. Pieterse (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36 :453–483
- Voisard, C., Keel, C., Haas, D., & Dèfago, G. (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *The EMBO Journal*, 8(2), 351-358
- Williams and Wilkins, Baltimore. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G.** (eds., 1986). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed., vol. 2 .
- Wang, C., (2012).** Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth promoting rhizobacterium strains. *PLoS One* N°7(12).
- Whitelaw, MA. (2000)** Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69:99–151.
- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., & Thomashow, L. S. (2002).** Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348
- Weert, S., Vermeiren , M., Mulders, I ., Kuiper, N., Hendrickx, G., Bloemberg, J., Vanderleyden, R et Lugtenberg, B. , 2002.** Flagella- driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 15: 1173- 1180.
- Yves,H et Buyer.J., (2000),** l'origine des blés. Pour les sciences hors-série n° 26,60 - 62pp
- Yang, J., Kloepper, J et Ryu, M ., 2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* N°14. P 1–4.
- Zaidi, SFA. (2003)** Biocontrol of *Fusarium oxysporium* by plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) in soybean. *Ann. Agr. Res.* 24 :676–678
- <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1373871>
- <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria>