

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : *Ecologie Microbienne*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude des microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes

Présenté par : LEHAS Sara

Le 08/06/2024

BOUMEZBEUR Roumaissa

BOUROUH Malak

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme. BENKAHOUL Malika (MCA - UFM, Constantine 1).

Encadreur : Mme. RIAH Nassira (MCA - UFM, Constantine 1).

Examinatrice : Mme. BOUZRAIB Latifa (MAA - UFM, Constantine 1).

Année universitaire
2023 – 2024

Remerciements

Avant tout, je remercie Allah Tout-Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la patience pour accomplir ce travail.

Nous exprimons notre sincère appréciation et gratitude à notre encadrante, Madame "Riah Nassira". C'était un honneur pour nous de travailler sous votre direction. Nous vous remercions pour tous vos efforts et votre aide qui nous ont permis de compléter ce mémoire

Un grand merci aux membres du jury : Mme Benkahoul Malika maitre et Mme Bouzraïb Latifa d'avoir acceptées d'examiner, de juger notre travail.

Nous tenons également à remercier Mme "Zerrougui Leila", ingénieure de laboratoire de microbiologie environnementale.

Dédicace

A l'aide de Allah le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite. Que dieu te procure une bonne santé et une longue vie mon très cher Papa "**Salah Lehas**".*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, à ma très chère maman "**Khellaf Hadria**" qui j'adore.*

*A mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, à ma chère sœur "**Kaouther**" et son mari "**Bouhadad Ali**" et son bébé.*

A l'ensemble de ma promotion 2024.

SARA

Dédicace

Louange à Dieu, par sa grâce les bonnes actions sont accomplies et par sa faveur les objectifs sont atteints.

A ceux qui, après dieu, ont été la raison pour laquelle j'ai atteint ce jour, je dédie le fruit de mes efforts et de mon succès: "Ma chère mère" toi qui as le paradis sous tes pieds, toi qui as défini pour moi le sens de l'amour et de la tendresse par tes sacrifices, toi qui as été mon soutien à chaque moment de faiblesse, merci pour tout ce que tu m'as donné. Je prie Dieu de te garder pour moi comme une source de générosité.

"Mon cher père" toi qui as embelli mon nom avec les plus beaux titres, toi qui as inculqué en moi les valeurs de patience, de travail et de persévérance, toi qui as été mon modèle à chaque pas que j'ai fait, je te remercie du fond du cœur pour ton soutien inconditionnel et ta foi en moi.

*A mes adorables frères "**Oussama et Abde Allah**"*

Merci pour ta présence constante à mes côtés.

*A mes chères sœurs "**Amel, Nourhan et Asma**"*

Votre soutien a toujours été la lumière qui a éclairé mon chemin.

Roumaissa

Dédicace

Je voudrais commencer par remercier Dieu tout puissant, qui par sa grâce et sa générosité m'a donné la force, la patience et la volonté pour accomplir cette réalisation.

*Ma chère mère "**Mehenni Fouzia**":*

A toi qui étais le battement de mon cœur et mon œil vigilant, merci pour ton amour inégalé et pour chaque moment de soutien et d'encouragement.

Maman, tu es ma première source d'inspiration et la raison de mon succès.

*Mon cher père "**Mouhamed Bourouh**":*

A toi, papa, l'homme qui m'a appris la signification de l'effort et de la persévérance.

*Mon cher frère "**Mouatez Billah**":*

A mon cher frère, qui a été mon pilier et ma force.

*Ma chère sœur "**Miada**"*

A ma chère sœur, qui a toujours été une source de joie et de soutien pour moi.

*"Mes chers amis "**Filali Nour, Roumaissa et Sara**":*

A mes amis, qui ont toujours été une source d'encouragement et de soutien, merci pour chaque moment passé ensemble.

Malak

Résumé

Les microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes comprennent notamment les bactéries du genre *Rhizobium*, qui fixent l'azote atmosphérique, favorisant ainsi la nutrition des plantes en azote. Les mycorhizes sont des champignons symbiotiques, établissent une relation mutuellement bénéfique avec les racines des plantes, améliorant l'absorption des nutriments. Les PGPR du genre *Pseudomonas*, par exemple, peuvent protéger les plantes contre les pathogènes en produisant des antibiotiques naturels.

Dans cette étude, nous avons isolé et purifié des bactéries à partir des nodules racinaires de la fève (*Vicia faba*) cultivée en plein champ dans deux régions différentes, Mila et Constantine. Une observation microscopique des isolats a été effectuée. Les racines endomycorhiziennes du poireau ont été examinées par observation microscopique après coloration au bleu de méthylène. Un troisième test a été effectué, impliquant une souche bactérienne PGPR du genre *Bacillus* dans la solubilisation du phosphate, en utilisant le phytate comme seule source de phosphate.

La caractérisation morphologique et culturale des isolats des nodosités racinaires de *Vicia faba* a confirmé leur classification en tant que bactéries présentant les caractéristiques du genre *Rhizobium*. Cependant, une confirmation définitive ne peut être obtenue que par des tests génétiques. L'observation microscopique des racines endomycorhizées du poireau, a montré la présence d'arbuscules, de vésicules et de mycélium, suggérant une association symbiotique entre le poireau et des champignons endomycorhiziens. Nous avons observé que la bactérie PGPR du genre *Bacillus* est capable de libérer le phosphate contenu dans le phytate.

L'activité microbienne du sol est essentielle pour la santé et la productivité des plantes.

Mots clés : PGPR, rhizosphère, mycorhizes, fixation d'azote atmosphérique, nodules racinaires.

Abstract

Beneficial microorganisms for plant growth include Rhizobium bacteria, which fix atmospheric nitrogen, enhancing plant nitrogen nutrition. Mycorrhizae are symbiotic mutually beneficial relationships with plant roots, improving nutrient absorption. PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) like Pseudomonas can protect plants from pathogens by producing natural antibiotics.

In this study, we isolated and purified bacteria from the root nodules of field-grown fava bean (*Vicia faba*) in two different regions, Mila and Constantine. Microscopic observation of the isolates was conducted. Leek endomycorrhizal roots were examined through microscopy after staining with methylene blue. Bacillus genus PGPR strain in phosphate source.

Morphological and cultural characterization of *Vicia faba* root nodule isolates confirmed their classification as bacteria with Rhizobium-like characteristics. However, definitive confirmation requires genetic tests. Microscopic observation of leek endomycorrhizal roots showed the presence of arbuscules, vesicles, and mycelium, suggesting a symbiotic association between leek and endomycorrhizal fungi. We observed that Bacillus genus PGPR bacteria can release phosphate from phytate.

Soil microbial activity is essential for plant health and productivity.

Keywords: PGPR, Rhizosphere, Mycorrhizae, Fixation of atmospheric nitrogen, Root nodules.

ملخص

تشمل الكائنات الحية الدقيقة المفيدة لنمو النبات البكتيريا من جنس الريزوبيوم، التي تعمل على تثبيت النيتروجين في الغلاف الجوي، وبالتالي تعزيز تغذية النباتات بالنيتروجين. الميكوريزا هي فطريات تكافلية، تقيم علاقة منفعة متبادلة مع جذور النباتات، وتحسن امتصاص العناصر الغذائية

على سبيل المثال، يمكن لـ PGPRs من جنس الزائفة حماية النباتات من مسببات الأمراض عن طريق إنتاج مضادات حيوية طبيعية

في هذه الدراسة، قمنا بعزل وتنقية البكتيريا من العقيدات الجذرية الفول (*Vicia faba*) المزروعة في الحقل في منطقتين مختلفتين، ميله وقسنطينة. تم إجراء المراقبة المجهرية للعزلات. تم فحص جذور الكراث الفطري الداخلي عن طريق الملاحظة المجهرية بعد تلطيخها باللون الأزرق الميثيلين. تم إجراء اختبار ثالث، يتضمن سلالة بكتيرية PGPR من جنس *Bacillus* في إذابة الفوسفات، باستخدام الفيتات كمصدر وحيد للفوسفات

أكد التوصيف المورفولوجي والثقافي لعزلات عقيدات جذر *Vicia faba* تصنيفها كبكتيريا تظهر خصائص جنس الريزوبيوم. ومع ذلك، لا يمكن الحصول على تأكيد نهائي إلا من خلال الاختبارات الجينية. أظهرت المراقبة المجهرية لجذور الفطريات الداخلية في الكراث وجود شظايا وحوصلات وأطورة، مما يشير إلى وجود علاقة تكافلية بين فطريات الكراث والفطريات الداخلية. لاحظنا أن بكتيريا PGPR من جنس *Bacillus* قادرة على إطلاق الفوسفات الموجود في الفيتات. النشاط الميكروبي للتربة ضروري لصحة النبات وإنتاجيته.

الكلمات المفتاحية: PGPR، الجذور، الجذور الفطرية، تثبيت النيتروجين الجوي، العقيدات الجذرية.

Liste des figures

Figure 1 : Schéma des agents participants au cycle de l'azote.	7
Figure 2 : Bases moléculaires de l'interaction <i>Rhizobium</i> -légumineuse. Le zoom montre un cordon d'infection passant le cortex racinaire vers un groupe de cellules en division, qui deviendra le primordium nodulaire.	11
Figure 3 : Développement des nodules racinaires dans la symbiose <i>Rhizobium</i> -légumineuse.	12
Figure 4 : Principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes.	14
Figure 5 : les différentes structures des champignons mycorhiziens à arbuscules.	15
Figure 6 : Différents étapes de colonisation des CMA.	17
Figure 7 : Modes d'action des PGPR.	23
Figure 8 : solubilisation du phosphore utilisé par le PGPR.	24
Figure 9 : Localisation géographique de la zone de prélèvement.	28
Figure 10 : Racines nodulées de <i>Vicia faba</i>	28
Figure 11 : Conservation des nodules sous CaCl ₂	29
Figure 12 : Ensemencement par la technique des cadrans	30
Figure 13 : Racines du Poireau	32
Figure 14 : Les racines dans la potasse après chauffage.	32
Figure 15 : Racines colorées au bleu de méthylène	33
Figure 16 : Colonie issue d'un isolement sur milieu YMA+RC	34
Figure 17 : Croissance des bactéries sur milieu YMA+BTB	34
Figure 18 : Observation microscopique de l'isolat (objectif x 100) après coloration de Gram	35
Figure 19 : Observation microscopique des racines endomycorhizées du Poireau.	36
Figure 20 : Solubilisation du phytate sur le milieu (NBRIP) par les PGPR.	37

Liste des abréviations

BTB : Bleu de Bromothymol.

pH : potentiel d'Hydrogène.

RC : Rouge Congo.

YM A : Yeast Mannitol Agar.

YMB : Yeast Mannitol Broth.

Na Cl : Chlorure de sodium.

Ca (ClO)₂ : Hypochlorite de calcium.

CaCl₂ : Chlorure de Calcium.

IAA : Acide indole-3-acétique.

ACC : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate.

PGPR : Rhizobactéries promotrices de croissance des plantes.

ISR : Résistance Systémique Induite

CMA : Champignons mycorhiziens à arbuscules

Table des matières

Introduction	1
Partie 1 : Revue bibliographique	
Chapitre 1 : Généralités sur la microbiologie du sol	
1. Définition de la Microbiologie de sol	3
2. Rhizosphère	3
3. Activité microbienne du sol	3
3.1. Recyclage des matières organiques du sol	4
3.2. Nutrition des plantes	4
3.3. Fixation de l'azote atmosphérique	4
3.4. Symbiose mycorhizienne	4
3.5. Amélioration de la structure du sol	4
3.6. Protection contre les maladies	5
3.7. Echange de signaux chimiques	5
Chapitre 2 : Fixation de l'azote atmosphérique	
1. L'azote	6
2. Cycle de l'azote	6
2.1. Ammonification	6
2.2. Nitrification	7
2.3. Dénitrification	7
3. Fixation biologique de l'azote	7
3.1. Bactéries fixatrices libres	8
3.2. Fixateurs symbiotiques	8
3.3. Symbiose actinorhizienne	9
3.3.1. Plantes actinorhiziennes	9
3.3.2. <i>Frankia</i>	9
3.4. Symbiose <i>Rhizobium</i> légumineuse	10
3.4.1. Légumineuses	10
3.4.2. <i>Rhizobium</i>	10
3.4.3. Contrôle de la nodulation chez <i>Rhizobium</i> par les gènes <i>nod</i> et les facteurs NOD	11
3.4.4. Infection et organogenèse du nodule	11

Chapitre 3 : Symbiose mycorhizienne

1. Définitions des champignons mycorhiziens	13
2. Taxonomie des champignons mycorhiziens	13
2.1. Glomeromycota	13
2.2. Ascomycota	13
2.3. Basidiomycota	13
3. Principaux types de mycorhizes	14
3.1. Endomycorhizes	14
3.1.1. Champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)	15
3.1.1.1. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscules	15
3.1.1.2. Cycle de vie d'un champignon endomycorhizien à arbuscules	16
3.2. Ectomycorhizes	18
3.3. Ectendomycorhizes	19
3.4. Effets bénéfiques des champignons mycorhiziens	19

Chapitre 4 : Rhizobactéries promotrice de croissance des plantes (PGPR)

1. Définition des PGPR	21
2. Principaux genres de PGPR	21
2.1. <i>Azospirillum</i>	21
2.2. <i>Bacillus</i>	21
2.3. <i>Pseudomonas</i>	21
2.4. <i>Azotobacter</i>	22
2.5. <i>Acetobacter</i>	22
2.6. <i>Azorhizobium</i>	22
2.7. <i>Frankia</i>	22
3. Mode d'action des PGPR	22
3.1. Mode d'action direct	23
3.1.1. Fixation d'azote	23
3.1.2. Solubilisation de phosphate	23
3.1.3. Production de phytohormones	24
3.1.3.1. Auxine : Acide indole-3-acétique (IAA)	24
3.1.3.2. Cytokinines	25
3.1.3.3. Gibbérellines	25

3.1.3.3. Régulation d'éthylène et production d'ACC désaminase	25
3.1.4. Production des sidérophores	25
3.2. Mode d'action indirect	26
3.2.1. Antibiose et parasitisme	26
3.2.2. Résistance Systémique Induite (ISR)	26
3.2.3. Compétition pour l'espace et les nutriments	26
4. Utilisation des PGPR dans l'agriculture	27
4.1. Biofertilisation	27
4.2. Phytoremédiation	27
4.3. Bioprotection ou phytostimulation	27

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage des plantes nodulant <i>Vicia faba</i>	28
1.1. Collecte des nodules	28
1.2. Conservation des nodules	29
1.3. Isolement des rhizobia à partir des nodules	29
1.3.1. Stérilisation des nodules	29
1.3.2. Ecrasement des nodules	30
1.3.2. Isolement des nodules	30
1.4. Caractères cultureux	31
1.4.1. Principaux milieux de culture utilisés	31
1.4.2. Purification des isolats	31
1.4.3. Coloration de gram	31
2. Observation microscopique des racines mycorhizées du poireau	31
2.1. Prélèvement des racines	31
2.2. Lavage et séparation des racines	32
2.3. Stabilisation et coloration	32
2.3.1. Stabilisation et décoloration avec une solution de KOH	32
2.3.2. Coloration avec bleu de méthylène	33
2.3.3. Observations microscopique	33
3. Solubilisation du phosphore par une souche de <i>Bacillus</i> PGPR	33

Partie 3 : Résultats et discussion	
1. Caractère morphologique des isolats	34
1.1. Etude morphologique et culturale	34
1.1.1. Croissance sur milieu YMA + rouge Congo	34
1.1.2. Croissance sur milieu YMA + bleu de bromothymol (YMA+BTB)	35
1.2. Aspect microscopique des isolats	35
2. Observation microscopique des racines endomycorhizées du poireau	35
3. Solubilisation du phosphore par <i>Bacillus</i>	37
Conclusion	38
Références Bibliographiques	39
Annexes	

Introduction

Les plantes constituent directement et indirectement la base de notre chaîne alimentaire. Elles interagissent de façon continue avec une diversité de microorganismes présents dans leur environnement. Certains de ces microorganismes, tels que les bactéries, les champignons et les virus, peuvent avoir des effets délétères sur les plantes, tandis que d'autres favorisent leur santé et leur croissance, en améliorant leur nutrition, leur développement et leur résistance aux maladies. Ces microorganismes bénéfiques peuvent ainsi contribuer à augmenter les rendements agricoles en favorisant la santé des sols et des plantes, ce qui est essentiel pour répondre aux besoins alimentaires croissants.

La rhizosphère se définit comme la zone de sol entourant les racines, influencée de manière directe ou indirecte par ces dernières et caractérisée par une intense activité microbienne. Certaines bactéries, notamment *Azobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, etc., sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires des plantes, favorisant ainsi leur croissance de plusieurs manières. Elles agissent directement en fournissant des phytohormones qui stimulent la croissance végétale, ou en facilitant l'absorption de nutriments environnementaux grâce à la production de sidérophores, à la fixation d'azote et à la solubilisation du phosphate. De manière indirecte, ces bactéries interviennent en empêchant ou en réduisant les effets néfastes des microorganismes phytopathogènes par leur colonisation et leur production d'antibiotiques. Ces bactéries, présentes dans la rhizosphère, sont désignées sous le nom de PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria ». Les effets de ces bactéries sur la croissance et le développement des plantes visent à améliorer la productivité agricole de manière durable (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Les associations symbiotiques fixatrices d'azote sont très diversifiées et sont responsables de près de la moitié de la fixation biologique de l'azote moléculaire du globe, les plus étudiées sont établies entre des bactéries du sol de type *rhizobiums* et des plantes de la famille des légumineuses (de Faria et *al.*, 1989).

Rhizobium est une bactérie symbiotique qui s'associe avec les légumineuses, comme le haricot, le pois, la luzerne, etc. En colonisant les racines de ces plantes, cette bactérie forme des nodosités où elle transforme l'azote atmosphérique en ammoniac (NH_3), forme assimilable par les plantes, ce qui stimule leur croissance. Dans cette relation mutuellement bénéfique la

plante offre aux rhizobia un environnement protecteur et de l'énergie sous forme de glucides issus de la photosynthèse.

Les mycorhizes sont des symbioses essentielles pour de nombreuses plantes. Les filaments mycéliens des champignons mycorhiziens augmentent la surface d'absorption des racines, ce qui permet aux plantes de mieux exploiter les ressources du sol, en particulier l'eau et les nutriments notamment le phosphore. Cette coopération entre les plantes et les champignons favorise non seulement la croissance des plantes, mais elle peut également renforcer leur résistance aux maladies et aux stress environnementaux. En retour, les champignons bénéficient de composés organiques produits par les plantes, établissant ainsi un échange bénéfique pour les deux partenaires (Bloodnick, 2020).

Ce présent travail est structuré en trois parties :

- Dans la première partie, nous avons présenté une étude bibliographique sur les microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes. Cette partie est divisée en quatre chapitres, tels que : des généralités sur la microbiologie du sol, la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, la symbiose mycorhizienne et les PGPR « Rhizobactéries promotrice de la croissance des plantes ».
- La deuxième partie est consacrée au matériel et méthodes, dans laquelle nous avons effectués
 - une caractérisation phénotypique des bactéries nodulant *vicia faba* selon les étapes suivantes : Isolement des bactéries à partir des nodules racinaires et étude morphologique, culturale et microscopique des isolats,
 - Observation microscopique des structures endomycorhiziennes colonisant les racines de poireau.
 - Etude de la capacité d'une souche PGPR à produire de l'auxine et à solubiliser le phosphate.
- La troisième partie représente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Revue Bibliographique

1. Définition de la Microbiologie du sol

La microbiologie du sol constitue une subdivision cruciale de l'écologie microbienne, qui se concentre sur l'étude des microorganismes présents dans le sol et de leurs interactions avec leur environnement. Ces microorganismes comprennent les bactéries, les champignons, les actinomycètes, les protozoaires et les virus.

Cette discipline examine comment ces organismes contribuent aux processus écologiques et biogéochimiques du sol, tels que la décomposition de la matière organique, la fixation de l'azote, la minéralisation des éléments nutritifs, la dégradation des contaminants, et la promotion de la croissance des plantes.

La microbiologie du sol joue un rôle crucial dans la santé des écosystèmes terrestres, dans la fertilité du sol et dans la production agricole durable. Les recherches dans ce domaine visent à mieux comprendre la diversité, la fonction et la dynamique des microorganismes du sol (Brady *et al.*, 2016).

2. Rhizosphère

Le terme rhizosphère vient du grec "rhizo" pour racine et "sphère" pour zone d'activité. Il a été introduit par Lorenz Hiltner en 1904 (Bactériologiste du sol et professeur d'agronomie à Munich), qui a défini la rhizosphère comme étant le volume du sol entourant les racines influencé directement par les racines des plantes vivantes. C'est un environnement dynamique et complexe où une grande diversité de microorganismes interagit avec les racines des plantes et entre eux. Ces microorganismes comprennent des bactéries, des champignons, des actinomycètes, des protozoaires et d'autres organismes. Cette zone d'interaction s'étend jusqu'à 2 mm au-delà de la surface racinaire avec une densité bactérienne plus élevée que dans le sol éloigné, appelé l'effet rhizosphère (Lemanceau, 1992).)

Les plantes libèrent des composés organiques, tels que des sucres et des acides organiques, dans la rhizosphère par le biais de leurs racines. Ces composés, connus sous le nom d'exsudats racinaires, servent de source de carbone et d'énergie pour les micro-organismes du sol. En retour, les micro-organismes de la rhizosphère peuvent influencer la santé et la croissance des plantes de différentes manières (Hinsinger *et al.*, 2009).

3. Activité microbienne du sol

L'activité microbienne du sol est essentielle pour la santé et la productivité des plantes, fournissant des nutriments, améliorant la résistance aux maladies et favorisant une meilleure structure du sol.

3.1. Recyclage des matières organiques du sol

Les microorganismes, grâce à leurs enzymes, jouent un rôle exclusif dans les processus biogéochimiques indispensables à l'humification (convertissant la matière organique en humus) et à la minéralisation (décomposant les macromolécules organiques en éléments minéraux simples), contribuant ainsi à la fertilité et à la santé globale du sol. (Estrade, 2013).

3.2. Nutrition des plantes

Les microorganismes du sol jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique en éléments nutritifs essentiels pour les plantes. Par exemple, les bactéries et les champignons décomposent la matière organique en nitrate (NO_3^-), ammonium (NH_4^+), phosphate et autres ions minéraux, qui sont absorbés par les racines des plantes pour leur croissance et leur développement (Paul et Clark, 2015).

3.3. Fixation de l'azote atmosphérique

La fixation d'azote peut résulter de la présence de bactéries libres dans le sol ou certaines bactéries, telles que celles du genre *Rhizobium*, établissent une relation symbiotique avec les plantes légumineuses. Ces bactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique et le convertir en ammonium (NH_4^+), forme utilisable par les plantes, contribuant ainsi à enrichir le sol en azote et à améliorer la croissance des plantes.

3.4. Symbiose mycorhizienne

De nombreuses plantes peuvent développer des relations symbiotiques avec une catégorie spécifique de champignons, appelés mycorhizes. Ces associations contribuent à améliorer l'efficacité de l'absorption d'eau et des nutriments, notamment le phosphore (Garbaye *et al.*, 2013).

3.5. Amélioration de la structure du sol

Les microorganismes jouent un rôle crucial dans la stabilisation de la structure du sol en renforçant la capacité des agrégats à résister à la dispersion causée par l'eau. La formation de mycorhizes et la production de polysaccharides extracellulaires, contribuent à l'agrégation des particules du sol et à l'amélioration de sa structure. Une meilleure structure du sol favorise la rétention d'eau, la circulation de l'air et la disponibilité des nutriments pour les plantes (Estrade, 2013).

3.6. Protection contre les maladies

Certains microorganismes du sol, comme les bactéries du genre *Pseudomonas* et les champignons du genre *Trichoderma*, peuvent agir comme des agents de lutte biologique contre les pathogènes des plantes. Ils produisent des antibiotiques naturels ou induisent des mécanismes de défense des plantes, aidant ainsi à protéger les cultures contre les maladies (aijmakers et *al.*, 2009).

3.7. Echange de signaux chimiques

Les plantes et les microorganismes du sol peuvent échanger des signaux chimiques complexes, ce qui conduit à des interactions spécifiques. Par exemple, les racines des plantes sécrètent des composés organiques qui attirent et favorisent la croissance de certains microorganismes bénéfiques, formant ainsi des associations symbiotiques bénéfiques pour les deux partenaires (Badri Vivanco, 2009).

1. L'azote

Constituant des acides aminés et nucléiques, l'azote est un élément essentiel pour toutes formes de vie. L'azote atmosphérique (N_2) représente 79 % du volume de l'air, mais la plupart des êtres vivants ne peuvent pas l'assimiler directement. En effet les seuls organismes capables de l'utiliser sont des bactéries, dites diazotrophes, qui possèdent le complexe enzymatique réducteur appelé nitrogénase. Dans les sols, les quantités d'azote assimilable par les plantes sont faibles alors que cet élément constitue souvent, avec le manque d'eau et de phosphate, un principal facteur limitant la croissance des végétaux (Cleland et Harpole, 2010)

Les plantes assimilent l'azote de deux manières distinctes :

- L'absorption de l'azote minérale, principalement sous forme d'ions nitrate (NO_3^-) et d'ammonium (NH_4^+), à partir du sol. Une fois absorbé, l'azote est utilisé par les plantes pour leur croissance, leur développement et leur reproduction.
- Certaines espèces de plantes, appelées légumineuses, ont la capacité d'effectuer la fixation biologique de l'azote atmosphérique, en plus de son assimilation. Elles abritent des bactéries symbiotiques, telles que les rhizobia, dans des nodules racinaires. Ces bactéries sont capables de convertir l'azote atmosphérique (N_2) en ammoniac (NH_3), qui est ensuite utilisé par la plante hôte pour la synthèse de composés organiques, tels que les protéines, les acides nucléiques et les chlorophylles.

2. Cycle de l'azote

Le cycle de l'azote est indispensable à la vie dans les milieux terrestres et aquatiques, Il implique une série de transformations chimiques et biologiques, notamment la fixation de l'azote atmosphérique par des bactéries, l'ammonification, la nitrification, la dénitrification, et le retour de l'azote dans l'atmosphère sous forme de diazote gazeux (N_2). Ce cycle complexe joue un rôle crucial pour maintenir l'équilibre des nutriments dans les sols et favorise la croissance des plantes (Galloway et *al.*, 2004).

La figure 1 représente des agents participants au cycle de l'azote.

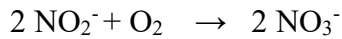
2.1. Ammonification

Certaines bactéries et champignons saprophytes peuvent dégrader la matière organique azotée (acides aminés, protéines...) pour libérer de l'azote sous forme d'ammonium (NH_4^+) dans le sol, rendant ainsi cet élément disponible pour être utilisé par les plantes comme source d'azote.

2.2. Nitrification

Ce processus se décompose en deux étapes distinctes :

- Première étape : L'oxydation de l'ion ammonium (NH_4^+) en nitrite (NO_2^-) grâce à l'action de certaines bactéries nitrifiantes, principalement du genre *Nitrosomonas* par la réaction chimique de la nitrification :



- Deuxième étape : les nitrites subissent une oxydation pour se transformer en nitrates (NO_3^-) par des bactéries, principalement du genre *Nitrobacter* selon la réaction simplifiée de la nitrosation :



2.3. Dénitrification

La dénitrification implique la conversion des ions nitrate (NO_3^-) en différentes formes telles que le dioxyde d'azote (NO_2), le protoxyde d'azote (N_2O), le monoxyde d'azote (NO), ou l'azote gazeux (N_2). Ce processus est exécuté par des bactéries anaérobies spécifiques telles que *Pseudomonas* et *Clostridium*, qui utilisent les ions nitrate comme accepteurs d'électrons pendant la respiration.

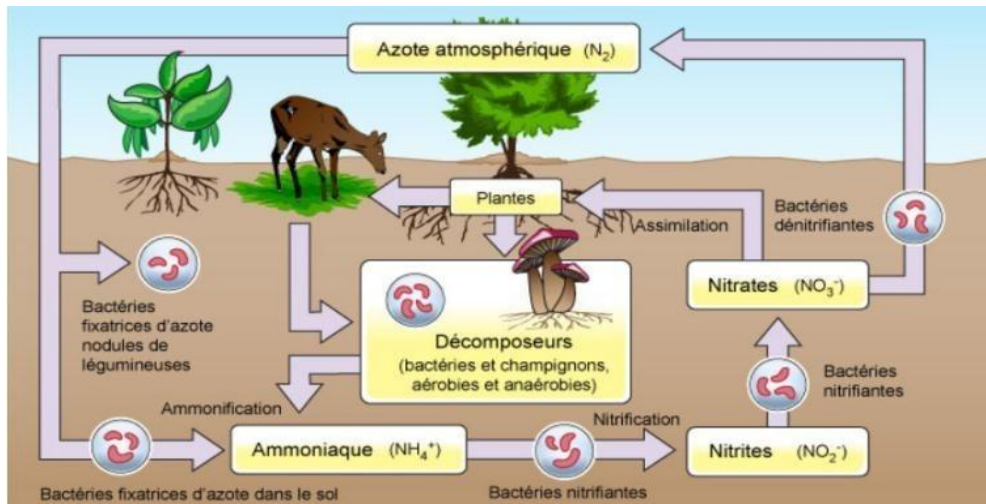


Figure 1 : Schéma des agents participants au cycle de l'azote (Pujic, 2009).

3. Fixation biologique de l'azote

La fixation biologique de l'azote est un mécanisme vital qui transforme l'azote gazeux de l'air en substances organiques essentielles. La limitation de la disponibilité d'azote représente fréquemment l'un des principaux obstacles à la croissance des plantes.

Cependant, certaines plantes peuvent établir une relation symbiotique avec des microorganismes diazotrophes capables de fixer l'azote atmosphérique. Ce processus est facilité par la présence de la nitrogénase, un complexe enzymatique qui permet la conversion de l'azote atmosphérique (N_2) en ions ammonium (NH_4^+) assimilables par la plante. Ces microorganismes sont capables de cohabiter avec certains groupes de végétaux, établissant ainsi une symbiose mutuellement bénéfique qui contribue à améliorer la nutrition azotée du végétal partenaire. Les symbioses fixatrices d'azote se présentent sous différentes formes, classées selon les bactéries diazotrophes associées : les cyanobactéries, *Frankia* et rhizobia (Selami, 2017).

Le rôle principal de ces bactéries fixatrices d'azote est d'extraire l'azote de l'atmosphère et le transformer sous une forme facilement assimilable, notamment le nitrate (NO_3^-) et l'ammonium (NH_4^+). Il y a deux catégories de bactéries qui peuvent fixer l'azote atmosphérique et accomplir ces processus : fixatrices libres et fixatrices symbiotiques.

3.1. Bactéries fixatrices libres

Les bactéries fixatrices libres d'azote se localisent dans la rhizosphère. Elles tirent leur substance des composés sécrétés par les racines des plantes et, en échange, convertissent l'azote atmosphérique en ammonium. Un éventail de bactéries est observé dans ces milieux, comprenant des anaérobies stricts tels que (*Clostridium*), des bactéries aérobies comme (*Acetobacter*, *Azotobacter*, et *Azospirillum*), ainsi que des aérobies facultatifs incluant (*Klebsiella*, *Pseudomonas*, et *Bacillus*). De plus, des bactéries phototrophes telles que (*Rhodobacter* et *Rhodospirillum*) (Franche *et al.*, 2009).

3.2. Fixateurs symbiotiques

Ce sont des microorganismes qui établissent une relation de symbiose avec les légumineuses. Ce processus se déroule dans des structures spécifiques appelées nodosités ou nodules, localisées sur les racines des plantes. Ces dernières offrent aux bactéries un environnement spécifique et des substances carbonées essentielles à leur croissance. En échange, les bactéries absorbent l'azote atmosphérique et le convertissent en une forme assimilable par les plantes. Cette transformation est rendue possible grâce à l'enzyme nitrogénase.

Certaines bactéries diazotrophes établissent des symbioses mutuellement bénéfiques avec deux catégories de plantes :

- Les plantes actinorhiziennes établissent une symbiose avec des bactéries filamenteuses du genre *Frankia*.
- Les légumineuses établissent une association symbiotique avec les rhizobia, des bactéries unicellulaires Gram négatif, développent des nodules fixateurs d'azote sur leurs racines, parfois même sur leurs tiges. Cette collaboration aboutit à une fixation d'azote, processus d'une importance économique et écologique significative.

Les cyanobactéries, également connues sous le nom d'algues bleues, sont des bactéries Gram négatif qui effectuent la photosynthèse. Elles ont la possibilité de vivre en autonomie ou en association étroite avec des végétaux, tel que l'exemple de la cyanobactérie *Anabaena* qui cohabite avec *Azolla*, une fougère aquatique. Cette coopération bénéfique est souvent exploitée dans la riziculture, où ces bactéries sont employées comme engrais vert (Franche *et al.*, 2009).

3.3. Symbiose actinorhizienne

3.3.1. Plantes actinorhiziennes

Ces plantes ont la capacité de former une symbiose fixatrice d'azote avec l'actinomycète du sol *Frankia*. Cette symbiose nécessite la formation d'un nouvel organe : l'actinorhize ou nodule actinorhizien, qui constitue le site où le microsymbiote fixe l'azote atmosphérique. Les plantes actinorhiziennes, à l'exception du genre *Datisca*, sont des plantes ligneuses pérennes. Elles sont présentes sur tous les continents et représentent, après les légumineuses, le deuxième groupe de plantes capable de fixer biologiquement l'azote atmosphérique. (Hocher, 2009).

3.3.2. *Frankia*

Frankia est un actinomycète appartenant à la famille des Frankiaceae, couramment présent dans le sol. Le terme "*Frankia*", initialement utilisé pour désigner les endophytes formant des nodules chez les plantes non légumineuses, a été attribué par Brunchorst en 1886 en hommage au professeur botaniste allemand Frank, qui a été un pionnier dans l'étude des symbioses entre les plantes et les microorganismes au XIXe siècle. La bactérie *Frankia* est caractérisée par son mode hétérotrophe et son métabolisme aérophile ou microaérophile. Elle génère des spores et a la capacité de fixer l'azote atmosphérique.

Les bactéries du genre *Frankia* s'intègrent au niveau des poils racinaires des plantes, où elles induisent la formation de structures spécialisées appelées nodules. À l'intérieur de ces nodules, les microorganismes convertissent l'azote atmosphérique (N₂) en ammoniac (NH₃) ou en ions ammonium (NH₄⁺). En retour, les plantes fournissent aux bactéries les composés carbonés

produits au cours de la photosynthèse (Cynthia, 2014).

3.4. Symbiose *Rhizobium* légumineuse

La symbiose *Rhizobium*-Légumineuse, a été décrite pour la première fois par Frank (1889). Elle présente un intérêt agronomique considérable. Cette symbiose permet l'enrichissement naturel du sol en azote et la réduction des apports d'engrais azoté. L'azote fixé par la symbiose est restitué au sol après la décomposition de la matière végétale (racine, nodules, parties aériennes) (Selami, 2017).

3.4.1. Légumineuses

Les légumineuses sont des plantes caractérisées par leurs fruits en forme de gousse et sont reconnues pour leur haute teneur en protéines. Il y a une multitude d'espèces de légumineuses dans le monde. D'un côté, on trouve les gousses ou graines récoltées fraîches ou sèches, comprenant des variétés telles que : les pois, les fèves, les lentilles, les haricots, d'un autre côté, on trouve les légumineuses fourragères ou prairiales, telles que : les luzernes, les vesces, les trèfles et le sainfoin (Margini et Bedoussac, 2022). Les légumineuses, classées dans l'ordre des Fabales et la famille des Fabacées (également connue sous le nom de légumineuses) (Doyle et Luckow 2003). Traditionnellement, trois sous-familles principales sont reconnues : *Caesalpinoidae*, *Mimosoidae* et *Papilionidae*, tandis que la plupart des cultures agricoles majeures appartiennent aux *Papilionidae*. (Chen *et al.*, 2005).

3.4.2. *Rhizobium*

Les rhizobiums sont des bactéries réputées pour leur capacité à fixer l'azote. Elles sont classées comme gram-négatives, aérobies, et se retrouvent soit libres dans le sol, soit en symbiose avec des légumineuses. Elles appartiennent à la sous-classe alpha des protéobactéries, qui fait partie de la grande classe des eubactéries. Les bactéries du genre *Rhizobium* sont des bacilles mobiles, aérobies et chimioorganohétérotrophes. Elles utilisent les sucres comme source et sont présentes dans le sol ainsi que dans les nodules racinaires (Bergey *et al.*, 1923). Les espèces les plus connues de *Rhizobium* comprennent *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium fredii*, etc. Chaque espèce peut avoir des sous-groupes ou des souches spécifiques en fonction de leur légumineuse hôte et de leur habitat (Mousavi *et al.*, 2014).

3.4.3. Contrôle de la nodulation chez *Rhizobium* par les gènes *nod* et les facteurs Nod

Chez *Rhizobium*, les gènes de nodulation (gènes *nod*), induits par des flavonoïdes sécrétés par les racines de la plante, contrôlent la spécificité de l'hôte, l'infection et la formation des nodosités. Ces gènes sont responsables de la synthèse des facteurs de nodulation (facteurs Nod). Ces facteurs Nod sont des régulateurs de croissance qui provoquent des réponses symbiotiques sur le développement du système racinaire (Figure 2).

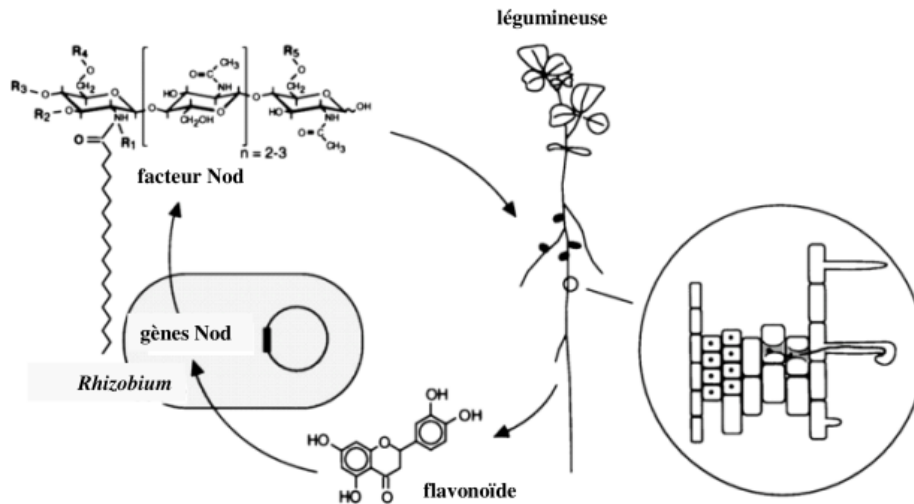


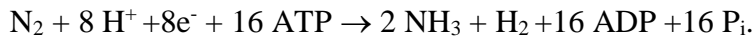
Figure 2 : Bases moléculaires de l'interaction *Rhizobium*-légumineuse. Le zoom montre un cordon d'infection passant le cortex racinaire vers un groupe de cellules en division, qui deviendra le primordium nodulaire (Lindström *et al.*, 2010).

3.4.4. Infection et organogenèse du nodule

La première étape de l'infection consiste à l'attachement des bactéries sur les jeunes poils absorbants au niveau de la zone susceptible à l'infection. Les bactéries se lient aux poils grâce à une protéine bactérienne appelée rhicadhésine. Une fois que les bactéries ont été attirées vers les racines, elles vont induire par l'intermédiaire des facteurs Nod la courbure du poil absorbant en « cross de berger ». Au niveau de cette cross se développe une structure en forme de tube appelée cordon d'infection qui progresse jusqu'au cortex interne de la racine. Simultanément à la mise en place de ce cordon, les cellules du cortex se divisent et forment un primordium nodulaire (Figure 2). Les rhizobia utilisent la paroi du cordon d'infection pour être endocytés à l'intérieur des cellules (Duhoux et Nicole, 2004).

L'organogenèse du nodule est un processus complexe qui implique des interactions étroites entre les bactéries et les cellules végétales. Les bactéries induisent la prolifération cellulaire

dans la zone corticale, entraînant la formation de masses de cellules appelées primordia nodulaires. Ces primordia se développent ensuite en nodules matures (Figure 3), qui abritent les bactéries fixatrices d'azote dans des conditions favorables. À l'intérieur des nodules, les bactéries se différencient en bactéroïdes, une forme capable de fixer l'azote atmosphérique en ammoniac utilisable par la plante hôte. Ce processus est catalysé par l'enzyme nitrogénase selon la réaction suivante :



En retour, la plante fournit aux bactéries des composés carbonés essentiels pour leur croissance et leur métabolisme. La nitrogénase est un complexe enzymatique très sensible à l'oxygène, qui est rapidement inactivé dans un environnement aérobie. La nodosité lui confère une niche protectrice grâce à la présence d'une protéine végétale, la leghémoglobine qui fixe l'oxygène et permet de le maintenir à faible pression partielle. Elle se lie à l'oxygène et permet ainsi de réguler la diffusion de l'oxygène aux bactéroïdes (Ott *et al.*, 2005).

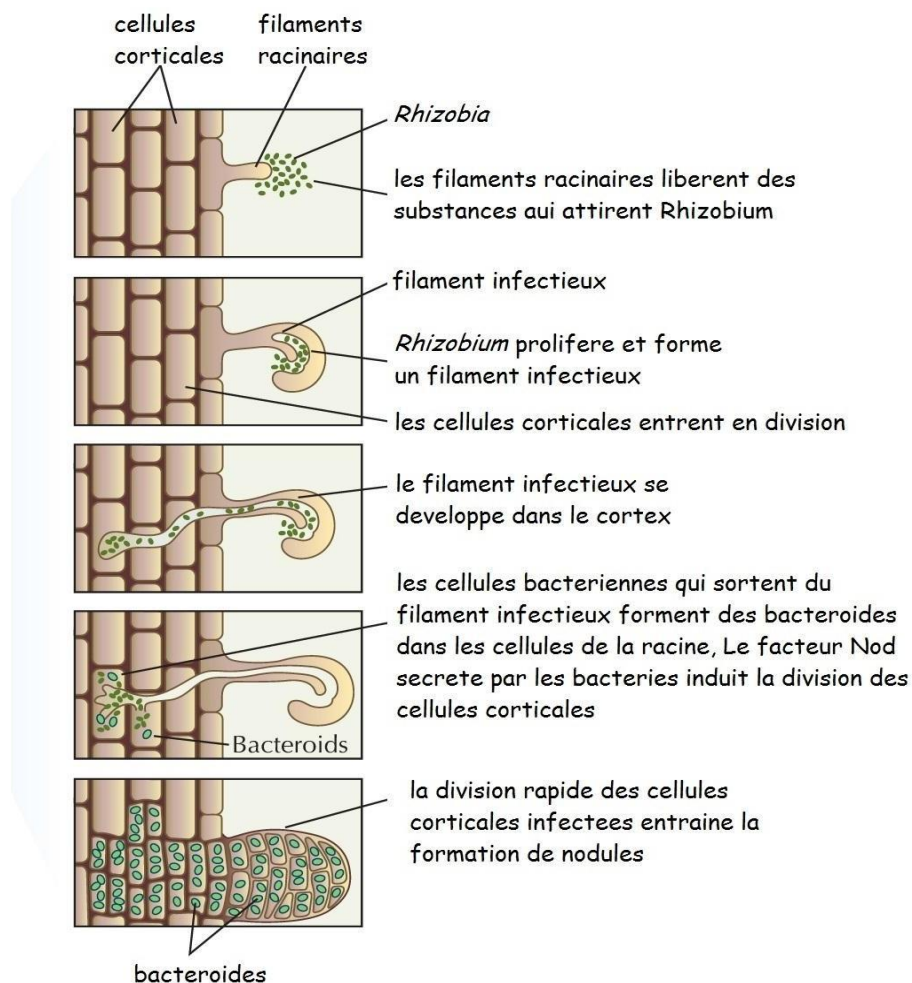


Figure 3 : Développement des nodules racinaires dans la symbiose *Rhizobium*-légumineuse (Perry *et al.*, 2004).

1. Définitions des champignons mycorhiziens

Les mycorhizes, dérivés du grec *mikos* (signifiant "champignon") et *rhiza* (signifiant "racine"), se distinguent des champignons parasites par leur nature symbiotique. Elles forment des associations bénéfiques avec les racines des plantes, contrairement aux parasites qui nuisent à leur hôte. Cette coopération entre la plante et le champignon mycorhizien crée une relation symbiotique à bénéfice mutuelle. La plante fournit au champignon des glucides produits par la photosynthèse, qui servent de source d'énergie pour sa croissance. En retour, la plante bénéficie de l'absorption de l'eau et des minéraux, notamment le phosphore que le champignon peut extraire du sol. Ce dernier peut également aider à la décomposition de la matière organique et à la libération de certains éléments nutritifs sous une forme assimilable par la plante.

Les mycorhizes, semblables à d'autres champignons, présentent une structure appelée mycélium, composée d'un réseau d'hyphes. Ces derniers hyphes leur permettent d'explorer le sol sur de longues distances, cette capacité leur donne accès à des nutriments que les plantes ne peuvent atteindre autrement. Les champignons mycorhiziens jouent un rôle crucial dans l'enrichissement des sols en nutriments et dans le maintien de la santé des plantes (Gérard et Marouf, 2021).

2. Taxonomie des champignons mycorhiziens

La classification des champignons mycorhiziens est complexe. Ils sont inclus dans plusieurs groupes, notamment les Glomeromycota, les Ascomycota et les Basidiomycota (Bonfante et Genre, 2010).

2.1. Glomeromycota

Ce groupe est composé de champignons endomycorhiziens avec une prédominance d'espèces formant des mycorhizes arbusculaires. Les Glomeromycota comprennent des genres comme *Glomus*, *Rhizophagus* et *Funneliformis*.

2.2. Ascomycota

Ces champignons incluent diverses espèces mycorhiziennes telles que les champignons truffiers (*Tuber* spp.) et Ils peuvent être saprophytes, parasites ou symbiotiques. Certaines espèces sont associées à des plantes dans des relations symbiotiques, telles que les lichens, où les Ascomycota fournissent une structure fongique abritant des algues.

2.3. Basidiomycota

Les *Basidiomycota* incluent de nombreuses espèces de champignons mycorhiziens, en particulier ceux qui forment des ectomycorhizes. Des exemples incluent des genres tels que *Russula*, *Lactarius*, et *Boletus*.

3. Principaux types de mycorhizes

Les mycorhizes sont classés en trois groupes en fonction des associations entre les plantes et les champignons : endomycorhizes, ectomycorhizes et ectendomycorhizes, qui présentent un comportement mixte entre les deux premiers groupes.

3.1. Endomycorhizes

Les endomycorhizes appartiennent au groupe monophylétique des Gloméromycètes et représentent la forme la plus répandue de symbiose mycorhizienne. Ces champignons endomycorhizes sont des organismes coenocytiques (absence de paroi délimitant deux cellules) constitués d'un réseau de cellules polynucléées et hétérocaryotiques (présence de noyaux d'origines différentes). L'une des structures cellulaires caractéristique des champignons est l'hyphe. Il s'agit de filaments microscopiques dont la fonction principale est de permettre au champignon d'étendre son volume d'exploitation du sol.

Selon les caractères des champignons, on distingue les champignons endomycorhizes à vésicules et arbuscules intracellulaires (CMA : champignons mycorhiziens à arbuscules), qui sont les plus courantes, et les endomycorhizes à pelotons des orchidées (forment une grande famille de plantes monocotylédones) et des éricacées (constituent un ordre de plantes dicotylédones gamopétales) (Figure. 4).

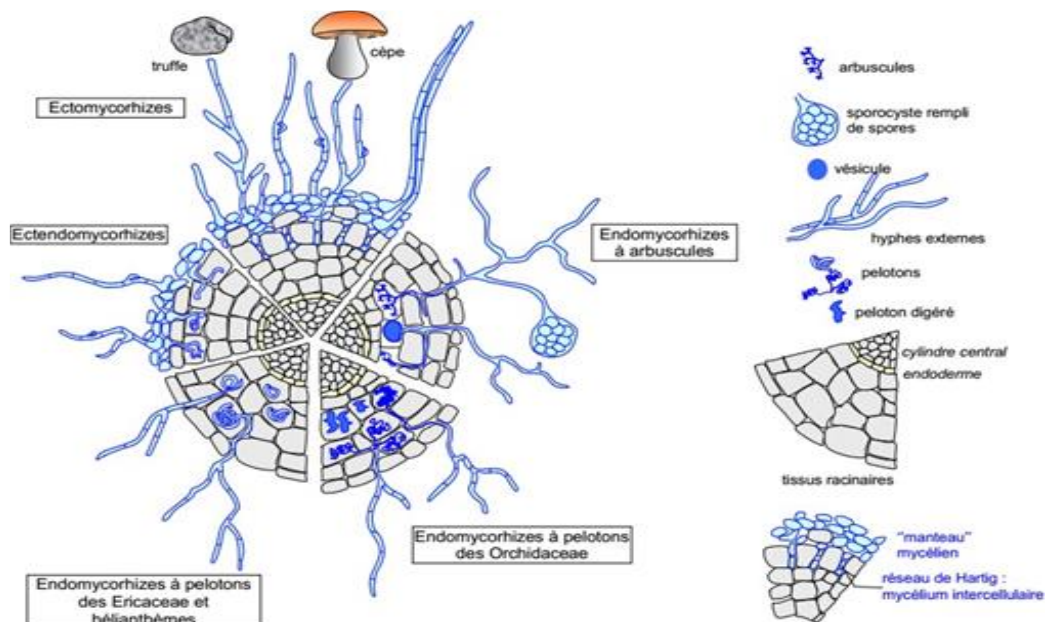


Figure 4 : Principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes. (Hallé, 2008)

3.1.1. Champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)

Tous les champignons mycorhiziens arbusculaires sont membres de l'embranchement des Gloméromycètes et constituent le type de mycorhizes dominant. Bien qu'il n'existe qu'environ 230 espèces de gloméromycètes, ils forment des mycorhizes avec plus de 400 000 plantes différentes. Ces champignons ne sont pas spécifiques à certaines plantes hôtes et forment d'autres associations dans la nature, notamment avec de nombreuses mousses et hépatiques.

Les CMA pénètrent à l'intérieur des cellules corticales des racines pour réaliser les échanges avec la plante, facilitant aux plantes de mieux absorber les éléments essentiels du sol tels que l'eau et le phosphore en échange de composés carbonés fournis par les plantes.

Le CMA ne traverse jamais le plasmalemme, la cellule forme une membrane qui entoure les hyphes fongiques, les enfermant dans une enveloppe. La plante construit cette membrane en permanence pendant que le champignon se développe, se ramifie et produit des arbuscules. Cette enveloppe crée une cavité dans laquelle les deux partenaires échangent des molécules. Les endomycorhizes sont des biotrophes obligatoires, Ils ne peuvent se développer qu'en présence d'une plante hôte. (Marlenevissac, 2020).

3.1.1.1. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscules

Pendant leur cycle de vie, les CMA développent diverses structures telles que des arbuscules, des vésicules, des cellules auxiliaires, un mycélium interne et externe, ainsi que des spores (Morton, 1990). Chacune de ces structures remplit des fonctions qui leur sont propres (Figure 5).

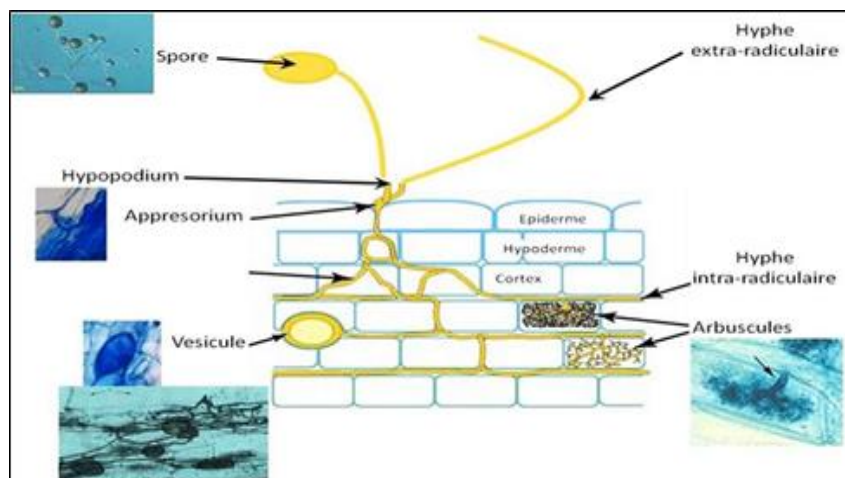


Figure 5 : les différentes structures des champignons mycorhiziens à arbuscules (Berutti et al., 2014).

a/ Spores

La spore des CMA joue un rôle crucial en tant qu'organe de stockage et de propagation. Une fois germée, elle engendre des filaments mycéliens. Les spores varient en taille, allant de 40 à plus de 500 μm , et sont dotées de parois ou d'enveloppes extrêmement épaisses qui les protègent contre les stress environnementaux (Garbaye, 2013).

b/ Arbuscules

L'arbuscule constitue l'unité fonctionnelle où s'établissent les échanges entre la plante hôte et le champignon mycorhizien. Il s'agit d'un amas d'hyphes minuscules et finement ramifiés latéralement, qui pénètre à l'intérieur des cellules du cortex racinaire. Lorsque le champignon s'y introduit, la membrane de la cellule hôte s'invagine pour l'envelopper, établissant ainsi un contact direct entre le champignon et la plante (Figure 5).

c/ Vésicules

La vésicule est une structure à paroi fine qui stocke des lipides et se trouve généralement dans les espaces intercellulaires. Elle présente généralement une forme ovoïde, globulaire ou ellipsoïde et contient une à deux parois minces (Figure 5).

d/ Hyphes

Les hyphes à l'intérieur de la racine (intra-radiculaires) sont connectés aux arbuscules et s'étendent à l'extérieur de la racine dans le sol. Ils se ramifient dans le sol pour former un réseau mycélien qui peut atteindre plusieurs dizaines de mètres par gramme de sol. La capacité des différents CMA à former ces réseaux mycéliens peut varier en fonction de leur fonction principale, on distingue plusieurs types d'hyphes extra-racinaires (Figure 5) :

- Les hyphes d'absorption, très ramifiées et minces, sont responsables du prélèvement des molécules du sol.
- Les hyphes conducteurs ont un diamètre plus important et un cytoplasme moins abondant.
- Les hyphes d'infection ont la capacité de coloniser de nouvelles racines.
- Les hyphes sporogènes donnent naissance aux spores

3.1.1.2. Cycle de vie d'un champignon endomycorhizien à arbuscules

Le cycle de vie d'un CMA est caractérisé par plusieurs étapes clés dans son interaction avec les plantes hôtes.

a/ Etablissement de la symbiose

Les étapes de la formation du mycorhize à arbuscules débutent par la colonisation d'une racine compatible par les hyphes germinatives issues des propagules des CMA, comme les

spores asexuées, les racines déjà mycorhizées ou les vésicules (Strullu et *al.*, 1997). Ces différentes étapes sont montrées dans la figure 6 (Bonfante et Genre, 2010).

- **Phase a-symbiotique**

Les spores des CMA germent généralement pendant 2 à 3 semaines dans des conditions favorables, au cours desquelles les hyphes germinatifs commencent à se développer. Plusieurs facteurs influent ce processus, tels que la concentration en CO₂, le pH, la température du sol (optimale entre environ 10 et 30°C pour la germination), l'humidité du sol, la disponibilité des nutriments, ainsi que la présence de plantes hôtes ou non hôtes, qui peuvent stimuler ou inhiber la germination (Giovannetti et *al.*, 2010). Si l'hyphes n'entre pas en contact avec une racine dans les 2 à 4 semaines suivant sa croissance, les spores peuvent retourner en dormance en attendant des conditions plus favorables.

- **Phase pré-symbiotique**

Une fois qu'un hyphes germinatif a trouvé une racine hôte à proximité, il se ramifie de manière significative dans le sol. Des signaux sont échangés entre les deux partenaires, et le champignon passe alors au stade pré-symbiotique, qui se caractérise par la reconnaissance entre un champignon et une racine compatible. Durant cette phase, on observe une croissance fongique, une augmentation de l'activité physiologique, et une ramification abondante d'hyphes. Cette ramification joue un rôle crucial dans le développement des appressoria dans la symbiose MA (Figure 6) (Bonfante et Genre, 2010).

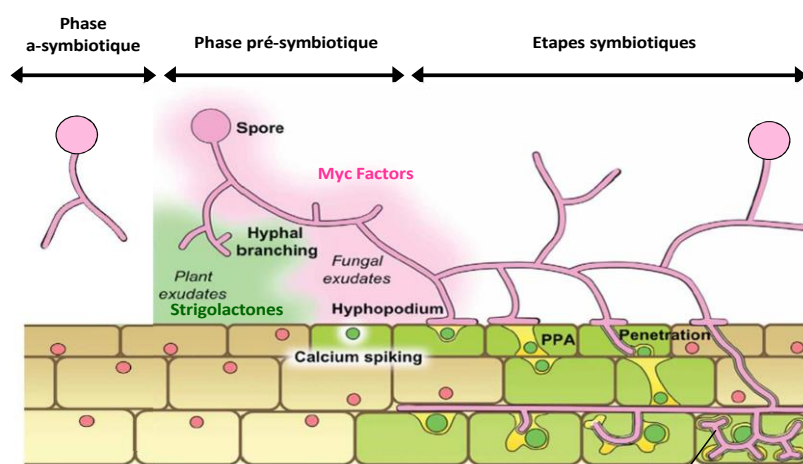


Figure 6 : Différents étapes de colonisation des CMA (Bonfante et Genre, 2010).

- **Phase symbiotique**

L'appressorium constitue le point d'entrée du champignon dans la racine de l'hôte. Cette invasion se produit grâce à une combinaison de pression mécanique et à la production d'enzymes hydrolytiques qui dégradent la paroi cellulaire de la plante hôte (Gollotte et *al.*, 2009). La plante met en place un appareil de pré-pénétration (PPA) pour guider le développement du champignon à travers les différentes couches de cellules jusqu'aux cellules du cortex interne où sont mis en places les arbuscules, où se déroulent les échanges symbiotiques. (Figure 6). Leur durée de vie est de quelques jours, après ils se dégradent sans endommager la cellule hôte. L'apparition des arbuscules est au moins en partie régie par le programme génétique de l'hôte (Bonfante et Genre, 2010).

Pendant que le champignon continue de coloniser les racines de la plante et de contribuer à sa croissance, il produit également des spores, qui sont libérées dans le sol. Ces spores se propagent et colonisent de nouvelles plantes hôtes lorsque les conditions environnementales sont favorables.

Les hyphes se développent très rapidement et de manière intensive dans le sol, constituant ce que l'on appelle la phase extra-matricielle. Le mycélium en dehors des racines acquiert des nutriments inaccessibles aux racines, puis les transfère aux cellules hôtes. La phase extra-matricielle, en agglomérant les particules du sol, semble jouer un rôle essentiel dans la stabilité du sol.

b/ Facteurs limitant la mycorhization

La germination des spores, la formation et le développement des mycorhizes sont influencées par un ensemble de facteurs notamment le pH, l'aération, l'humidité, la température, la lumière, la salinité et la texture du sol. L'application d'engrais ou de pesticides peut avoir aussi des effets néfastes sur les populations de CMA. Les métaux lourds peuvent réduire et éliminer, dans certains cas, la colonisation par les CMA et la germination des spores de ces champignons au champ.

3.2. Ectomycorhizes

Les ectomycorhizes, également connues sous le nom de mycorhizes externes, se distinguent par la formation d'un dense manchon d'hyphes fongiques entourant les racines des plantes, ce qui les rend souvent visibles à l'œil nu ou à la loupe. Elles pénètrent dans les tissus racinaires sans pénétrer dans les cellules, formant ainsi une enveloppe blanche autour des

radicelles. Cette enveloppe offre une résistance potentielle au gel et aux agents pathogènes, offrant ainsi une certaine protection aux racines.

Les ectomycorhizes peuvent pénétrer profondément entre les cellules, créant un réseau d'hyphes très ramifié et articulé appelé réseau de Hartig, en l'honneur du botaniste allemand qui l'a identifié. Ces associations se forment principalement avec des espèces d'arbres telles que les diptérocarpacées, les *Gymnospermes* (comme les pins, les sapins, les thuyas), les *Fagacées* (telles que les chênes), les *Myrtacées* (comme les eucalyptus), les *Salicacées*, les *Bétulacées* (dont le bouleau), et les *Fabacées*. Dans les régions tempérées, la plupart des arbres forestiers et d'autres espèces ligneuses sont étroitement liés aux ectomycorhizes, jouant un rôle crucial dans leur croissance. Plus de 60 genres de champignons, y compris des *Basidiomycètes* (agarics, bolets, amanites, lactaires), des *Zygomycètes* et des *Ascomycètes* (truffes), sont impliqués dans ce type de mycorhizes. *Pisolithus tinctorius* (Pers). *Coker* et *Couch* est reconnu pour son symbiose avec les pins (Courty, 2016).

De nombreux champignons ectomycorhiziens produisent des structures visibles à la surface du sol appelées "chapeaux" ou "carpophores". Parmi ceux-ci, certains sont comestibles, tels que les girolles ou chanterelles (*Cantharellus cibarius*) et les bolets (*Boletus* sp). Certains champignons, tels que les truffes du désert (genres *Terfezia*, *Tirmania* et *Leucangium*) ou les truffes noires (*Tuber melanosporum* Vittad), restent constamment sous terre, ce qui les caractérise comme des champignons "hypogés" (Figure 4).

3.3. Ectendomycorhizes

Les ectendomycorhizes présentent une structure intermédiaire entre les ectomycorhizes et les endomycorhizes. Elles possèdent un réseau mycélien intercellulaire et un manteau (généralement peu épais), caractéristiques des ectomycorhizes. Cependant, à l'instar des endomycorhizes, les hyphes des ectendomycorhizes franchissent les parois des cellules hôtes (Figure 4). Ce type de mycorhize est principalement formé par des champignons basidiomycètes

3.4. Effets bénéfiques des champignons mycorhiziens

Selon l'espèce du champignon, les pratiques et les conditions de culture, la mycorhization procure des avantages aux végétaux et à l'environnement, tels que :

- En plus de la nutrition minérale de la plante, les mycorhizes peuvent intervenir aussi dans la production de régulateurs de croissance (auxines).

- La résistance aux stress environnementaux, par exemple les mycorhizes permettent à la plante d'avoir un meilleur accès aux éléments nutritifs et à l'eau du substrat, ce qui favorise sa croissance et lui permet de mieux résister aux périodes de stress environnementaux comme la sécheresse, la salinité.
- Les composés organiques sécrétés par les hyphes extra-radiculaires ainsi que les hyphes eux-mêmes contribuent à l'agrégation des particules du sol, créant ainsi des microsites propices à la croissance et à la colonisation microbienne.
- La protection contre les pathogènes : Il semble aussi que les champignons mycorhiziens protègent la plante hôte contre les pathogènes en entraînant une compétition directe avec ces derniers pour les ressources énergétiques et pour les sites d'infection.
- L'amélioration de la croissance et du rendement des végétaux, etc.

1. Définition des PGPR

Le terme “rhizobactéries promotrices de croissance des plantes” (PGPR) a d’abord été utilisé pour désigner exclusivement le groupe microbien impliqué dans la lutte biologique (Kloepper et *al.*, 1980). Par la suite, sa signification a été élargie pour inclure toutes les bactéries bénéfiques associées aux plantes. Les PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) constituent un ensemble diversifié de bactéries qui résident dans la rhizosphère, la région du sol autour des racines des plantes. Ces bactéries ont la capacité d’améliorer, de manière directe ou indirecte, la qualité de la croissance des plantes de différentes manières, telles que la fixation de l'azote atmosphérique, la solubilisation des nutriments du sol, la production de phytohormones et la protection contre les pathogènes.

2. Principaux genres de PGPR

2.1. *Azospirillum*

Azospirillum est une bactérie en forme de spirale, Gram négatif et très mobile. Elle libère une variété d'hormones de croissance, notamment l'acide indole-3 acétique (AIA), l'acide gibbérellique, les cytokinines ainsi que des vitamines, stimulant ainsi l'expansion de la surface racinaire. Ces changements favorisent une absorption accrue de l'eau et des minéraux par la plante. En outre, cette symbiose permet la fixation de l'azote atmosphérique, ce qui contribue à stimuler la croissance et à améliorer les rendements des cultures (Andrew et *al.*, 2012).

2.2. *Bacillus*

Ces bactéries sont des bâtonnets Gram positif capables de former des endospores, leur permettant ainsi de survivre dans des conditions environnementales adverses pendant une longue durée. En tant que bactéries sporulées, elles colonisent le système racinaire des plantes lorsqu'elles sont appliquées aux semences (EPA, 2003).

2.3. *Pseudomonas*

Pseudomonas se présente comme un bacille mince, mesurant entre 1 et 5 µm de longueur et 0,5 à 1 µm de largeur (Chaker, 2012). Ce sont des bactéries Gram négatives, ayant une forme de bâtonnet. Ce sont des bactéries ubiquistes, fréquemment retrouvées dans les sols, et sont considérées comme les principaux candidats pour les PGPR (Saharan et Nohra, 2011).

2.4. *Azotobacter*

Les azotobacters sont des bactéries aérobies libres, hétérotrophes et diazotrophiques, utilisant le carbone et le sucre comme source d'énergie. Leur application dans la culture des céréales a été associée à une augmentation de l'azote fixé biologiquement (Kanungo et al., 1997).

2.5. *Acétobacter*

Les *Acétobacters* sont des bactéries présentant des cellules en forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés. Elles peuvent parfois être mobiles grâce à des flagelles péritrichés ou latéraux, elles sont diazotrophiques et peuvent tolérer des milieux acidifiés (James et al., 1994).

2.6. *Azorhizobium*

Les *Azorhizobiums* se présentent sous forme de bâtonnets très similaires aux rhizobiums, avec une ciliation polaire et péritrichée. Des études ont montré que l'*Azorhizobium caulinodans* augmente le poids sec et la teneur en azote du blé dans des serres expérimentales (Mathews et al., 2001).

2.7. *Frankia*

Frankia sont des bactéries fixatrices d'azote à Gram positif, qui peuvent vivre soit librement dans la rhizosphère, soit en symbiose avec des plantes actinorhiziennes non légumineuses (Bogusz et Franche, 2020). *Frankia* est classé comme un actinomycète en raison de ses caractéristiques morphologiques et biochimiques.

3. Mode d'action des PGPR

Les mécanismes d'action des PGPR sont classés en mécanismes directs et indirects. En général, les mécanismes directs agissent à l'intérieur de la plante et ont un impact direct sur son métabolisme, tandis que les mécanismes indirects se produisent à l'extérieur de la plante (Antoun and Prévost, 2006).

Les PGPR agissent directement sur les plantes en fournissant des nutriments, en stimulant la croissance par la production de phytohormones, en améliorant la résistance aux stress et en protégeant les plantes contre les pathogènes. (Glick, 2014;). le mécanisme indirect des PGPR repose sur leur capacité à modifier l'environnement rhizosphérique, à induire la résistance des plantes aux maladies, à concurrencer les agents pathogènes et à améliorer la disponibilité des nutriments. (Figure 7) (Aeron et al., 2011).

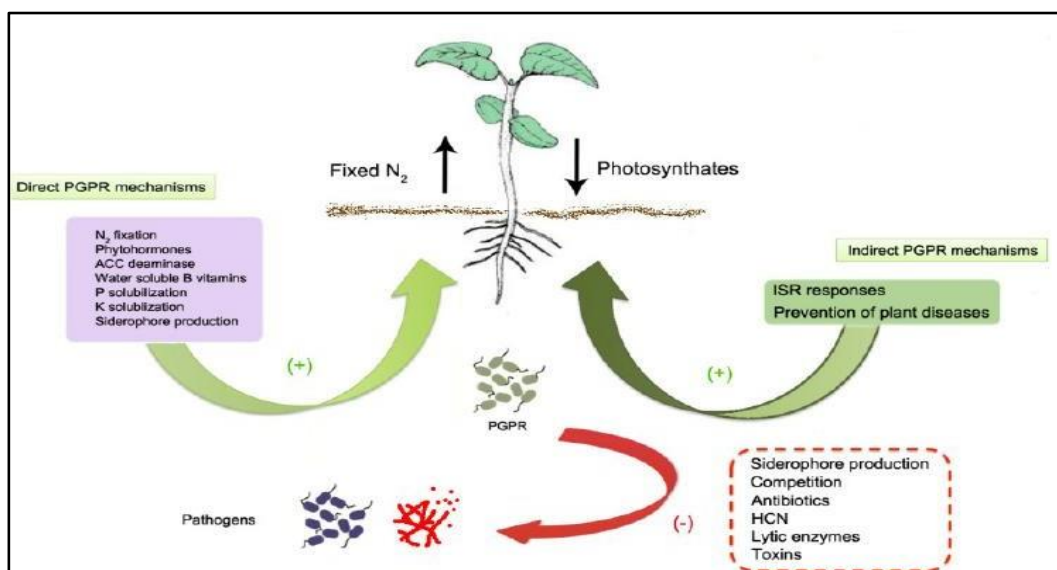


Figure : Modes d'action des PGPR Garcia Fraile et *al.*, 2015).

3.1. Mode d'action direct

3.1.1. Fixation d'azote

Les bactéries fixatrices d'azote sont divisées en deux catégories distinctes, les bactéries symbiotiques qui établissent une association avec les racines des légumineuses, et les bactéries fixatrices d'azote libres. Bien que les fixateurs d'azote libres ne pénètrent pas directement dans les tissus des plantes, une relation étroite s'établit lorsqu'ils résident à proximité des racines. Dans ce cas, l'azote atmosphérique fixé par les bactéries est absorbé par la plante. Cette interaction est souvent qualifiée de symbiose non spécifique.

3.1.2. Solubilisation de phosphate

La solubilisation du phosphate est un mécanisme par lequel certaines bactéries transforment le phosphate présent dans le sol d'une forme insoluble à une forme soluble, rendant ainsi ce nutriment vital plus accessible aux plantes. La solubilisation du phosphate est crucial pour la croissance des plantes, notamment pour la formation de l'ADN, des membranes cellulaires et la régulation métabolique.

Les microorganismes de la rhizosphère utilisent les sucres des exsudats racinaires, les métabolisent pour produire des acides organiques (Figure 8) (Goswami et *al.*, 2014). Ces acides, libérés par les microorganismes, agissent comme des chélateurs efficaces des ions Ca_2^+ accompagnant la libération de phosphates à partir de composés insolubles.

Le phytate, un sel d'hexaphosphate d'inositol, représente la principale forme de phosphate organique. Bien que les microorganismes produisent des phytases capables de hydrolyser le phytate, celui-ci a tendance à former des complexes insolubles avec le fer, l'aluminium et le calcium, ce qui entraîne son accumulation dans les sols (Jha *et al.*, 2012).

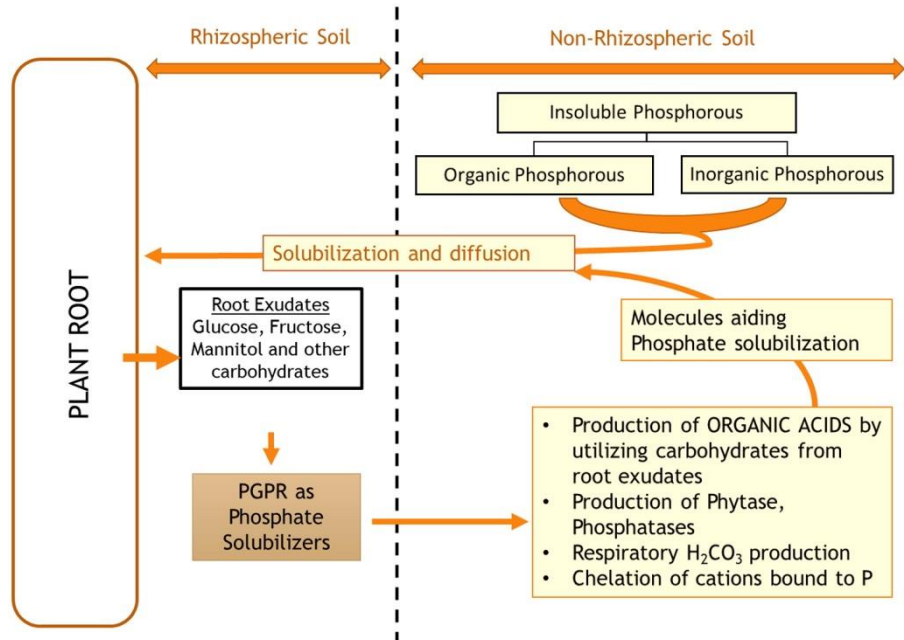


Figure 8 : solubilisation du phosphore utilisé par le PGPR (Goswami *et al.*, 2016).

3.1.3. Production de phytohormones

Les PGPR sont connus pour leur capacité à produire différentes phytohormones qui influencent la croissance et le développement des plantes.

3.1.3.1. Auxine : Acide indole-3-acétique (IAA)

Les phytohormones, notamment les auxines, régulent divers processus de croissance et de développement des plantes, comme l'allongement cellulaire, la division cellulaire, la différenciation tissulaire, et favorisent la dominance apicale. L'IAA produit par les rhizobactéries a un impact significatif sur le système racinaire, en favorisant l'augmentation de sa taille, de son poids, du nombre de ramifications et de la surface en contact avec le sol. Ces modifications contribuent à renforcer la capacité de la plante à explorer le sol pour l'échange de nutriments. La plupart de ces PGPR utilisent le L-tryptophane, présent dans les exsudats racinaires, comme matière première pour la synthèse d'IAA (Jha et Saraf, 2015).

3.1.3.2. Cytokinines

Les cytokinines régulent la division cellulaire, l'éveil des bourgeons dormants, la germination des graines, la ramification, la croissance racinaire, la production de chlorophylle, l'expansion foliaire et le retardement de la sénescence (Salisbury et Ross, 1992). De nombreuses PGPR, telles que *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*, entre autres, ont été identifiées comme productrices de cette hormone (Arkhipova et al., 2007).

3.1.3.3. Gibbérellines

Les gibbérellines sont des acides diterpénoïques composés de résidus isopréniques. Elles influencent la division et l'allongement des cellules, et sont impliquées dans divers processus de développement tels que la germination des graines, la floraison, la fructification, et le retard de la sénescence dans de nombreux organes d'une variété d'espèces végétales (Mac Millan, 2002). La capacité des bactéries à synthétiser des gibbérellines a été d'abord observée chez *Rhizobium* (Williams and Sicardi de Mallorca, 1982), puis chez divers genres bactériens présents dans le système racinaire des plantes, notamment *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, etc.

3.1.3.3. Régulation d'éthylène et production d'ACC désaminase

L'éthylène est une hormone végétale impliquée dans la régulation de divers processus de développement et de réponse au stress chez les plantes. Bien que les PGPR ne produisent généralement pas directement d'éthylène, certaines PGPR peuvent influencer la production d'éthylène par les plantes hôtes. Par exemple, elles produisent l'enzyme ACC désaminase qui dégrade l'ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate), un précurseur de l'éthylène, réduisant ainsi les niveaux d'éthylène dans les plantes et atténuant les effets du stress environnemental, comme le stress hydrique, l'absorption de métaux lourds, la salinité etc. (Glick, 2014).

3.1.4. Production des sidérophores

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire produites par certaines PGPR, pour chélater le fer, facilitant ainsi son absorption et son utilisation par les plantes. Certains microorganismes ont développé des stratégies de compétition efficaces pour séquestrer le fer du milieu environnant, utilisant des molécules appelées sidérophores (Kuffner et al., 2008).

3.2. Mode d'action indirect

3.2.1. Antibiose et parasitisme

L'antibiose est la capacité de certaines bactéries PGPR à produire des substances antimicrobiennes, qui inhibent la croissance ou tuent les pathogènes des plantes. Il se traduit par une inhibition directe de la croissance du pathogène grâce à la production de métabolites dotés de propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. De plus, certaines souches de lutte biologique ont la capacité de produire des enzymes telles que la chitinase, la glucanase, la protéase et la lipase, qui peuvent lyser les cellules fongiques (Chet et Inbar, 1994).

3.2.2. Résistance Systémique Induite (ISR)

De nombreuses PGPR sont capables de déclencher une résistance systémique induite (Induced Systemic Resistance ou ISR) chez la plante hôte, ce qui confère à la plante une protection contre les attaques ultérieures de phytopathogènes en stimulant les mécanismes de défense systémique (Pieterse et *al.*, 2014).. La transmission du signal déclenché par la détection de l'agent pathogène implique diverses voies où l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène sont des acteurs clés. Néanmoins, ces voies interagissent et se combinent avec d'autres mécanismes pour créer un réseau de régulation adaptable, permettant à la plante de déclencher une réponse défensive spécifique adaptée à la nature du pathogène, qu'il s'agisse d'un virus, d'une bactérie, d'un champignon, d'un insecte ou d'un nématode (De Vos et *al.*, 2005).

3.2.3. Compétition pour l'espace et les nutriments

La colonisation des racines par bactéries bénéfiques peut instaurer une compétition pour les éléments nutritifs indispensables à la survie et au développement des pathogènes dans la rhizosphère. L'exemple le plus connu de la compétition pour le fer, est celui de certaines bactéries du genre *Pseudomonas* antagonistes de divers champignons pathogènes. Ces bactéries sont capables de synthétiser des sidérophores, qui sont des molécules chélatrices du fer nécessaire pour leur croissance. En chélatant les ions ferriques dans la rhizosphère par exemple, elles rendent ainsi indisponibles pour le champignon pathogène (Haas et Defago, 2005).

4. Utilisation des PGPR dans l'agriculture

4.1. Biofertilisation

Le terme "biofertilisant" est souvent employé pour désigner certains microorganismes capables d'améliorer l'état nutritionnel de leurs plantes hôtes. Lorsqu'ils sont appliqués aux graines, aux surfaces des plantes ou au sol, ces microorganismes colonisent la rhizosphère ou les parties internes de la plante (Vessey, 2003). Cette colonisation favorise la croissance de l'hôte en augmentant l'apport ou la disponibilité de nutriments primaires, notamment par la fixation de N₂. Des bactéries telles qu'*Azospirillum*, *Acetobacter*, *Azobacter*, etc. sont utilisées comme biofertilisants en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique.

4.2. Phytoremédiation

La phytoremédiation est une méthode de décontamination des sols pollués qui repose sur la capacité de certaines plantes à stabiliser, extraire, dégrader ou volatiliser les polluants présents dans leur environnement (Pilon-Smits, 2005). Comparée à d'autres méthodes de décontamination, la phytoremédiation utilisant des PGPR semble être rentable et ne pas altérer la structure du sol. En effet, les rhizobactéries peuvent renforcer la tolérance des plantes à des concentrations élevées de divers polluants du sol (Dimkpa et al., 2009).

4.3. Bioprotection ou phytostimulation

Certaines bactéries qui colonisent les racines des plantes jouent un rôle crucial dans la protection de leurs hôtes contre divers stress biotiques et abiotiques.

Les microorganismes bénéfiques utilisés en bioprotection peuvent agir de différentes manières pour protéger les plantes. Certains produisent des substances antimicrobiennes qui inhibent la croissance des agents pathogènes, tandis que d'autres stimulent le système immunitaire des plantes pour renforcer leur résistance aux maladies. Certains microorganismes peuvent également coloniser la rhizosphère des plantes (Pieterse et al., 2014).

Les substances utilisées pour la phytostimulation agissent souvent en modifiant les processus métaboliques et physiologiques des plantes. Elles peuvent stimuler la croissance des racines, améliorer l'absorption des nutriments, augmenter la résistance aux stress environnementaux et favoriser la floraison et la fructification (Mittler, 2006).

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage des plantes nodulant *Vicia faba*

Les nodules ont été obtenus à partir des racines de la fève (*Vicia faba*). Située dans la région de Mila et Constantine (Figure 9).



Figure 9: Localisation géographique de la zone de prélèvement.

1.1. Collecte des nodules

La technique utilisée est celle présentée par Vincent (1970), Smasegaran et Hben (1994), il s'agit de creuser environ 15 cm autour de la plante, et 20 cm en profondeur dans le sol pour pouvoir extraire aisément la plante avec son appareil racinaire (Figure 10). On se débarrasse manuellement de la terre entourant les racines, sans endommager les nodules, on coupe par la suite les racines et on les place dans des sacs en plastique et transporter immédiatement au laboratoire.



Figure 10 : Racines nodulées de *Vicia faba*

Au laboratoire, les racines sont délicatement lavées à l'eau, des restes de terre. Les nodules sont détachés à 1-2 mm du site d'attache, puis séchés avec du papier filtre avant leur conservation.

1.2. Conservation des nodules

Pour un usage immédiat, les nodules frais sont mis au réfrigérateur à 4°C jusqu'à 48 heures. Pour une longue conservation allant de 6 à 12 mois, il est recommandé d'utiliser un dessiccateur qui est le chlorure de Calcium (CaCl_2) (Vincent, 1970).

La conservation des nodules se fait dans un flacon en verre contenant du CaCl_2 (meilleure absorption de l'humidité), du coton (environ 1cm au-dessus du CaCl_2), puis on rajoute les nodules secs. Le volume du flacon utilisé ne doit pas dépasser les $\frac{3}{4}$ du volume total (Figure 11).

Chaque flacon doit être étiqueté pour indiquer : le nom de la plante, la date de conservation, et le lieu de collecte. Les flacons sont mis immédiatement au réfrigérateur à 4°C.



Figure 11 : Conservation des nodules sous CaCl_2

1.3. Isolement des rhizobia à partir des nodules

La technique utilisée est la même que celle citée par Vincent (1970), Samasegaran et Hoben (1994), Date (1982) et Beck et coll. (1993) consiste à:

1.3.1. Stérilisation des nodules

- Si les nodules sont frais, ils seront détachés à l'aide d'une pince.

- Si les nodules sont déshydratés : ils seront réhydratés dans l'eau distillée stérile une nuit au réfrigérateur.
- Les nodules intacts sont immergés dans l'éthanol 95% pendant 5 à 10 secondes, puis Hypochlorite de calcium Ca (ClO)₂ 3% pendant 3 minutes.
- Rincer les nodules 10 fois dans l'eau distillée stérile, au dernier rinçage, ils sont laissés à gonfler pendant 10 min.

1.3.2. Ecrasement des nodules

- Les nodules stériles sont isolés et placés individuellement dans une goutte d'eau distillée stérile à l'intérieur d'une boîte de pétri en verre stérile, ou ils sont ensuite écrasés.
- Ensuite, les nodules sont écrasés avec une pince stérilisée par immersion dans l'éthanol et flambage au bec Bunsen.

1.3.2. Isolement des nodules

- A l'aide d'une anse de platine, prélever le broyat d'un nodule et l'inoculer sur une boîte de pétri contenant du milieu YMA avec RC (Annexe 1), et à partir du même broyat, ensemercer un milieu YMA avec BTB selon la technique d'isolement par la méthode des cadrans (Figure 12).
- L'ensemencement est réalisé selon la technique des quatre quadrants de manière à isoler des simples colonies.
- Incuber les boîtes à l'obscurité à une température de 28 °C pendant 3 à 5 jours.

Les manipulations ont été effectuées dans des conditions microbiologiquement contrôlées, à proximité de deux becs bunsen assurant la stérilité.

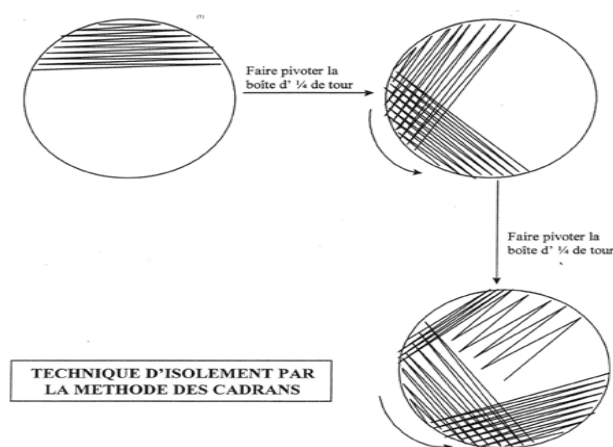


Figure 12 : Ensemencement par la technique des cadrans

1.4. Caractères cultureux

1.4.1. Principaux milieux de culture utilisés

Différents milieux sont utilisés dans cette première phase de l'expérience, avec leur composition mesurée en grammes par litre d'eau distillée (Annexe1).

Les milieux de culture doivent contenir les sources d'énergie nécessaire à la croissance des bactéries, pour cela nous avons préparé les milieux spécifiques suivants :

Milieu liquide: YMB (yeast Mannitol Broth)

Milieu solide: YMA (yeast Mannitol Agar)

YMA + RC (yeast Manitol Agar + Rouge congo)

YMA+BTB (yeast manitol Agar + Bromothymol Blue)

L'autoclavage des milieux se fait à 120 °C pendant 20 minutes.

1.4.2. Purification des isolats

Après avoir identifié les isolats en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques par culture sur divers milieux (Vincent, 1970 ; Somasegaran and Hoben., 1994), il est nécessaire d'effectuer des repiquages réguliers afin d'obtenir des isolats homogènes et ainsi assurer leur purification.

La méthode consiste à ensemencer des tubes contenant 5 ml de YMB et des boîtes de pétri contenant le milieu YMA + RC puis mettre dans l'étuve de 28°C pendant 48 à 72 heures. De l'examen microscopique (coloration de Gram) et morphologique sont enfin réalisés.

1.4.3. Coloration de Gram

La coloration permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et de les utiliser pour distinguer et classer les bactéries. Son avantage réside dans la capacité de classer les bactéries en deux grands groupes : les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives.

2. Observation microscopique des racines mycorhizées du poireau

2.1. Prélèvement des racines

Les échantillons du Poireau de sol sont prélevés à une profondeur de 10 à 15 cm, incluant l'ensemble de la plante et son système racinaire (Figure 13).



Figure 13 : Racines du Poireau

2.2. Lavage et séparation des racines

Laver soigneusement les racines avec de l'eau pour éliminer toutes les particules de sol.

- Laissez les racines du poireau dans l'eau pendant une nuit.
- Rincer autre fois les racines des plantes sous l'eau du robinet. Sélectionnez les plus jeunes et coupez-les en morceaux de 4 à 5 mm de longueur.

2.3. Stabilisation et coloration

2.3.1. Stabilisation et décoloration avec une solution de KOH

- Placez les morceaux des racines dans un tube à essai contenant une solution de potasse à 10 % (Figure 14). Ensuite, chauffez le tube dans un bain-marie à 95°C pendant 30 minutes. Évitez de mettre beaucoup de racines dans un seul tube.
- Éliminer la potasse et rincer avec de l'eau acidifiée pour neutraliser.



Figure 14 : Les racines dans la potasse après chauffage.

2.3.2. Coloration avec bleu de méthylène

- Verser environ 2 ml de la solution de coloration (Annexe 2) dans chaque tube, puis chauffer au bain-marie à 95°C pendant 15 minutes.
- Utilisez de l'éthanol à 70% pour enlever l'excès de colorant en effectuant un lavage rapide.
- Jeter l'éthanol et rincer avec de l'eau acidifiée à 1% d'acide acétique

Remarque :

Les deux dernières étapes peuvent être répétées plusieurs fois en cas de forte coloration des échantillons (Figure 15).



Figure 15 : Racines colorées au bleu de méthylène

2.3.3. Observations microscopique

Un échantillon de racines et placez entre lame et lamelle avec une goutte d'eau distillée et observer avec grossissement x40.

3. Solubilisation du phosphore par une souche de *Bacillus* PGPR

Afin de voir la capacité des souches à solubiliser l'une des formes insolubles de phosphore présente dans le sol qui est le phytate, une souche bactérienne du genre *Bacillus* a été testée en utilisant le milieu (NBRIP) (Annexe 3) contenant le phytate comme seule source de phosphate (Nautiyal, 1999). Le phytate est une forme de phosphate non assimilée par les plantes. La souche a été ensemencée par touche sur le milieu NBRIP, la boîte est ensuite incubée pendant 8 jours à 28°C. La présence d'un halo autour des colonies après la période d'incubation indique la capacité des souches à solubiliser cette forme de phosphate complexe.

Résultats et discussion

1. Caractère morphologique des isolats

1.1. Etude morphologique et culturale

Afin d'identifier les isolats nodulant de la Fève (*Vicia faba*), nous nous sommes basé sur l'étude des caractéristiques morphologiques et culturales des colonies poussant sur différents milieux sélectifs pour la croissance de *Rhizobium*.

1.1.1. Croissance sur milieu YMA + rouge Congo

Les colonies sont de couleur blanche ou occasionnellement rose, donc les isolats absorbent peu ou pas le rouge Congo (figure 16). Ceci confirme la pureté des colonies. En présence des contaminants, les colonies absorbent le rouge Congo et apparaissent de couleur rouge.

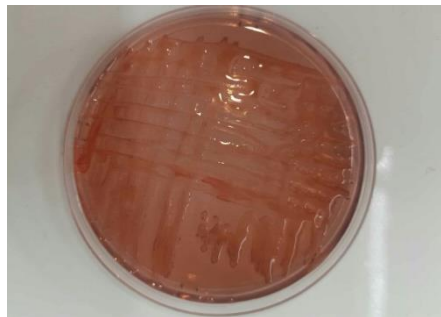


Figure 16 : Colonie issue d'un isolement sur milieu YMA+RC

1.1.2. Croissance sur milieu YMA + bleu de bromothymol (YMA+BTB)

Après 72 heures d'incubation, on observe l'apparition de la colonie sans changement de la couleur du milieu en jaune, indiquant l'absence d'acidification du milieu (Figure 17). Ce résultat ne permet pas de déterminer la vitesse de croissance des isolats. Ce qui peut s'expliquer par l'incapacité de certaines souches de *Rhizobium* à produire des acides organiques (Vincent, 1970 ; Somasegaran et Hoben, 1994).



Figure 17 : Croissance des bactéries sur milieu YMA+BTB

1.2. Aspect microscopique des isolats

L'observation microscopique de nos isolats a permis d'observer des bâtonnets Gram négatif (Figure 18), ce qui est compatible avec la coloration de Gram des rhizobiums (Vincent (1970). En effet l'analyse génétique est souvent nécessaire pour classer les bactéries du genre *Rhizobium*.

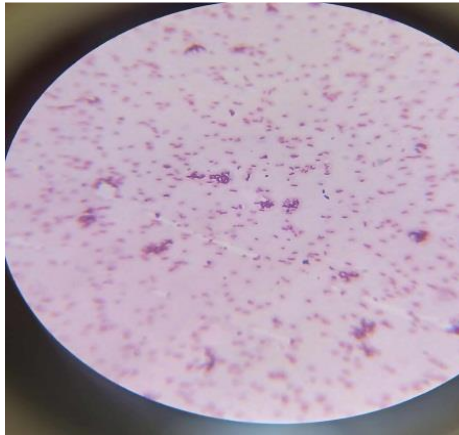


Figure 18 : Observation microscopique de l'isolat (objectif x 100) après coloration de Gram

Les caractéristiques morphologiques, culturelles et microscopique de nos isolats nodulant la légumineuse *Vicia faba* sont cohérentes avec celles observées par d'autres auteurs lors de la caractérisation du genre *Rhizobium* (Vincent, 1970 ; Somasegaran et Hoben, 1994). Cependant, les analyses génétiques sont indispensables pour confirmer l'appartenance de nos isolats à ce genre.

2. Observation microscopique des racines endomycorhizées du poireau

Après la coloration des racines par le bleu de méthylène ont à observer la coloration des champignons mycorhizes. On distingue des arbuscules à l'intérieur de certaines cellules racinaires (structure d'échange entre partenaires) et des vésicules entre les cellules (c'est une structure de réserve pour le champignon). On voit parfois aussi des hyphes externes, qui ne sont jamais cloisonnés. Il s'agit donc des endomycorhizes à arbuscules (Figure 19).

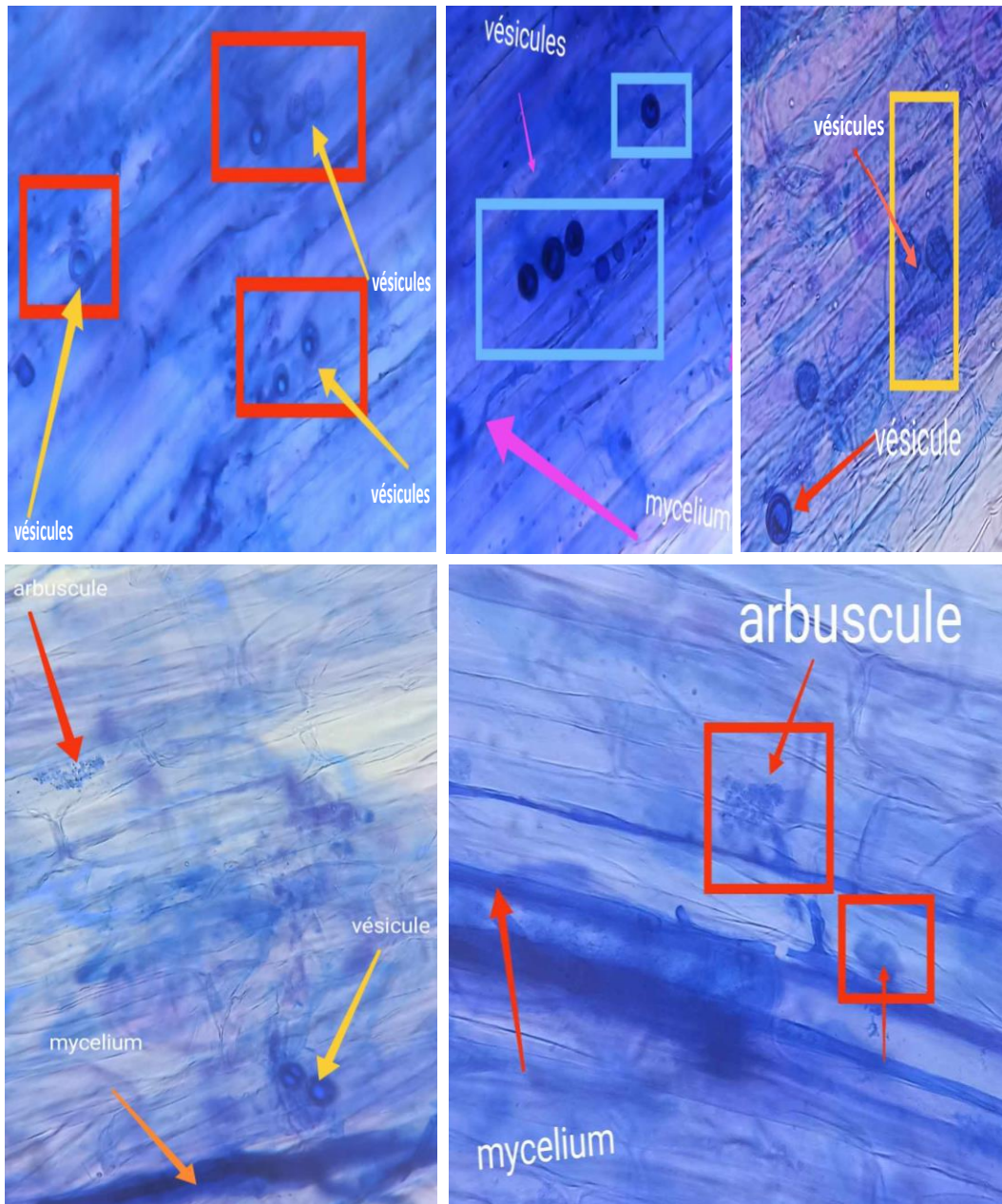


Figure 19 : Observation microscopique des racines endomycorhizées du Poireau.

Les résultats de l'observation microscopique des racines endomycorhizées du poireau, ont montré la présence d'arbuscules, de vésicules et de mycélium. Ces structures suggèrent une association symbiotique entre le poireau et des champignons endomycorhiziens. Les arbuscules sont des structures où a lieu l'échange de nutriments entre le champignon et la plante hôte, tandis que les vésicules sont des réservoirs de nutriments. Le mycélium est le réseau de filaments fongiques qui colonise les racines de la plante, facilitant ainsi l'absorption et le transport des nutriments (Bonfante and Genre, 2010 ; Garbaye, 2013).

3. Solubilisation du phosphore par *Bacillus*

L'étude de la capacité des isolats bactériens à libérer le phosphate minérale a été réalisée avec un test qualitatif sur milieu solide NBRIP.

Cette méthode a été réalisée sur un milieu contenant le phytate comme seule source de phosphore, les bactéries qui croissent sur ce milieu, indique leur capacité à solubiliser la phytate, cette solubilisation est traduite par la présence d'un halo autour de la colonie bactérienne (Figure 20).

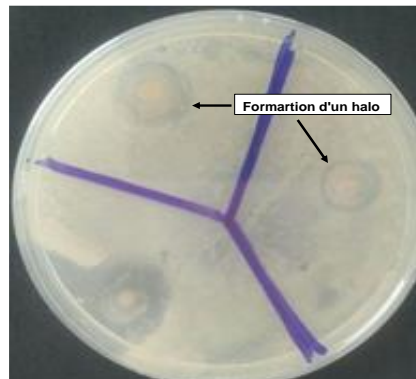


Figure 20 : Solubilisation du phytate sur le milieu (NBRIP) par les PGPR.

Les résultats de notre étude ont montré que la bactérie PGPR du genre *Bacillus* a la capacité de libérer le phosphate contenu dans le phytate, ce qui contribue à améliorer la disponibilité en phosphate pour les plantes et favoriser leur croissance et leur rendement (Rodriguez and Fraga, 1999).

Conclusion

Les résultats de l'étude morphologique, culturale après la croissance des isolats sur les milieux sélectifs et leur aspect microscopique, nous ont permis de sélectionner des isolats qui peuvent appartenir au genre *Rhizobium* selon les caractéristiques soulignées par Vincent (1970) et Jordan (1984). Cependant les analyses génotypiques des isolats sont cruciales pour confirmer leur classification.

L'observation des racines du poireau colorées au bleu de méthylène révèle la présence des structures caractéristiques des champignons endomycorhizes à arbuscules, notamment des arbuscules de structures ramifiées qui se forment à l'intérieur des cellules racinaires de la plante hôte. Elles sont responsables de l'échange de nutriments entre les deux partenaires. des vésicules observés entre les cellules, ont un rôle dans le stockage des nutriments, la troisième structure observée est le mycélium, qui augmente la capacité d'absorption des racines de la plante. Ainsi, il est évident que le poireau établit une association symbiotique avec des champignons endomycorhiziens.

Les résultats obtenus pour le test de solubilisation de phosphore montrent que la bactérie *Bacillus*, a la capacité d'utiliser le phytate comme seule source et libérer ainsi le phosphate contenu dans ce substrat. Dans le sol, ce phosphate est absorbé par les racines des plantes, favorisant ainsi leur croissance.

Les microorganismes rhizosphériques bénéfiques sont des acteurs clé dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes. Leur utilisation en agriculture pourrait représenter une stratégie durable pour augmenter la productivité des cultures tout en réduisant l'usage des engrais chimiques et des pesticides, les chercheurs futurs devraient se concentrer sur l'identification de nouvelles souches potentiellement bénéfiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aeron A., Kumar S., Pandey P., Maheshwari DK. (2011). Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In D. K : Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiolgy: Crop ecosystems* 1–36.

Andrews M., Cripps MG., Edwards GR. (2012). The potential of beneficial Microorganisms in agricultural systems. *Ann. Appl. Biol.* 160, 1-5.

Antoun H., Prévost D. (2006). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In ZA. Siddiqui (Ed.), *PGPR: Biocontrol and biofertilization* (pp. 1–38).

Arkipova TN., Prinsen EA., Veselov SU., Martinenko EV., Melentiev AI., Kudoyarova GR. (2007). Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant and soil*, 292: 305-315.

Badri DV., Vivanco JM. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 6: 666-681.

Bergey DH., Harrison FC., Breed RS., Hammer BW., Huntoon FM. (1923). Bergey's Manuel of determinative Bacteriology. The Williams & Wilkins, Baltimore.

Berruti A., Borriello R., Orgiazzi A., Barbera AC., Lumini E., Bianciotto V. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi and their value for ecosystem management. Biodiversity: The Dynamic Balance of the Planet. *InTech, Rijeta*, Croacia, 159-191.

Bloodink ED. (2020). Les mycorhizes : de grandes alliées pour vos plantes. *Premier Tech Horticulture* [en ligne], (page consultée le 22/05/2020). <https://www.pthorticulture.com/fr/zone-du-savoir/les-mycorhizes-de-grandes-alliees-pour-vos-plantes/>.

Bonfante P., Genre A. (2010). Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interaction in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 1, 1-11.

Brady, Nyle C., Weil, Raymond R. (2016). "The Nature and Properties of Soils." Edition. Pearson.

CHAKER H. (2012). Regulation de l'adaptation de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* a Son hote: implication des metabolites du tryptophane.

Chet I., Inbar J. (1998). Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochen.*

Biotechnol, 48: 37-43.

Cleland EE., Herpole WS. (2010). Nitrogen enrichment and plant communities.

Annals of the New York Academy of Sciences, 1195: 46-61.

Courty PE., et al. (2016). Species-specific response of the extraradical mycelium of ectomycorrhizal fungi to the stimulation of root by exudates of primary growth in beech (*Fagus sylvatica* L.). *Mycorrhiza*, 8, 721-730.

Daniel R. (2012). biologie tout le cour en fiche cycle de l'azote 2 édition paris.éditeur de savoir

De Vos M., Van Osten VR., Van Poecke RMP., Van Pelt JA., Pozo MJ., Muller MJ., Buchala AJ., Métraux JP., Van Loon LC., Dicke M. (2005). Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Mol. Plant Microbe Interact*, 18: 923-973.

Didier B., Claudine F, (2020). Frankia and the actinorhizal symbiosis. Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818469-1.00030-4>. Pages 367-380.

Dimkpa CO., Merten D., Svatos A., Buchel G., Kothe E. (2009). Metal-induced oxidative stress Impacting plant growth in contaminated soil alleviated by microbial siderophores. *Soil Biol. Biochem*, 41: 154-162.

Duhoux M., Nicole M. (2004). Biologie Végétale. Associations et Interactions chez les plantes. Dunod. Efron, B. 1979. Bootstrap methods: another look at the jackknife. *Annals of Statistics*. 7: 1–26.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2003). *Bacillus subtilis* TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision. Document. <http://www.epa.gov>.

Estrade JR. (2013). Le sol, patrimoine vivant. *Revue pour* [en ligne], 220 (page consultée le 04/2013). <https://www.cairn.info/revue-pour-2013-4-page-53.htm>

Franche C., Lindstrom K., Elmerich C. (2009). « Nitrogen-fixing bacteria associated with Leguminous and non-leguminous plants. » *Plant and Soil*, 321: 35-59.

Galloway JN., et al. (2004). Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions. *Science*, 320 : 889-892.

Garbaye J. (2013). La symbiose mycorhizienne Une association entre les plantes et les champignons. *Editions Quae*, Versailles.

- Gérard T., Marouf A. (2021).** Abrégé de biologie végétale appliquée: les mycorhizes. France. Publisher: EDP Sciences.
- Giovannetti M., Avio L., Sbrana C. (2010).** Fungal spore germination and pre-symbiotic mycelial growth: physiological and genetic aspects. Dans: Koltai H., Kapulnik Y (Eds) Arbuscular mycorrhizas: Physiology and Function, 2nd Edition.
- Glick BR. (2014).** Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 1: 30-39.
- Goswami D., Dhandhukia P., Patel P., Thakkeer JN. (2014).** Criblage du PGPR du desert salin de kutch: promotion de la croissance d'Archis hypogea par Bacillus licheniformis A2. Recherche microbiologique,169: 66-75. est ce que je: 10.1016/j.micres.2013.07.004
- Haas D., Defago G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 4: 307-319.
- Halle F. (2008).** Aux origines des plantes, tome 1, Francis Hallé , Fayard (Paris).
- Hinsinger P., Bengough AG., Vetterlein D., Young IM. (2009).** Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil*, 321: 117-152.
- Hocher V., Auguy F., Gherbi H., Svistoonoff S. (2009).** Les symbiose actinorhiziennes fixatrices d'azote: un exemple d'adaptation aux contraintes abiotiques du sol. *Cahiers Agricultures*, 6: 493-497.
- James EK., Reis VM., Olivares FL., Baldani JL., Dobereiner J. (1994).** Infection of Sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium Acetobacter diazotrophicus. *Journal of Experimental Botany*, 45, 757-766.
- Jha C K., Saraf M. (2015).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : A review. *E3 Journal of Agricultural Research and Development*, 5: 108–119.
- Jha CK., Patel B., Saraf M. (2012).** Stimulation of the growth of Jatropha curcas by the plant growth promoting bacterium Enterobacter cancerogenus MSA2. *World Journal of Microbiology and biotechnology*, 28: 891-899.

- Kanungo PK., Ramakrishnan B. (1997).** Placement effect of organic sources on Nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria in flooded rice soils. *Biology and Fertility of soils*, 25, 103-108.
- Kloepper JW., leong J., Tecutze M., Scorth MN. (1980).** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature*. 286: 885- 886.
- Kuffner M., Puschenreit M., Weishammer G., Gorfer M., Sessitsch A. (2008).** Rhizospher bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant and soil*, 1: 35-44.
- Lafond-Lambert C. (2014).** La morphogénèse d'hyphes toruleux chez l'actinomycète *Frankia* spp. Mémoire présenté au Département de biologie en vue de l'obtention du grade de Maitre ès science (M.sc.): Biologie. Université De Sherbooke, 109.
- Lemanceau P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie*, 12 : 413-437.
- Lindström K., Murwira M., Willems A., Altier N. (2010).** The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia. *Research in Microbiology*. 161: 453–463.
- Lugtenberg B., Kamilova F. (2009).** Plant-growth-promoting rhizobactéria. *Annu Rev Microbiol* [en ligne], 63 : 541-56 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19575558/>.
- Mac Millan J. (2002).** Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. *J. Plant Growth Regul*, 20: 387-442.
- Magrini MB, Bedoussac L. (2017).** Les légumineuses : Définition. Dictionnaire d'Agroécologie [en ligne], (La page 24/05/2017). <https://dicoagroecologie.fr/dictionnaire/les-legumineuses/>
- Marlenviissac. (2020).** Introduction aux champignons mycorhiziens arbusculaires - 2/6. [en ligne].(page consulté le 3 juin 2024). https://www.phaleciacie.com/post/introduction-aux-champignons-mycorhiziens-arbusculaires-2_6
- Mathews S., Sparkes DL., Bullard MJ., (2001):** The response of wheat to inoculation with the diazotroph *Azorhizobium caulinodans*. *Aspects of Applied biology*, 63, 35-42.
- Mittler R. (2006).** Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 1: 15-19.

Morton JB. (1990). Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. *Mycologie*, 82,192-207.

Mousavi SA., Österman J., Wahlberg N., Nesme X., Lavire C., Vial L., Lindström K. (2014). Phylogeny of the Rhizobium–Allorhizobium–Agrobacterium clade supports the delineation of Neorhizobium gen. nov. *Systematic and applied microbiology*, 3, 208-215.

Ott T, van Dongen JT, Gunther C, Krusell L, Desbrosses G, Vigeolas H, Bock V, Czechowski T, Geigenberger P, Udvardi MK. (2005). Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Current Biology*. 15: 531–535.

Paul EA., Clark FE. (2015). Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry (Fourth Edition). Academic Press.

Paula GF., Esther M, Raúl .(2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, 3: 183-205.

Perry JJ., Staley JT, Lory S. (2004). Microbiologie. Edition Dunod, Paris.

Pieterse CM., Zamioudis C., Berendsen RL., Weller DM., Van Wees SC., Bakker PA. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52: 347-375.

Pilon-Smits E. (2005). Phytoremediation. *Ann. Rev. Plant Biol*, 66: 48-955.

Pujic P, Normand P. (2009). La symbiose racinaire entre la bactérie Frankia et les plantes actinorhiziennes. *Biofuture*. 298 : 26–29

Raaijmakers JM., Paulitz TC., Steinberg C., Alabouvette C., Moënne-Loccoz Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 321: 341-361.

Rodriguez H., Fraga R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 4-5, 319-339.

Saharan BS., Nehra V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical

review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21: 1-30.

Selami N. (2017). « Associations symbiotiques » destine aux étudiants de deuxième année master en biotechnologie et génomique végétale.

Vessey JK. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant soil*, 255: 571-58

Williams PM., Sicardi de Mallorca M. (1982). Abscisic acid and gibberellin-like substance in root nodule of *Glycine max.* *Plant Soil*, 65: 19-26.

Annexes

Annexe 1

Milieux de culture et solutions utilisées

Composition de milieu YMB (Yeast Manitol Broth) en g/l (Vincent., 1970)

Manitol	10.00
K ₂ HPO ₄	0.50
NaCl	0.10
MgSO ₄ 7(H ₂ O)	0.20
Extrait de levures	0.50
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8
Autoclavage	120°C pendant 20min

Composition de milieu YMA+ Rouge Congo en g/l

YMB	1000 ml
Solution stock de Rouge Congo	10 ml
Agar	18
pH	6,8
Autoclavage	120°C pendant 20

Après l'ajustement de pH on ajoute 10 ml de Rouge Congo (0.25 g Rouge Congo dans 100 ml d'eau distillé) puis on ajoute l'agar.

Composition de milieu YMA+ BTB (bleu de Bromothymol) en g/l

YMB	1000 ml
Solution stock de bleu de Bromothymol	5 ml
Agar	15
pH	6,8
Autoclavage	120°C pendant 20 min

Après ajustement de pH on ajoute 10ml de bleu de Bromothymol (0.5g BTB dans 100ml D'éthanol), puis on ajoute l'agar.

Annexe 2

Goloration de Gram

le protocole expérimental consiste à:

- Effectuer un frottis ou une extension.
- Fixer la préparation à la flamme sans dépasser 50 – 60° (brièvement supportable à la main), ce qui les sèche puis laisser refroidir la lame.
- Appliquez le violet de gentiane sur la lame et laissez reposer pendant 1 minute.
- Vous pouvez nettoyer en rinçant les lames sous l'eau ou en les transvasant sous le robinet.
- Appliquez la solution iodée (Lugol) sur la lame et laissez agir pendant 1 minute
- Laver à l'eau distillée
- Faire disparaître la couleur violette de l'alcool en le laissant couler goutte à goutte sur une lame inclinée ou en plongeant les lames dans le décolorant pendant environ dix secondes.
- Laver à l'eau distillée
- Appliquer à nouveau la fuchsine et laisser reposer pendant une minute pour obtenir la coloration désirée.
- Il est recommandé de nettoyer les lames en les rinçant à l'eau puis en les séchant naturellement à l'air ou en les chauffant à environ 50 degrés. Assurez-vous que les lames sont complètement sèches avant de les utiliser.
- Observer à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile à immersion.

Solution de coloration

(5% Bleu de méthylène, 5% acide acétique)

Annexe 3

Composition du Milieu NBRIP en g/L (National Botanical Research Institute's phosphate)

Glucose	10
MgCl ₂ H ₂ O	5
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,25
KCl	0,2
(NH ₄) SO ₄	1
Phytate	5
H ₂ O	1000 ml
Agar	15
pH	7
Autoclavages	120°C pendant 20min

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques.

Spécialité : Ecologie microbienne.

Titre

Etude des microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes

Résumé

Les microorganismes bénéfiques pour la croissance des plantes comprennent notamment les bactéries du genre *Rhizobium*, qui fixent l'azote atmosphérique, favorisant ainsi la nutrition des plantes en azote. Les mycorhizes sont des champignons symbiotiques, établissent une relation mutuellement bénéfique avec les racines des plantes, améliorant l'absorption des nutriments. Les PGPR du genre *Pseudomonas*, par exemple, peuvent protéger les plantes contre les pathogènes en produisant des antibiotiques naturels. Dans cette étude, nous avons isolé et purifié des bactéries à partir des nodules racinaires de la fève (*Vicia faba*) cultivée en plein champ dans deux régions différentes, Mila et Constantine. Une observation microscopique des isolats a été effectuée. Les racines endomycorhiziennes du poireau ont été examinées par observation microscopique après coloration au bleu de méthylène. Un troisième test a été effectué, impliquant une souche bactérienne PGPR du genre *Bacillus* dans la solubilisation du phosphate, en utilisant le phytate comme seule source de phosphate. La caractérisation morphologique et culturale des isolats des nodosités racinaires de *Vicia faba* a confirmé leur classification en tant que bactéries présentant les caractéristiques du genre *Rhizobium*. Cependant, une confirmation définitive ne peut être obtenue que par des tests génétiques. L'observation microscopique des racines endomycorhizées du poireau, a montré la présence d'arbuscules, de vésicules et de mycélium, suggérant une association symbiotique entre le poireau et des champignons endomycorhiziens. Nous avons observé que la bactérie PGPR du genre *Bacillus* est capable de libérer le phosphate contenu dans le phytate. L'activité microbienne du sol est essentielle pour la santé et la productivité des plantes.

Mot clés : PGPR, rhizosphère, mycorhizes, fixation d'azote atmosphérique, nodules racinaires.

Membre du jury :

Présidente du jury : Mme. BENKAHOUL Malika (MCA - UFM, Constantine 1).

Encadreur : Mme. RIAH Nassira (MCA - UFM, Constantine 1).

Examinatrice : Mme. BOUZRAIB Latifa (MAA - UFM, Constantine 1).

Présentée par :
LEHAS Sara
BOUMEZBEUR Roumaïssa
BOUROUH Malak

Année universitaire : 2023 -2024