



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : .....  
Département : Biologie Animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## Utilisation des bactéries (PGPR) pour améliorer la production agricole et lutter contre les champignons nuisibles : Étude appliquée sur le blé

---

Présenté par : MASSAOUD BOUREGHDA Batoul

Le : 13/06/2024

RIHANE Nardjes

Jury d'évaluation :

Président : BECHKRI Sakina (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : GHARZOULI Razika (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri)

Co-encadrant : SEBIHI F. Zohra (MCA - U. Khenchla)

Examineur(s): BOUDOKHANE M. Ibtissem (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire  
2023 – 2024

## Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant pour Sa miséricorde et Ses bénédictions infinies qui nous ont soutenus tout au long de cette aventure.*

*Nous remercions chaleureusement notre superviseure de mémoire, Madame Gharzouli Razika, pour ses conseils avisés, son soutien constant et sa patience inépuisable.*

*Un grand merci à notre co-encadreuse, Madame Sebihi Fatima Zohra, pour son aide et ses encouragements indispensables à la réussite de ce projet. Les efforts qu'elle a déployés avec nous, ainsi que son soutien dépassant nos attentes, ont été essentiels à la réussite de ce mémoire. Nous la remercions sincèrement pour son dévouement et son engagement envers notre recherche.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur Benhezia Yacine qui nous a ouvert les portes de son laboratoire pour réaliser nos recherches et effectuer la partie pratique de notre mémoire. Nous remercions également l'ingénieure Benlahreche Houda et la professeure Saoudi Mouna pour leurs conseils et leur aide précieuse chaque fois que nous en avons eu besoin.*

*Nous sommes également reconnaissants envers Madame Boudkhane Ibtissem et Madame Bechkri Sakina d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à nos parents pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral et matériel. Leur présence et leurs prières ont été une source inestimable de force et d'inspiration.*

*Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Que ce soit par leurs encouragements, leurs conseils ou leur soutien logistique, chacune de vos contributions a été précieuse.*

*Merci à tous.*

# إهداء

الحمد لله حبا ورضا وامتنانا على البدء والختام

((وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين))

بداية لم تكن الرحلة قصيرة ولا طريقا مليئاً بالتسهيلات ولكنني فعلتها فالحمد لله حمداً كثيراً في البداية اهدي نفسي الطموحة التي صبرت وجاهدت من أجل الوصول إلى هذا النجاح الكبير.

اهدي نجاحي وتخرجي إلى من علمني أن الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، إلى ذلك الرجل العظيم الذي شجعني دائماً للوصول إلى طموحاتي وأحلامي والذي بذل كل ما بوسعه من اجلنا ولم يبخل علينا يوماً من الأيام ، إلى سندي الأول الذي تمنيت وجوده معي ليرى أن ابنته تخرجت لكن شاءت الأقدار أن يغادر الحياة (أبي العزيز رحمك الله )

إلى من جعل الله الجنة تحت اقدامها، إلى معلمتي الأولى إلى من غرست فيني حب العلم والمعرفة إلى ملاكي في الحياة إلى معنى الحب والحنان إلى سر الحياة إلى من أضاعت دربي في الليالي المظلمة إلى من سهرت وكافحت من أجلي إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وإلى داعمي الأول والمكان الذي استمد منه قوتي إلى من كانت لنا الأب و الام (أمي الغالية)

إلى من كانوا لي السند بعد أبي إلى اخوتي (عماد وائل نائل)

إلى رفقاء دربي إلى أصدقاء الرحلة والنجاح الى الذين امدوني بالقوة والذين دعموني في الأوقات الصعبة إلى الذين احسست بجانبهم بطعم الصداقة والأخوة الحقيقية .

إلى كل من ساهم وله الفضل بالمساعدة بطريقة أو بأخرى في مسيرتي شكرا لكم.

اخيراً من قال أنا لها "نالها " وأنا لها إن أبت رغماً عنها أتيت بها ، ما كنت لأفعل لولا توفيق من الله ، ها هو اليوم العظيم هنا، اليوم الذي أجريت وسنوات الدراسة الشاقة حالمة فيها حتى توالت بمنه وكرمه لفرحة التمام، الحمد لله الذي به خيرا و املاً الا وأغرقنا سروراً وفرحاً ينسيني مشقتي.

بتول

## إهداء

"أليس الله بكاف عبده؟" بهذه الآية العميقة التي أنستني في لحظات ضعفي وقلة حيلتي، كان الله ينير لي الدرب ويمنحني القوة والثبات لإكمال سعيي. فله الحمد وحده والثناء العظيم الذي يليق بذاته الإلهية، والشكر له على كرمه وعطائه المليء بالرحمة.

أما بعد، فكل امتناني موجه لأبي الذي لم يتوقف يوماً عن دعمي وتشجيعي. أهديك هذا العمل وثمره اجتهادي لأكون بهذا قد حققت أحد الأحلام التي تشاركناها بتفاصيلها معاً، فأنت أحق بها مني.

إلى أمي، تلك الإنسانية العظيمة التي صاحبته دعواتها ونصائحها دائماً، شكراً لكل لحظة من الرعاية والتشجيع.

إلى روعي الطموحة، تلك المغامرة التي لم تتوقف عن السعي وراء المعرفة والتطور، حتى وإن كانت الظروف موحشة، هذا العمل إهداء لها ولكل لحظة من الجهد والتعب التي بذلتها للوصول إلى هنا.

إلى إخوتي الذين كانوا يهونون عليّ الطريق، إلى بهجة العائلة سيرين، إلى صديقاتي و لكل أولئك الأشخاص الذين سخرهم الله لي لتكون المسيرة هينة، أهديك أول إنجازاتي وأشكركم كل باسمه ومقامه.

---

نرجس

## Table des matières :

Introduction

Chapitre 01 : *Interactions dans la rhizosphere*

I.	Le sol et bactéries rhizosphériques .....	2
1.	Rhizosphère .....	2
2.	Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) .....	4
I.	Diversité taxonomique des PGPR biofertilisants.....	4
1.	Proteobacteria.....	5
1.	Alphaproteobacteria .....	6
➤	Caractéristiques générales .....	6
2.	Betaprotéobacteria .....	6
➤	Caractéristiques générales .....	6
3.	Gammaproteobacteria.....	6
➤	Caractéristiques générales .....	6
2.	Actinobacteria .....	7
➤	Caractères généraux.....	7
3.	Firmicutes.....	7
➤	Caractères généraux.....	7
4.	Bactéroïdes.....	8
III.	Interaction microorganismes-plantes dans la rhizosphère.....	9

Chapitre 2 : *Mécanismes d'action des biofertilisants*

I.	Mode d'action des PGPR (interaction PGPR/plantes).....	11
1.	Promotion de la croissance de l'hôte.....	11
a)	Fixation d'azote .....	11
b)	Solubilisation des phosphates.....	11
c)	Production des sidérophores .....	12
d)	Production des régulateurs de la croissance végétale.....	13
2.	Protection contre divers phytopathogènes .....	13
a)	Compétition pour l'espace et les nutriments .....	13
b)	Antibiose .....	14
c)	Résistance systémique induite ou ISR.....	14
3.	Mécanismes de défense chez les plantes .....	15
II.	Diversité Génétique des PGPR .....	16
1.	Gènes Impliqués dans la Promotion de la Croissance des Plantes .....	16
a)	Fixation de l'Azote .....	16
b)	Solubilisation des Phosphates.....	17
c)	Production de Phytohormones .....	18

d) Suppression des Pathogènes.....	19
e) Production des sidérophores .....	19
• Pyoverdine.....	19
• Pseudobactine (Fig.12).....	20
• Ferrioxamine .....	21
• Agrobactine .....	21
• Bacillibactine (catécholate) .....	21
2. Mécanismes de Régulation Génétique .....	22
a. Systèmes de Régulation à Deux Composants .....	22
b. Facteurs de Transcription.....	22
c. Régulation par Quorum Sensing.....	22
3. Applications de la Génétique des PGPR en Agriculture .....	23
a. Ingénierie Génétique.....	23
b. Sélection et Amélioration.....	23
c. Production de Bioformulations .....	23
<b>Matériel et méthode</b>	
Partie 1 : isolement et conservation des PGPR.....	24
1-1-Prélèvement des échantillons.....	24
1-2-Isolement du PGPR .....	24
1-3-Conservation des souches: .....	24
1-4-Caractérisation microscopique : .....	24
Partie 2 : Mesure des activités promotrices de la croissance végétale .....	25
1-Production des siderophores sur CAS solide .....	25
2- Solubilisation des phosphates.....	25
3- Production d'ammonium .....	25
4- Production d'HCN.....	25
5- Production de l'acide indole acétique (AIA).....	26
6- Production d'enzymes impliqués dans la suppression .....	26
6-1- La Cellulase .....	26
6-2- L'amylase .....	26
6-3- La protéase.....	26
6-4- La pectinase .....	26
7-Activité antifongique in vitro .....	26
Partie 3 : Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du <i>Fusarium culmorum</i> et <i>Fusarium pseudograminearum</i> . Selon ( Sebihi 2016 ) .....	27
<b>Résultats et discussion</b>	
Partie 1 : Isolement des PGPR.....	29
1. Caractérisation phénotypique des isolats.....	29
Partie 2 : Mesure des activités promotrices de la croissance végétale .....	30

2-1-Production des siderophores.....	30
2-2- La Solubilisation des phosphates : .....	31
2-3-Production d'ammonium.....	33
2-4-Production d'HCN .....	33
2-5-Production d'AIA.....	35
2-6-Production d'enzymes impliqués dans la suppression .....	37
2-7-Activité antagoniste in vitro.....	39
Partie 3 : Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du <i>Fusarium culmorum</i> et <i>Fusarium pseudograminearum</i> : .....	40
Conclusion .....	43

## Liste de Figures

<b>Figure 1:</b> Diagramme de la diversité microbienne de sol et des plantes (Gopal et Gupta 2016) .....	3
<b>Figure 2:</b> PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique (Pérez-Montano et al., 2014). (M : maïs, R : riz, B : Blé, S : soja, H : Haricot) .....	5
<b>Figure 3:</b> Représentation schématique des interactions dans la rhizosphère et l'impact des facteurs associés à la relation plante-microbe (Singh et al., 2019).....	10
<b>Figure 4:</b> Schéma montrant que les PGPR affectent directement et indirectement la croissance des plantes (Gupta et al., 2015).....	15
<b>Figure 5:</b> Groupe de gènes de fixation de l'azote (nif) de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	17
<b>Figure 6:</b> Gène <i>pqqC</i> de la pyrroloquinoléine-quinone synthase (National Library of Medicine NIH) .....	17
<b>Figure 7:</b> Gène de la quinoprotéine glucose déshydrogénase <i>gcd</i> (National Library of Medicine NIH).....	18
<b>Figure 8:</b> Gène de tryptophane 2-monooxygénase <i>iaaM</i> [ <i>Colletotrichum siamense</i> ] (National Library of Medicine NIH) .....	18
<b>Figure 9:</b> Gène <i>iaaH</i> indolécétamide hydrolase [ <i>Pseudomonas putida</i> NBRC 14164 ] (National Library of Medicine NIH) .....	18
<b>Figure 10:</b> Gène <i>chiA</i> endochitinase [ <i>Escherichia coli</i> str. K-12 sous-classe. MG1655] .....	19
<b>Figure 11:</b> Gènes impliqués dans la synthèse de Pyoverdine (National Library of Medicine NIH) .....	20
<b>Figure 12:</b> Gènes impliqué dans la synthèse de Pseudobactine [ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 ] (National Library of Medicine NIH) .....	21
<b>Figure 13:</b> Gène <i>dhbA</i> 2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase [ <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> str. 168 ] (National Library of Medicine NIH) .....	22
<b>Figure 14:</b> Observation microscopique des isolats après coloration de Gram (X100).....	29
<b>Figure 15:</b> Production des siderophores sur le milieu gélosé au CAS .....	30
Figure 16: Production des siderophores sur le milieu gélosé CAS .....	31
<b>Figure 17:</b> Colonies de de bactéries isolé avec halo de solubilisation.....	32
<b>Figure 18:</b> Solubilisation du Phosphate par les isolats sur milieu Pikovskaya solide .....	32
<b>Figure 19:</b> Production d'NH <sub>3</sub> .....	33
<b>Figure 20:</b> Production du HCN sur milieu a la glycine .....	34
<b>Figure 21:</b> Production qualitative d'Acide indole acétique.....	36
Figure 22: Production quantitative d'acide indole acétique .....	37
<b>Figure 23:</b> production des enzymes de dégradation a-Production de la protéase, b-Production de la pectinase, c-Production de la cellulase, d-Production de L'amylase .....	38
<b>Figure 24:</b> Activité antifongique contre <i>Fus1</i> : <i>Fusarium culmorum</i> et <i>Fus7</i> : <i>Fusarium pseudograminearum</i> .....	40
<b>Figure 25:</b> F1( <i>Fusarium culmorum</i> ) F7( <i>Fusarium pseudograminearum</i> ) .....	41
<b>Figure 26:</b> Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du <i>Fus 1</i> et <i>Fus 7</i> .....	42
<b>Figure 27:</b> courbe graphique pour effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du <i>Fus 1</i> ( <i>Fusarium culmorum</i> ) et <i>Fus 7</i> ( <i>Fusarium pseudograminearum</i> ) .....	42

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau résultats des différents tests des activités promotrices de la croissance végétale (Annexe 3) .....	56
Tableau 2: Tableau résultats des différents tests enzymatiques (Annexe 4) .....	57
Tableau 3 : Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du <i>Fusarium culmorum</i> et <i>Fusarium pseudograminearum</i> .....	58



## Liste des abréviations

**PGPR:** plant growth promoting rhizobacteria

**AIA :** Acide indole acétique

**HCN :** Acide cyanhydrique

**CAS:** Chrome zurol sulfate

**KB:** King B

**PDA:** Potato dextrose agar

**P.V.K:** Pikovskaya

**CMC:** Craboxyl Methyl Cellulose

- Synthèse bibliographique
- ملخص
- Abstract
- Résumé

# *Introduction*

## Introduction

L'agriculture du XXI<sup>e</sup> siècle est confrontée à des défis majeurs tels que le déclin de la productivité et la dégradation des sols, menaçant la sécurité alimentaire mondiale. Selon les estimations des Nations Unies, la population mondiale devrait atteindre environ 9 milliards d'ici 2050 (**Wood, 2001**). Pour répondre à ces besoins croissants, des engrais chimiques et des pesticides sont largement utilisés pour augmenter la production agricole (**Rubio et al., 2013**). Cependant, cette utilisation excessive a entraîné une pollution de l'environnement et une dégradation continue des sols agricoles, compromettant leur qualité et leur fertilité (**Cedeño et al., 2021**).

Dans ce contexte, les bactéries rhizosphériques promoteurs de croissance des plantes (PGPR) émergent comme une alternative prometteuse aux engrais chimiques pour augmenter la production agricole tout en réduisant l'impact environnemental. Les PGPR sont des microorganismes qui établissent une symbiose avec les plantes, favorisant leur croissance et leur santé. Ils agissent par divers mécanismes, notamment la décomposition de la matière organique, le recyclage des éléments, la production de régulateurs de croissance des plantes, la dégradation des polluants organiques et la stimulation de la croissance des racines (**Ahemad et Khan, 2009; Akhtar et al., 2012; Gupta et al., 2015**).

Bien que d'autres biofertilisants tels que *Rhizobium*, *Azotobacter* et *Azospirillum* aient été utilisés, les PGPR se distinguent par leur capacité à induire une résistance contre les pathogènes et à améliorer la tolérance des plantes aux stress abiotiques (**Vázquez et al., 2020**). Ces caractéristiques en font des candidats idéaux pour une agriculture durable en Algérie, où la préservation des ressources naturelles et la réduction de l'utilisation des produits agrochimiques sont des priorités.

Dans ce mémoire, nous examinerons le potentiel des bactéries PGPR en tant que biofertilisants pour l'agriculture durable en Algérie. Nous aborderons leur taxonomie, leur diversité, leurs mécanismes d'action, ainsi que leurs avantages face aux stress abiotiques. En synthétisant les connaissances actuelles, ce mémoire vise à fournir des recommandations pratiques pour une utilisation efficace des PGPR dans le contexte agricole algérien, contribuant ainsi à une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement.

La stratégie d'étude dans ce travail consiste à :

- Identifier et caractériser, à partir de la rhizosphère d'une plante de la région de Constantine, une population bactérienne ; afin d'évaluer leurs Contributions dans la croissance et la santé des plantes
- Tester in vivo l'effet de l'inoculation par ces bactéries sur la croissance du blé, en présence de deux agents pathogènes d'une part, d'autre part la capacité de ces bactéries à stimuler les défenses naturelles du blé et accélérer leur croissance.

**Chapitre 01 :**  
*Interactions dans la  
rhizosphere*

## I. Le sol et bactéries rhizosphériques

Le sol représente la couche supérieure de la croûte terrestre qui recouvre la surface de la terre. Il se compose d'un mélange de matière minérale, provenant des roches, et de matière organique, dérivée des êtres vivants. Ces composants sont étroitement liés, en grande partie grâce à l'action des êtres vivants. À travers les particules solides, les pores "vides" du sol sont remplis d'eau, d'air et d'une multitude d'organismes vivants. Ces éléments contribuent à maintenir la santé du sol pour favoriser une meilleure croissance des plantes (Sandra Barantal *et al.*, 2022).

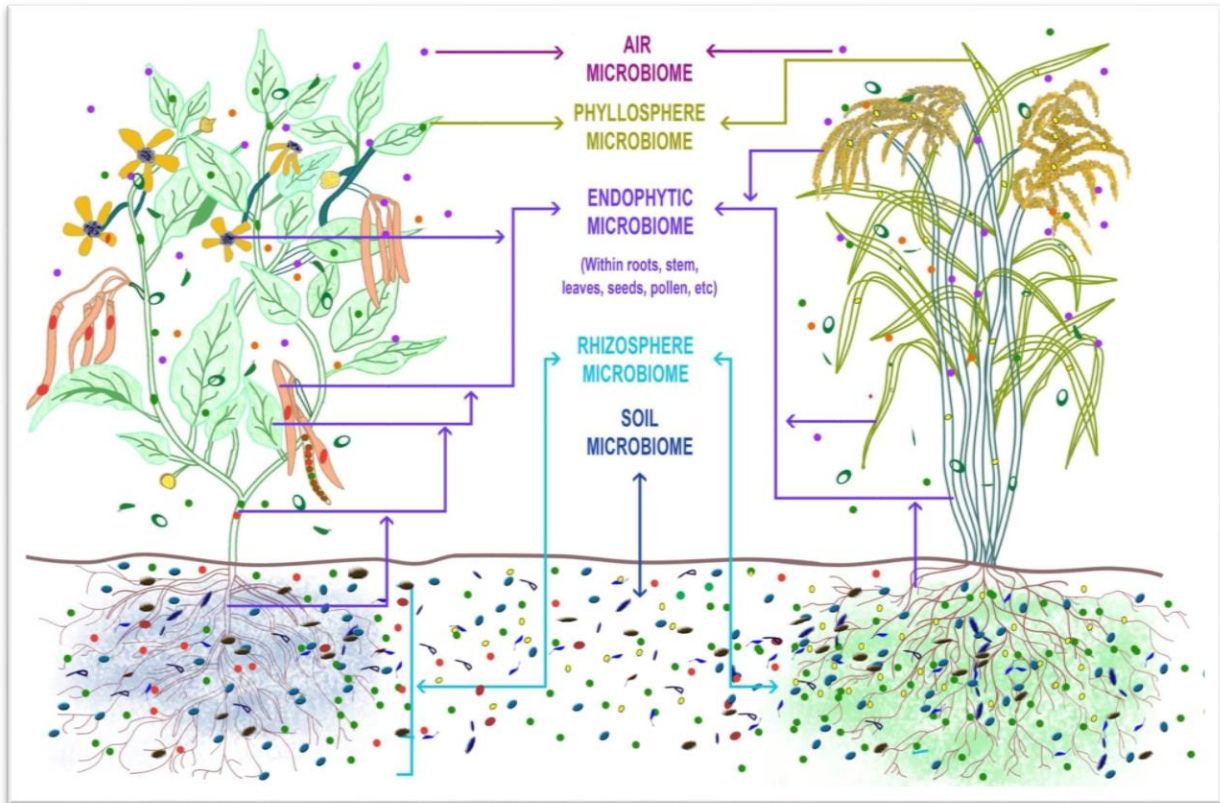
Les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans les fonctions vitales du sol. Ils sont impliqués dans la décomposition de la matière organique, favorisant ainsi une structure plus saine du sol. De plus, ils contribuent à la dégradation des polluants organiques et à la préservation de la composition globale du sol (Oliver *et al.* (s.d.)).

La faune du sol est un sujet d'études particulièrement important dans les agrosystèmes en raison de son impact sur la production primaire. Elle joue un rôle crucial dans le recyclage des nutriments, la formation de la structure du sol, la régulation des organismes nuisibles et peut également influencer les interactions entre les espèces végétales (Mickaël Hedde & Marine Zwicke, 2020).

Les microorganismes tirent leurs ressources nutritives des matières organiques présentes dans le sol. En les décomposant, ils libèrent des éléments minéraux, tels que l'azote, le phosphore, le soufre, le potassium, le calcium, le magnésium, le cuivre, le zinc, le cobalt et le manganèse, qui deviennent ainsi accessibles aux plantes. Ces microorganismes établissent également des symbioses avec les racines des plantes (Groupement d'intérêt scientifique sur les sols (Gis Sol), (s.d.)).

### 1. Rhizosphère

Le terme "Rhizosphère" a été créé en 1904 par Lorenz Hiltner, en combinant "Rhizo" du grec "rhiza" signifiant "racine" et "sphère" désignant le domaine d'action ou d'influence. La rhizosphère est la zone du sol directement influencée par les racines et les micro-organismes qui y sont associés. C'est un endroit où les échanges entre la plante et le substrat minéral sont particulièrement intenses (**Fig.1**) (Darrah *et al.*, 2006). La distinction entre la rhizosphère et le sol global provient de processus biologiques, biochimiques, chimiques et physiques qui résultent de la croissance racinaire, de l'absorption d'eau et de nutriments, de la respiration et de la libération de substances par les racines (Gregory, 2006).



*Figure 1: Diagramme de la diversité microbienne de sol et des plantes (Gopal et Gupta 2016)*

On trouve des bactéries capables de stimuler et/ou de protéger les plantes grâce à divers mécanismes. Elles peuvent excréter des phytohormones dans le milieu, ce qui favorise la croissance des plantes. Elles peuvent également solubiliser des éléments minéraux qui sont bloqués dans le sol, les rendant ainsi disponibles pour les plantes. Certaines bactéries sont capables de fixer l'azote atmosphérique, fournissant ainsi un nutriment essentiel aux plantes. De plus, certaines bactéries peuvent réduire le niveau de certaines maladies dans le sol, soit par compétition avec les agents pathogènes, soit par hyperparasitisme. Ces mécanismes permettent aux bactéries d'améliorer la croissance et la santé des plantes de manière naturelle (Jean-Marc Sanchez. (s.d.)).

La rhizosphère abrite la plus grande proportion de groupes microbiens, tels que les bactéries, les champignons, les nématodes, les protozoaires et les microarthropodes (Morgan *et al.*, 2005 ; Hakim *et al.*, 2021). Ces microorganismes peuvent avoir des effets bénéfiques, neutres ou nocifs sur la croissance des plantes (Bais *et al.*, 2006 ; Nihorimbere *et al.*, 2011). Les bactéries rhizosphériques, appelées rhizobactéries, constituent une partie importante de cette diversité. Elles se nourrissent des nutriments disponibles dans le sol et des exsudats racinaires des plantes (Rovira 1991 ; Bais *et al.*, 2006 ; Dodd *et al.*, 2010). Les exsudats racinaires contiennent divers composés tels que des sucres solubles, des acides organiques, des acides

aminés, des hormones, des vitamines, des composés phénoliques et de l'ester de phosphate de sucre (Nihorimbere *et al.*, 2011 ; Ahkami *et al.*, 2017), ce qui rend la rhizosphère riche en nutriments et attrayante pour les bactéries symbiotiques qui favorisent la croissance des plantes (Kumar et Dubey, 2012).

## **2. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)**

Kloepper et Schroth (1978) ont introduit le terme "Rhizobactéries" pour décrire la communauté bactérienne qui colonise compétitivement les racines des plantes et qui est capable d'améliorer le développement, la croissance et/ou la santé des végétaux (Vacheron *et al.*, 2013 ; Moenne-Loccoz *et al.*, 2019). Ces bactéries interagissent étroitement avec les plantes, entraînant des modifications physiologiques telles que des changements dans le transcriptome (Drogue *et al.*, 2014), le protéome (Kwon *et al.*, 2016) et le métabolome (Walker *et al.*, 2011). Les PGPR présentes dans la rhizosphère peuvent avoir des effets bénéfiques sur les plantes, notamment en contrôlant les pathogènes et en induisant des changements dans les activités physiologiques, chimiques, métaboliques et moléculaires des plantes.

Les plantes colonisées par ces bactéries expriment des caractéristiques végétales uniques, telles qu'une augmentation de la masse racinaire et des pousses, une meilleure absorption des nutriments et une réduction du stress. De plus, ces microorganismes peuvent fixer l'azote et le phosphate pour les rendre accessibles aux plantes (Behl *et al.*, 2012 ; Calvo *et al.*, 2014 ; Moenne-Loccoz *et al.*, 2019). Les PGPR sont également capables de s'adapter à des conditions défavorables telles que la forte salinité et la sécheresse, et d'améliorer la croissance des plantes en accumulant des solutés tels que des solutés compatibles, en accélérant la vitesse de croissance, en raccourcissant la période végétative, en favorisant la floraison précoce, en réduisant les pertes en eau, en augmentant les capacités photosynthétiques et en diminuant la sensibilité des plantes en réduisant la production d'éthylène (Ahemad, 2015). Ils activent également des mécanismes d'osmo-protection et améliorent la survie des plantes en accumulant de la tréhalose (Gamalero et Glick, 2022).

Les PGPR sont également très intéressantes pour une utilisation en agriculture. Elles peuvent être utilisées comme inoculants pour la biofertilisation (Combes-Meynet *et al.*, 2011), comme biopesticides ou agents de bioremédiation (Kirdi, 2011).

### **I. Diversité taxonomique des PGPR biofertilisants**

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) se présentent sous une grande diversité de genres et d'espèces. Certains de ces genres sont plus étudiés que d'autres, particulièrement en ce qui concerne leur utilisation dans le domaine de l'agriculture. Ces bactéries appartiennent principalement à

quatre phylums (**Fig.2**) : les Proteobactéries, les Actinobactéries, les Bacteroidetes et les Firmicutes (Hugenholtz, 2002).

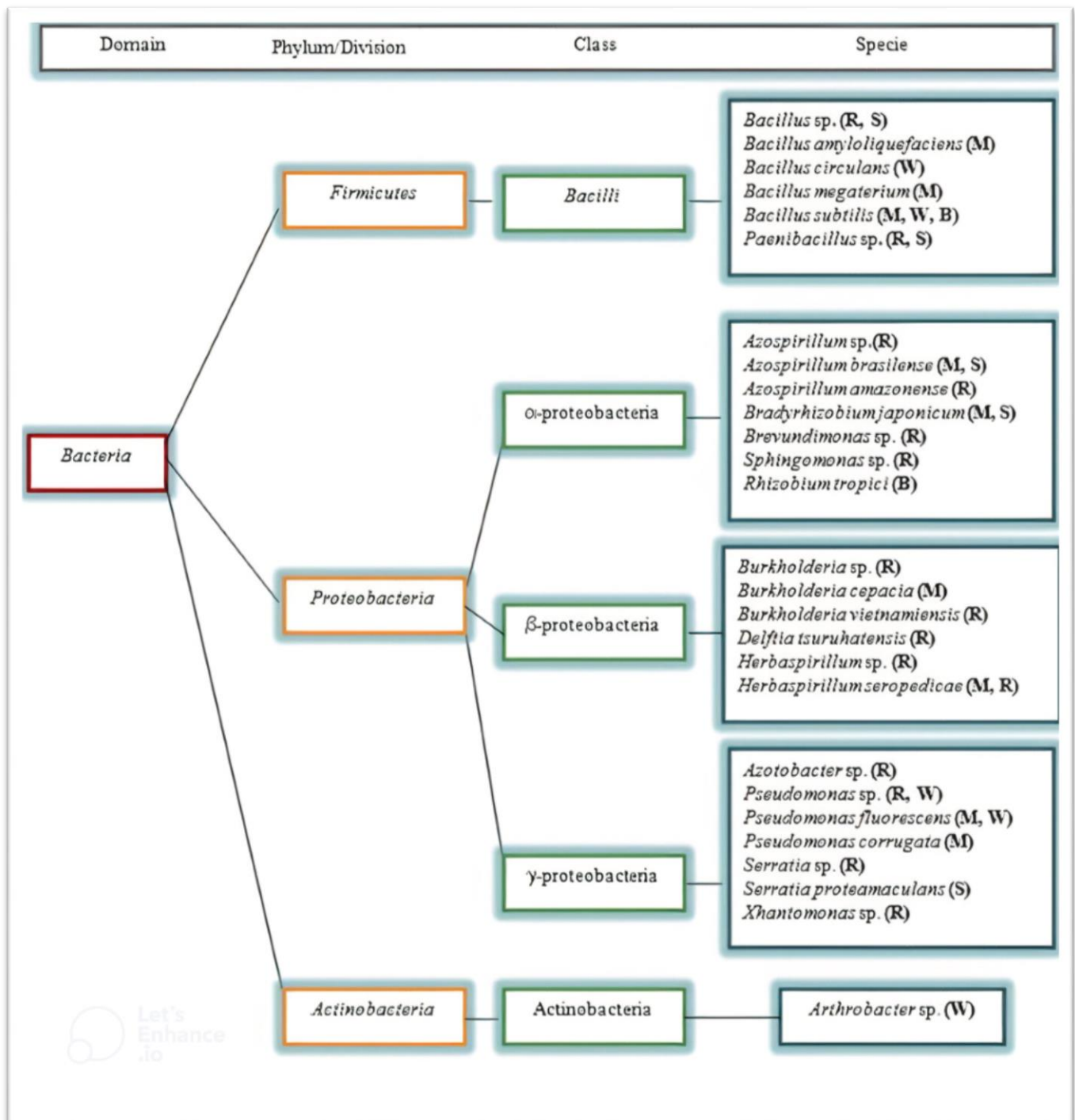


Figure 2: PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique (Pérez-Montano et al., 2014).  
(M : maïs, R : riz, B : Blé, S : soja, H : Haricot)

### 1. Proteobacteria



## 1. Alphaproteobacteria

### ➤ *Caractéristiques générales*

Les *Alphaproteobacteria* sont une classe de bactéries appartenant au phylum *Proteobacteria*. Voici quelques caractéristiques générales des *Alphaproteobacteria* :

- Elles sont principalement des **oligotrophes**, ce qui signifie qu'elles peuvent survivre dans des environnements pauvres en nutriments.
- Certaines *Alphaproteobacteria* sont des **pathogènes intracellulaires obligatoires**, ce qui signifie qu'elles doivent infecter des cellules hôtes pour se reproduire.
- Elles peuvent être trouvées dans une variété d'habitats, y compris les sols, les océans et les plantes.
- Certaines *Alphaproteobacteria* sont capables de fixer l'azote atmosphérique, ce qui les rend importantes pour le cycle de l'azote (Whitman, W. B., *et al.*, 2015).

## 2. Betaprotéobacteria

### ➤ *Caractéristiques générales*

Les *Betaprotéobacteria* sont une classe de bactéries appartenant au phylum *Proteobacteria*. Voici quelques caractéristiques générales des *Betaprotéobacteria* :

- Elles sont principalement des **eutrophes**, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer dans des environnements riches en nutriments.
- Certaines *Betaprotéobacteria* sont impliquées dans le cycle de l'azote, notamment dans la dénitrification et la nitrification.
- Elles peuvent être trouvées dans une variété d'habitats, y compris les sols, les eaux douces et les eaux usées.
- Certaines *Betaprotéobacteria* sont des pathogènes humains, tels que *Bordetella pertussis*, l'agent responsable de la coqueluche (Garrity, G. M., *et al.*, 2001).

## 3. Gammaproteobacteria

### ➤ *Caractéristiques générales*

Les *Gammaproteobacteria* sont une classe de bactéries appartenant au phylum *Proteobacteria*. Voici quelques caractéristiques générales des *Gammaproteobacteria* :

- Elles sont principalement des **eutrophes**, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer dans des environnements riches en nutriments.
- Certaines *Gammaproteobacteria* sont des pathogènes humains importants, tels que *Escherichia coli*, *Salmonella* et *Vibrio cholerae*.
- Elles peuvent être trouvées dans une variété d'habitats, y compris les sols, les eaux douces, les océans et les intestins des animaux.
- Certaines *Gammaproteobacteria* sont impliquées dans des processus tels que la décomposition de la matière organique et la fixation de l'azote (Madigan, M. T., *et al.*, 2018).

## 2. Actinobacteria

### ➤ *Caractères généraux*

Les *Actinobacteria*, également appelées actinomycètes (*Actinobacteria* Lynn Margulis, 1974), sont un groupe d'eubactéries Gram-positives. Elles se trouvent dans le sol et jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la cellulose et de la chitine, contribuant ainsi à la formation de l'humus. Ces bactéries sont cruciales pour les écosystèmes du sol, favorisant la santé des plantes et la production de métabolites bioactifs. Les *Actinobacteria* peuvent former des filaments produisant des cystes (endospores) pour survivre dans des conditions environnementales défavorables, par exemple en présence de myxomycètes. Elles se retrouvent également dans divers autres habitats terrestres et aquatiques. Certaines Actinobactéries présentent une forme filamenteuse similaire aux mycéliums des champignons, ce qui les a initialement classées sous l'appellation d'Actinomycètes. Contrairement aux Firmicutes, un autre grand groupe de bactéries Gram-positives, les *Actinobacteria* ont un contenu en bases CG élevé, et certaines espèces produisent des exospores (*Wikipedia* .(S.D)).

## 3. Firmicutes

### ➤ *Caractères généraux*

Les *Firmicutes* sont un groupe de bactéries qui sont traditionnellement classées comme Gram-positives, bien que certaines classes puissent être Gram-négatives.

Parmi les bactéries du sol à Gram positif, les *Bacillus* sont les plus fréquents et les plus abondants, représentant jusqu'à 95 % de la flore isolée (Madigan *et al.*, 2018).

Les bactéries du genre *Bacillus*, qui appartiennent à la famille des *Bacillaceae*, sont des bactéries à Gram positif. Ce genre, principalement constitué de bactéries aérobies formant des endospores, est l'un des genres les plus diversifiés, avec actuellement 273 espèces validées (Parte, 2014). Les *Bacillus* sont largement présents dans la rhizosphère, et certaines souches sont connues depuis plusieurs années pour leur capacité à promouvoir la croissance des plantes en tant qu'agents de lutte biologique potentiels (Parmar et Sindhu, 2013).

Les espèces de *Bacillus spp* sont particulièrement intéressantes parmi les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. Elles se distinguent par leur capacité à former des spores, ce qui leur permet de survivre dans des conditions environnementales difficiles et de contribuer de manière significative aux formulations commerciales utilisées en agriculture (Probanza *et al.*, 2002). Les *Bacillus* peuvent solubiliser le phosphate, produire de l'AIA, des sidérophores et des antifongiques (Charest *et al.*, 2005). De plus, ces bactéries peuvent dégrader la plupart des matières organiques animales ou végétales (cellulose, amidon, protéines, hydrocarbures) grâce à la production d'enzymes extracellulaires, et elles sont capables de produire des antibiotiques peptidiques. Elles peuvent également survivre et se développer dans des conditions de pH, de température et de concentrations de sel où peu d'autres organismes peuvent survivre (Holt *et al.*, 1994).

#### **4. Bactéroïdes**

Les *Bactéroïdes* sont un phylum de bactéries Gram-négatives qui sont largement répandues dans l'environnement, y compris dans le sol. Ils jouent un rôle important dans la dégradation des glucides dérivés de l'hôte, tels que les mucines ou les sulfates de chondroïtine, présents dans les sécrétions gastro-intestinales (Salyers *et al.*, 1977). Par exemple, *Bacteroides thetaiotaomicron*, une espèce courante de la flore intestinale humaine, se nourrit principalement des mucines O-glycanes de l'hôte, ce qui a un impact sur sa colonisation et représente probablement un élément important de son adaptation à l'habitat intestinal (Martens *et al.*, 2008).

Dans le sol, les *Bactéroïdes* sont un phylum dominant, ce qui leur confère un avantage compétitif sur d'autres espèces. Ils possèdent un système de sécrétion spécifique au phylum, appelé système de sécrétion de type IX (T9SS), qui leur permet de sécréter des enzymes de dégradation des glucides et de les ancrer à la surface cellulaire. Ce système est étroitement lié à leur capacité à se déplacer rapidement sur les surfaces solides, favorisant ainsi une recherche active de nutrition (François Thomas *et al.*, 2011).

Les *Bactéroïdes* ont un impact sur la santé des plantes et le cycle des nutriments dans le sol. Ils sont présents dans les microbiotes associés aux racines des plantes et jouent un rôle dans la dégradation des polymères végétaux, tels que la cellulose et l'hémicellulose, en produisant des enzymes spécifiques (Bacteroidetes bacteria in the soil: Glycan acquisition, enzyme...). Leur présence et leur activité contribuent à la décomposition de la matière organique et à la libération de nutriments essentiels pour la croissance des plantes (François Thomas *et al.*, 2011).

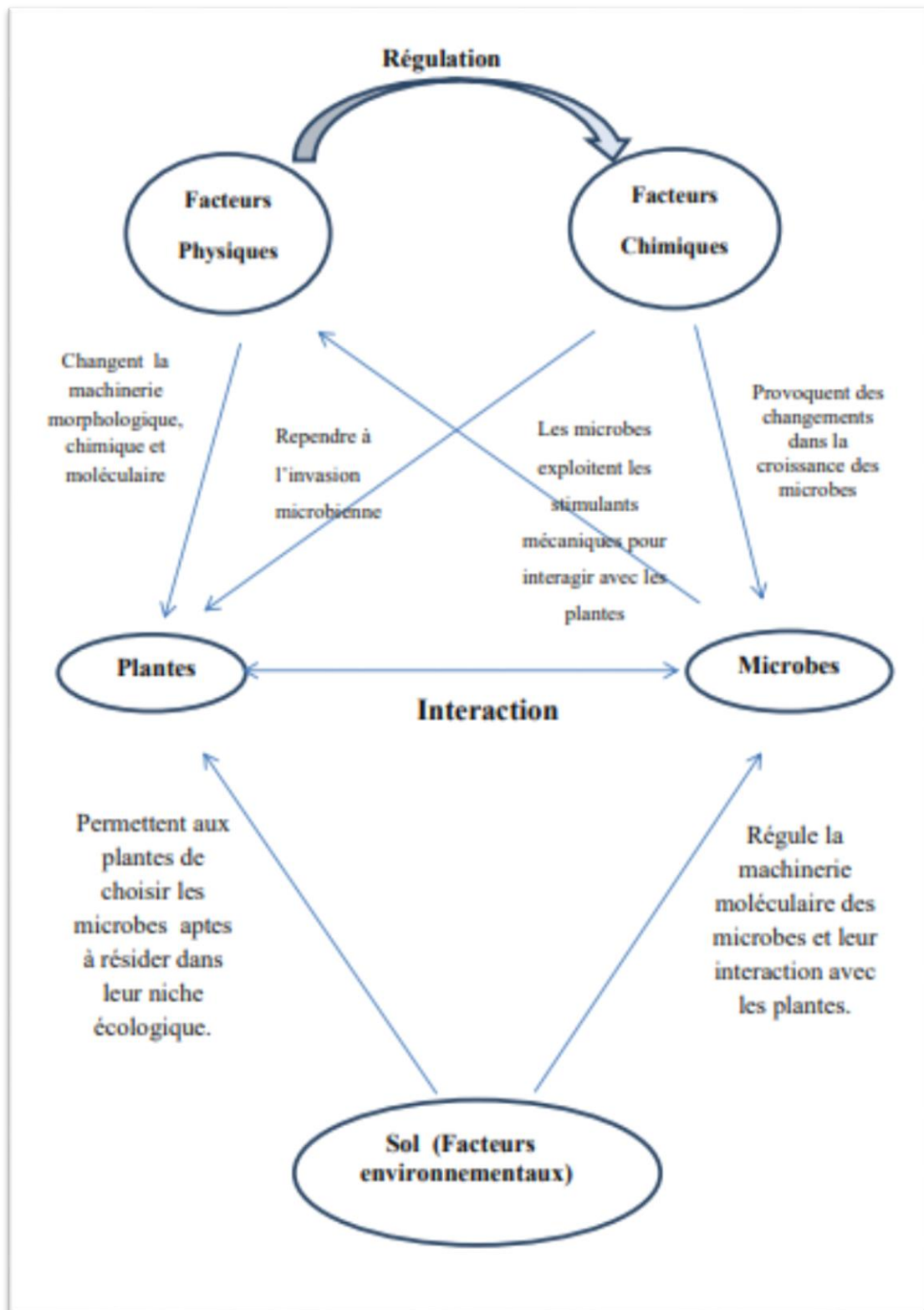
### III. Interaction microorganismes-plantes dans la rhizosphère

La coopération entre PGPR et plante est une interaction ancienne. Le fonctionnement de la coopération PGPR-plante varie selon les géotypes de PGPR et la plante-hôte (Narula *et al.*, 2012 ; Drogue *et al.*, 2014). Les profils d'exsudation ou d'architecture racinaire diffèrent selon la plante, ce qui peut moduler l'écologie rhizosphérique et l'efficacité des PGPR (Kuzmicheva *et al.*, 2017 ; Moenne-Loccoz *et al.*, 2019).

La relation entre plantes- micro-organismes a tiré un très grand intérêt. Dans un premier temps, l'homme a exploité les interactions entre les plantes et les micro-organismes pour l'amélioration de rendement et la croissance végétale (Joseph, 2007). Des recherches récentes ont montré qu'au sein d'une population bactérienne, les cellules se communiquent entre elles afin de coordonner certaines activités (**Fig.3**). Ces communications sont les clés de leur survie. En effet, la performance microbienne dépend de la capacité à percevoir et à réagir rapidement aux échanges environnementaux. De ce fait, les bactéries ont développé un mécanisme complexe de communication afin de contrôler l'expression de certaines fonctions, c'est le quorum sensing (Ahmed *et al.*, 2008).

Le quorum sensing confère aux bactéries de nombreux avantages compétitifs par l'amélioration des chances de survie et la colonisation des niches écologiques. Ainsi l'envahissement de certaines plantes par des bactéries pathogènes telles que *Xanthomonas campestris* et *Pseudomonas syringae* (Sarris *et al.*, 2010 ; Bernal *et al.*, 2017).

Des études récentes réalisées ont rapporté sur l'importance de mécanismes de régulation chez les bactéries bénéfiques des plantes telle la promotion de la croissance, la protection contre les bactéries pathogènes et le stress salin, avec la libération de certaines molécules telles que l'acyl homoserine lactone (AHL), composé similaire aux molécules bactériennes. Des études antérieures ont rapporté sur la capacité de



*Figure 3: Représentation schématique des interactions dans la rhizosphère et l'impact des facteurs associés à la relation plante-microbe (Singh et al., 2019)*

ces molécules de stimuler la défense contre les bactéries pathogènes et le blocage des interactions entre les bactéries (Ahmed *et al.*, 2008).

***Chapitre 2 :***  
***Mécanismes d'action des***  
***biofertilisants***

## I. Mode d'action des PGPR (interaction PGPR/plantes)

### 1. Promotion de la croissance de l'hôte

Les bactéries PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes hôtes grâce à divers mécanismes, tels que la fixation de l'azote ( $N_2$ ) et la solubilisation d'oligoéléments comme le phosphate (P) (Cakmakci *et al.*, 2006; Orhan *et al.*, 2006). Elles peuvent également inhiber la synthèse d'éthylène par la plante, favoriser la synthèse des phytohormones ou des vitamines (Dobbelaere *et al.*, 2003), et réduire la toxicité des métaux lourds (Burd *et al.*, 1998; Whipps 2001).

#### a) Fixation d'azote

L'élément nutritif le plus souvent limitant pour la croissance des plantes est l'azote. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux ( $N_2$ ), qui est inaccessible aux animaux et aux plantes (Pujic et Normand, 2009). La fixation biologique de l'azote est exclusivement réalisée par les procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (**Fig. 4**) (Weyens *et al.*, 2010). Quelques bactéries fixatrices d'azote se trouvent librement dans la rhizosphère, telles que *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas* et *Xanthobacter* (Tilak *et al.*, 2005).

#### b) Solubilisation des phosphates

La solubilisation des phosphates est également un processus crucial. Le phosphore est l'élément le plus limitant pour les plantes, qui ne peuvent absorber que ses formes solubles mono- et dibasiques ( $H_2PO_4^{(-4)}$ ,  $HPO_4^{(-2)}$ ) (Ramos Solano *et al.*, 2008; Keneni *et al.*, 2010). Contrairement à l'azote, il n'existe pas de source biologiquement disponible (Ezawa *et al.*, 2002). Même dans les sols riches, la majeure partie du phosphore n'est pas accessible aux plantes car il se trouve sous forme insoluble.

Dans la rhizosphère, on trouve des bactéries capables de solubiliser le phosphate, qui sont courantes et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (Vessey, 2003). Des exemples de ces bactéries rhizosphériques sont *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus spp.*, *Bradyrhizobium spp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium spp.*, qui solubilisent le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et de l'acide 2-cétogluconique (Khan *et al.*, 2009). Elles sont également capables de minéraliser le phosphate organique en sécrétant des enzymes extracellulaires telles que des phosphatases et des C-P lyases (Kim *et al.*, 1998; Weyens *et al.*, 2010).

Ces microorganismes, en solubilisant les phosphates (**Fig. 4**), pourraient faciliter la croissance et le développement des plantes en produisant des nutriments essentiels, en modifiant la concentration de

substances favorisant la croissance des plantes telles que l'acide indol-3-acétique (AIA), ou en stimulant la fixation symbiotique et non symbiotique de l'azote moléculaire. Ils pourraient également jouer un rôle dans la production de sidérophores, d'antibiotiques et d'acide cyanhydrique (HCN) (Khan *et al.*, 2009).

La capacité de ces microorganismes à convertir le phosphore insoluble en une forme accessible est une caractéristique importante des PGPR. Ainsi, les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient constituer une source prometteuse en tant qu'agents biofertilisants en agriculture.

### c) Production des sidérophores

La compétition trophique se concentre principalement sur les exsudats racinaires et le fer, élément crucial pour les bactéries, les champignons et les plantes. Bien que le fer soit abondant dans le sol sous forme d'oxydes de fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ), il reste souvent un facteur limitant pour la croissance des bactéries et des plantes (Compant *et al.*, 2005). La plupart des microorganismes ont développé des mécanismes spécifiques pour assimiler le fer, notamment par la production de sidérophores (substances de faible poids moléculaire qui transportent l'ion ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  à l'intérieur de la cellule microbienne) et de protéines membranaires réceptrices du complexe sidérophore/fer à leur surface (**Fig. 4**) (Jacques *et al.*, 1993).

Des bactéries telles qu'*Agrobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, et de nombreux champignons sont capables de produire ces composés chélateurs de fer (Zahir *et al.*, 2004). Les sidérophores des bactéries rhizosphériques peuvent influencer directement l'approvisionnement en fer des plantes et le rendre indisponible pour les champignons pathogènes (O'sullivan et O'gara, 1992). De plus, ils peuvent chélater d'autres métaux rhizosphériques ayant une faible disponibilité pour les plantes, tels que le zinc et le plomb (Dimkpa *et al.*, 2009).

Les sidérophores produits par des *Pseudomonas* fluorescents peuvent protéger les plantes contre de nombreuses maladies d'origine fongique ou bactérienne. Par exemple, Kloepper *et al.* (1980) ont été les premiers à prouver la synthèse d'un sidérophore (*Pseudobactine*) par une souche de *P. putida*, montrant ainsi la corrélation entre la synthèse de cette molécule et le potentiel antagoniste de cette souche contre les pathogènes. Par exemple, l'inhibition de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, agent du piétin-échaudage du blé, par les *Pseudomonas* fluorescents est due à la production de sidérophores (Weller *et al.*, 1988). Cette observation a été confirmée par l'équipe de DeWeger (1988), qui a montré que la production de *Pseudobactine* 358 par la souche WC358 de *P. putida* est fortement influencée par la disponibilité du fer dans le sol. Ces résultats confirment que la capacité de ces souches à inhiber la croissance des pathogènes est directement liée à leur capacité à produire des sidérophores dans des conditions de faible pH.



#### d) Production des régulateurs de la croissance végétale

La capacité des micro-organismes à synthétiser des phytohormones est connue depuis longtemps. On estime que 80% des micro-organismes isolés de la rhizosphère de diverses cultures peuvent synthétiser et libérer des auxines en tant que métabolites secondaires (Patten et Glick, 2002).

Il existe cinq catégories de régulateurs de croissance végétale : les auxines, les cytokinines, les gibbérellines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir *et al.*, 2004). L'acide indole-3-acétique (AIA) est la phytohormone la plus répandue, jouant un rôle crucial dans l'élongation des racines et la prolifération des poils absorbants (Spaepen *et al.*, 2007). Cette hormone est couramment produite par les PGPR (Barazani et Friedman, 1999), notamment par des bactéries telles qu'*Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Rhizobium* et *Enterobacter* (Karnwal, 2009), ainsi que par *Alcaligenes piechaudii*, *Rhizobium leguminosarum*, *Agrobacterium spp.* et *Comamonas acidovorans spp.* (Weyens *et al.*, 2010).

L'AIA sécrétée par les rhizobactéries interfère avec divers processus de développement de la plante, modifiant le pool endogène d'AIA de la plante par l'acquisition d'AIA sécrétée par les bactéries du sol (Glick, 2012; Spaepen *et al.*, 2007). De plus, l'AIA agit comme une molécule de signalisation réciproque, affectant l'expression des gènes dans plusieurs micro-organismes. Ainsi, l'AIA joue un rôle crucial dans les interactions plantes-rhizobactéries (Spaepen et Vanderleyden, 2011), influant sur la division cellulaire, l'extension et la différenciation des plantes, la germination des semences, le développement des racines, la croissance végétative, la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance au stress (**Fig. 4**). En conséquence, l'AIA rhizobactérienne est considérée comme une molécule effectrice dans les interactions microbiennes avec les plantes, tant dans la pathogénèse que dans la phytostimulation (Spaepen et Vanderleyden, 2011).

## 2. Protection contre divers phytopathogènes

### a) Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, la réduction des maladies est liée à une forte colonisation des racines par des bactéries bénéfiques, ce qui limite les sites disponibles pour les micro-organismes pathogènes et entrave leur croissance (Piano *et al.*, 1997). Les rhizobactéries à croissance rapide peuvent également éliminer les pathogènes fongiques en compétitionnant pour le carbone et les sources d'énergie (Kamilova *et al.*, 2005). Pour avoir un impact bénéfique sur les plantes et rivaliser pour les nutriments dans la rhizosphère, les PGPR doivent être suffisamment nombreux sur les racines (Haas et Defago, 2005).

Outre leur rapidité de croissance intrinsèque, d'autres caractéristiques favorisant la colonisation des racines incluent la mobilité (présence de flagelles), le chimiotactisme, la présence de lipopolysaccharides (LPS), la capacité à synthétiser des vitamines et des macromolécules, ainsi que la capacité à utiliser les composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

### **b) Antibiose**

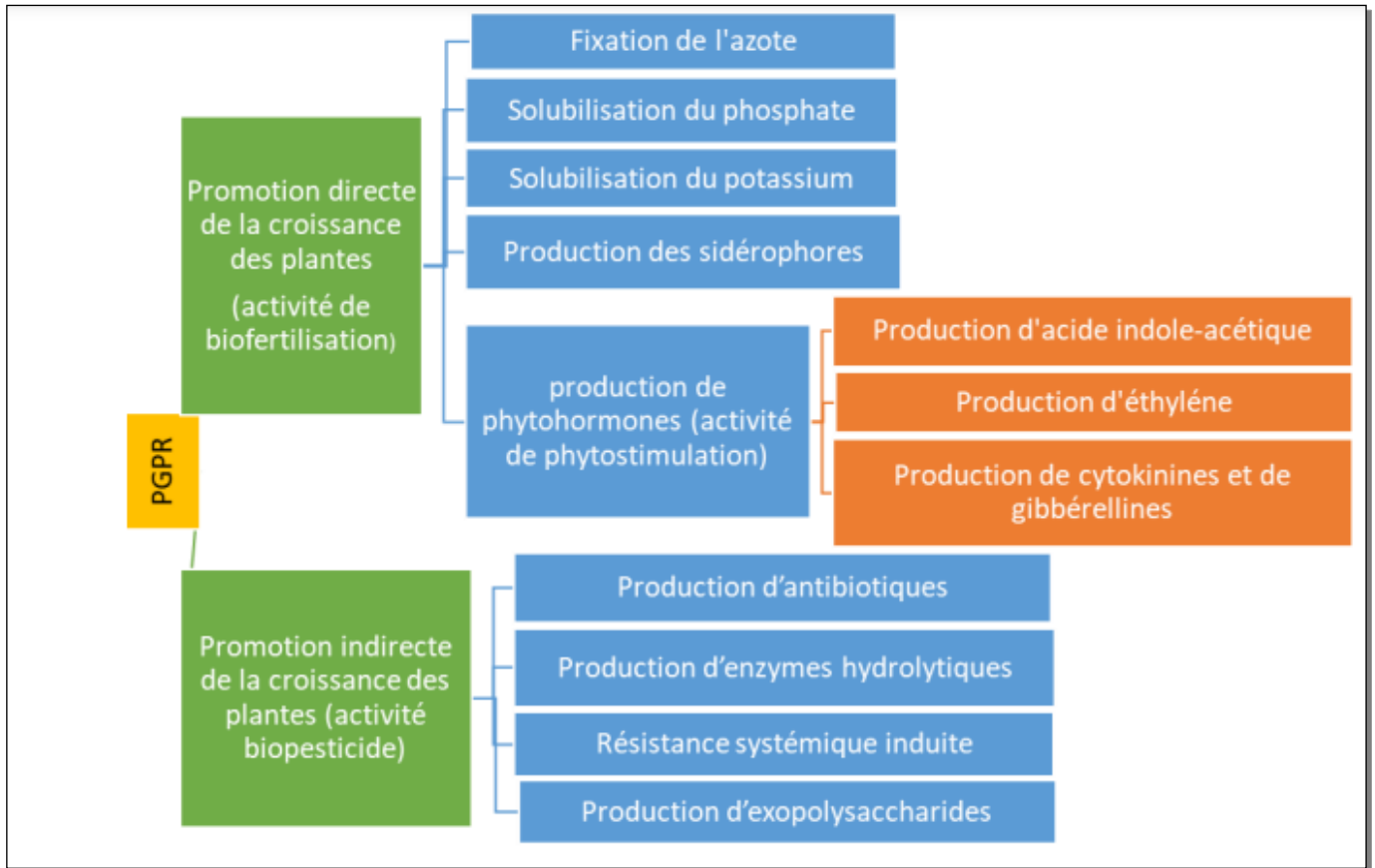
L'antibiose consiste en l'inhibition directe de la croissance des pathogènes par la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Les souches de *Pseudomonas* produisent divers métabolites antifongiques puissants, notamment l'acide cyanhydrique (HCN), un métabolite secondaire dont la glycine est le précurseur. Bien que le cyanure soit un inhibiteur métabolique général, il est synthétisé, excrété et métabolisé par certains organismes, dont les bactéries, comme moyen de défense contre la prédation ou la compétition. En général, le cyanure bactérien n'affecte pas les plantes hôtes (**Fig. 4**) (Zeller *et al.*, 2007). La production de HCN est une activité courante chez *Pseudomonas* (88,89%) et *Bacillus* (50%) dans la rhizosphère (Charest *et al.*, 2005; Ahmad *et al.*, 2008).

Certaines rhizobactéries produisent également des composés tels que la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones, les tensines et les tropolones (Defago, 1993; de Souza *et al.*, 2003; Haas et Defago, 2005). De plus, des composés comme l'oligomycine A, la kanosamine, la zwittermicine et la xanthobacine sont produits par des bactéries des genres *Bacillus spp.*, *Streptomyces spp.* et *Stenotrophomonas spp.* (Milner *et al.*, 1996; Nakayama *et al.*, 1999).

D'autres souches de PGPR possèdent la capacité de dégrader les parois cellulaires fongiques en produisant des enzymes hydrolytiques telles que la  $\beta$ -1,3-gluconase, les exo- et endo-polygalacturonases, les pectinolyases, les cellulases et les chitinases (Whippes, 2001).

### **c) Résistance systémique induite ou ISR**

La plante peut reconnaître certaines bactéries de la rhizosphère, ce qui peut déclencher une réaction d'immunisation lui permettant de mieux se défendre contre une attaque par un organisme pathogène. Cette forme d'immunisation, appelée résistance systémique induite (ISR), est considérée comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures (**Fig. 4**) (Ramos Solano *et al.*, 2008). L'ISR peut être induite par divers microorganismes, notamment des bactéries à Gram positif telles que *Bacillus pumilus*, ou des bactéries à Gram négatif appartenant au genre *Pseudomonas* (*fluorescens*, *putida*, *aeruginosa*), ainsi qu'à certaines entérobactéries telles que *Serratia* (*marcesens*, *plymuthica*) ou *Pantoea agglomerans* (Jourdan *et al.*, 2008).



**Figure 4:** Schéma montrant que les PGPR affectent directement et indirectement la croissance des plantes (Gupta et al., 2015).

### 3. Mécanismes de défense chez les plantes

Les plantes ont développé diverses stratégies de défense en réponse aux parasites, adaptées au type d'agent pathogène. Ces stratégies incluent des mécanismes de défense passive et active.

La défense passive repose sur les barrières protectrices que les plantes ont développées au cours de leur évolution contre les bioagresseurs, telles que la cuticule et la paroi pectocellulosique. Ces barrières mécaniques confèrent aux plantes une résistance innée aux agents pathogènes (Kauffmann *et al.*, 2001). Cependant, si ces barrières sont franchies, les plantes activent des mécanismes de défense actifs.

Les mécanismes de défense actifs commencent souvent par la réaction d'hypersensibilité (HR), une réaction spécifique basée sur le concept "gène pour gène" de Flor. Dans cette réaction, le produit du gène de virulence du pathogène est reconnu par le produit du gène de résistance de la plante (Klarzynski *et al.*, 2001). Cette réaction intense se manifeste par la mort de la cellule hôte, qui émet des signaux d'alerte vers les cellules voisines pour créer une zone de résistance locale acquise. Ensuite, la plante synthétise des molécules de défense antimicrobiennes à action directe ou indirecte. Ces premières lignes de défense sont efficaces pour confiner le pathogène et retarder son invasion.

La propagation des signaux et la synthèse des molécules de défense peuvent se généraliser à l'ensemble de la plante, entraînant une résistance systémique acquise (SAR). La SRI, proche de la SAR, est une forme de résistance stimulée spécifiquement par des rhizobactéries bénéfiques telles que les PGPR. Ces rhizobactéries stimulent les mécanismes de défense de la plante, réduisant ainsi les maladies (Van Loon *et al.*, 1998).

Les mécanismes précis par lesquels les PGPR contribuent à réduire l'incidence des maladies racinaires ne sont pas entièrement compris. Outre leurs effets antimicrobiens directs, les PGPR peuvent sensibiliser la plante à se défendre contre les attaques microbiennes en activant les gènes de défense. Ces interactions entre les PGPR et les plantes sont associées à des changements métaboliques importants, notamment la production de phytoalexines, l'accumulation de protéines de stress et la déposition de polymères structuraux (Van Peer *et al.*, 1991; Zdor et Anderson 1992; Albert et Anderson 1987).

En résumé, les plantes utilisent une combinaison de mécanismes de défense passive et active pour se protéger contre les pathogènes, avec la possibilité d'une stimulation spécifique de la résistance par des microorganismes bénéfiques comme les PGPR, offrant ainsi une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures.

## II. Diversité Génétique des PGPR

Les PGPR appartiennent à divers groupes bactériens, notamment les *Proteobacteria* (*Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, et *Gammaproteobacteria*), les *Firmicutes* et les *Actinobacteria*. Cette diversité est reflétée dans la diversité de leurs gènes et des mécanismes génétiques qu'ils utilisent pour promouvoir la croissance des plantes.

### 1. Gènes Impliqués dans la Promotion de la Croissance des Plantes

#### a) Fixation de l'Azote

Les gènes de fixation de l'azote (*nif*) (**Fig.5**) sont essentiels pour convertir l'azote atmosphérique en ammoniac, utilisable par les plantes. Par exemple, *Azospirillum* et *Rhizobium* possèdent des gènes *nif* qui leur permettent de fixer l'azote en symbiose avec les légumineuses. Les principaux gènes *nif* incluent:

- *nifH* : Code pour la nitrogénase réductase.
- *nifD* : Code pour la dinitrogénase.
- *nifK* : Code pour une autre sous-unité de la dinitrogénase.

Ces gènes sont présents dans des bactéries comme *Rhizobium*, *Azospirillum*, et *Bradyrhizobium* (Dixon *et al.*, 2004).

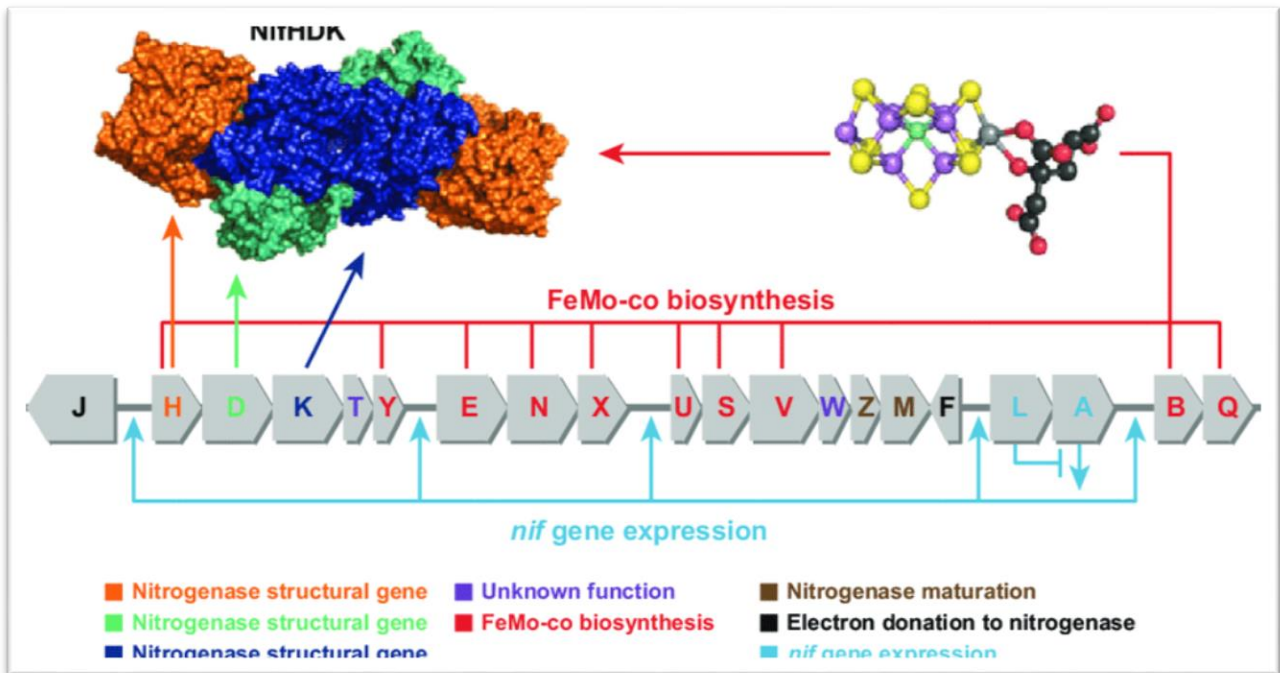


Figure 5: Groupe de gènes de fixation de l'azote (*nif*) de *Klebsiella pneumoniae*

### b) Solubilisation des Phosphates

Les gènes impliqués dans la solubilisation des phosphates, tels que *phn* et *pqq* (Fig.6), permettent aux PGPR de rendre le phosphate inorganique disponible pour les plantes. Ces gènes codent pour des enzymes comme la phosphatase et le gluconate déshydrogénase, qui solubilisent les phosphates minéraux dans le sol.

Ces gènes incluent:

- *pqq* : Code pour la pyrroloquinoline quinone, un cofacteur pour le gluconate déshydrogénase.
- *gcd* : Code pour le glucose déshydrogénase, impliquée dans la production d'acides organiques qui solubilisent les phosphates (Fig.7).

Ces gènes sont présents dans des bactéries comme *Pseudomonadota* et *Alphaproteobacteria* (Sharma et al.,2013).



Figure 6: Gène *pqqC* de la pyrroloquinoléine-quinone synthase (National Library of Medicine NIH)

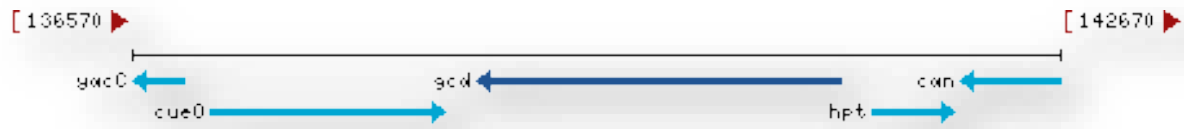


Figure 7: Gène de la quinoprotéine glucose déshydrogénase gcd (National Library of Medicine NIH)

### c) Production de Phytohormones

Les gènes codant pour la production de phytohormones, comme l'acide indole-3-acétique (IAA), la cytokinine et la gibberelline, sont présents dans de nombreux PGPR. Par exemple, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis* produisent de l'IAA, une hormone de croissance végétale qui stimule la formation des racines et le développement des plantes (Lambrecht *et al.*,2000).

Les gènes responsables de la production de phytohormones incluent:

- *iaaM*: Code pour la tryptophane monooxygénase (Fig.8).
- *iaaH*: Code pour l'indole-3-acétamide hydrolase (Fig.9).



Figure 8: Gène de tryptophane 2-monooxygénase *iaaM* [*Colletotrichum siamense*] (National Library of Medicine NIH)

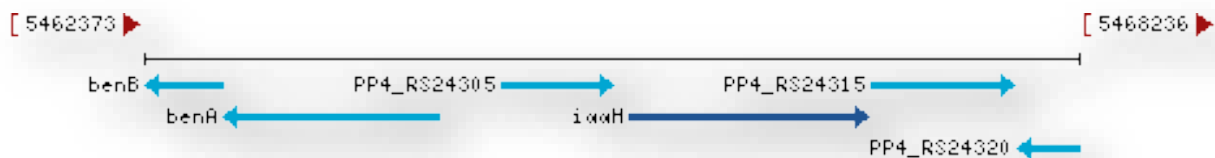


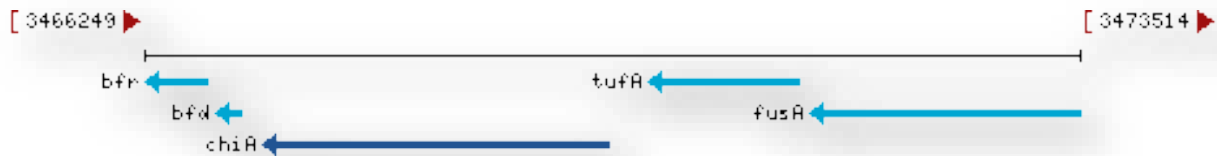
Figure 9: Gène *iaaH* indolécétamide hydrolase [*Pseudomonas putida* NBRC 14164 ] (National Library of Medicine NIH)

#### d) Suppression des Pathogènes

Les gènes de biosynthèse des antibiotiques et des enzymes lytiques, tels que *phl* (phloroglucinol) et *chi* (chitinase), permettent aux PGPR de combattre les agents pathogènes. *Pseudomonas spp.* produisent des antibiotiques qui inhibent la croissance de champignons pathogènes, tandis que *Bacillus spp.* produisent des enzymes qui dégradent les parois cellulaires des pathogènes (Haas, D. *et al.*,2005).

Les gènes de biosynthèse des antibiotiques et des enzymes lytiques incluent:

- *phlD* : Code pour la phloroglucinol synthase, impliquée dans la production d'antibiotiques comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG).
- *chiA* : Code pour la chitinase, une enzyme qui dégrade les parois cellulaires des champignons (**Fig.10**).



**Figure 10:** Gène *chiA* endochitinase [*Escherichia coli* str. K-12 sous-classe. MG1655]

#### e) Production des sidérophores

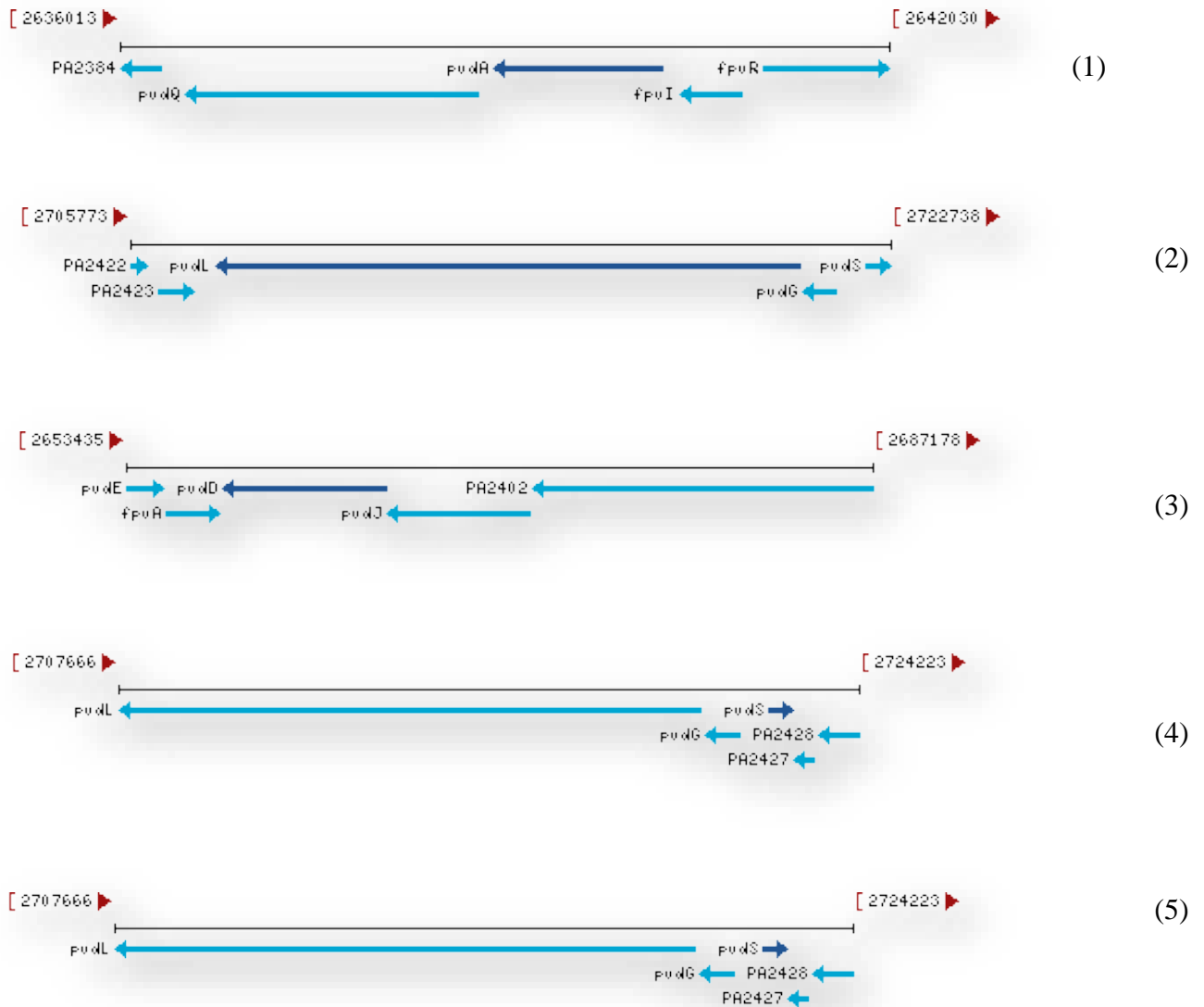
La production de sidérophores est régulée par des gènes spécifiques qui varient selon les espèces bactériennes. Par exemple, chez *Pseudomonas fluorescens*, plusieurs gènes comme *pvdA*, *pvdL*, et *pvdS* sont impliqués dans la biosynthèse de la pyoverdine, un type de sidérophore (Cornelis *et al.*,2002). Chez *Pseudomonas putida*, les gènes *pchEFGHI* et *pchR* sont responsables de la production de la pseudobactine (Höfte *et al.*,1997) (**Fig.11**). Ces gènes sont activés en réponse à une carence en fer, permettant aux bactéries de s'adapter à leur environnement.

- **Pyoverdine**

- *pvdA* : Ce gène code pour l'enzyme L-ornithine N5-oxygénase, impliquée dans la première étape de la biosynthèse de la pyoverdine. (**Fig 11. (1)**)
- *pvdL*, *pvdP*, *pvdQ* : Ces gènes codent pour des enzymes impliquées dans les étapes ultérieures de la biosynthèse et la modification de la pyoverdine. (**Fig 11. (2)**)
- *pvdD* : Code pour une enzyme impliquée dans l'activation de la pyoverdine. (**Fig 12. (3)**)

- *pvdF* : Code pour une enzyme qui incorpore la dihydroxyquinoline dans la structure de la pyoverdine. **(Fig 11. (5))**

- *pvdS* : Régulateur transcriptionnel sigma, qui active la transcription des gènes de la pyoverdine en réponse à une carence en fer. **(Fig 11. (6))** (Visca *et al.*,2007).



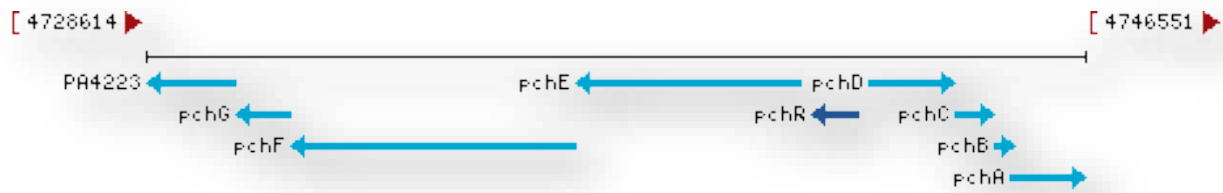
**Figure 11:** Gènes impliqués dans la synthèse de Pyoverdine (National Library of Medicine NIH)

- ***Pseudobactine (Fig.12)***

- *pchEFGHI* : Ces gènes sont impliqués dans la biosynthèse de la pseudobactine. Ils codent pour des enzymes nécessaires à la formation du sidérophore.



- *pchR* : Régulateur transcriptionnel activant les gènes de biosynthèse en réponse à une carence en fer. Il se lie aux séquences promotrices des gènes de sidérophore et active leur transcription (Meyer *et al.*, 1978).



**Figure 12:** Gènes impliqués dans la synthèse de Pseudobactine [ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 ] (National Library of Medicine NIH)

- **Ferrioxamine**

- *dfoA* : Code pour une acyl transférase impliquée dans la biosynthèse de la ferrioxamine.
- *dfoB* : Code pour une enzyme sidérophore non-ribosomale, qui participe à la formation du squelette de la ferrioxamine.
- *dfoC* : Code pour une enzyme qui finalise la biosynthèse de la ferrioxamine.
- *dfoR* : Régulateur transcriptionnel activant les gènes de biosynthèse de la ferrioxamine en réponse à une carence en fer (Barona-Gomez *et al.*, 2006).

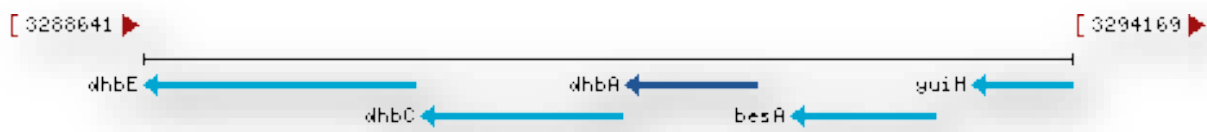
- **Agrobactine**

- *agbA* : Code pour une enzyme de type NRPS (Non-Ribosomal Peptide Synthetase), impliquée dans la première étape de la biosynthèse de l'agrobactine.
- *agbB* : Code pour une enzyme de type NRPS, qui participe à l'élongation de la chaîne peptidique.
- *agbC* : Code pour une enzyme impliquée dans la modification post-synthétique de l'agrobactine.
- *agbD* : Code pour une enzyme finalisant la biosynthèse de l'agrobactine.
- *agbR* : Régulateur transcriptionnel qui active la transcription des gènes de biosynthèse en réponse à une carence en fer (Holmes *et al.*, 1981).

- **Bacillibactine (catécholate)**

- *dhbA* : Code pour l'isochorismate synthase, enzyme initiale dans la voie de biosynthèse du bacillibactine.

- *dhbB* : Code pour l'isochorismate pyruvate lyase, convertissant l'isochorismate en dihydroxybenzoate.
- *dhbC* : Code pour l'aminotransférase, qui ajoute une glycine au dihydroxybenzoate.
- *dhbE* : Code pour une enzyme NRPS, impliquée dans l'assemblage de la structure tripeptidique du bacillibactine.
- *dhbF* : Code pour une enzyme NRPS, qui termine la chaîne peptidique.
- *dhbR* : Régulateur transcriptionnel activant les gènes de biosynthèse en réponse à une carence en fer (Dertz *et al.*, 2006).



**Figure 13:** Gène *dhbA* 2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase [ *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* str. 168 ] (National Library of Medicine NIH)

## 2. Mécanismes de Régulation Génétique

### a. Systèmes de Régulation à Deux Composants

Ces systèmes comprennent un capteur membranaire et un régulateur de réponse qui modulent l'expression génique en réponse à des signaux environnementaux. Par exemple, les systèmes à deux composants, tels que *GacS/GacA*, régulent divers processus cellulaires comme la production de métabolites secondaires et la motilité chez *Pseudomonas* (Heeb *et al.*, 2001):

- *GacS* : Code pour la kinase sensorielle.
- *GacA* : Code pour le régulateur de réponse.

### b. Facteurs de Transcription

Les facteurs de transcription, tels que LuxR et NifA, jouent un rôle crucial dans la régulation des gènes impliqués dans la symbiose, la fixation de l'azote et la biosynthèse des phytohormones.

- LuxR : Régule le quorum sensing.
- NifA : Active les gènes de fixation de l'azote (Fuqua *et al.*, 2002).

### c. Régulation par Quorum Sensing

Le quorum sensing est un mécanisme par lequel les bactéries détectent leur densité de population et régulent l'expression génique en conséquence. Chez le genre *Rhizobium*, ce mécanisme régule la production

d'exopolysaccharides nécessaires à la formation de nodules symbiotiques sur les racines des légumineuses par des gènes comme :

- lasI: Synthase de l'autoinducteur.

- lasR: Régulateur de transcription répondant à l'autoinducteur (Marketon *et al.*, 2002).

### **3. Applications de la Génétique des PGPR en Agriculture**

#### **a. Ingénierie Génétique**

L'introduction de gènes d'intérêt, tels que des gènes de fixation de l'azote ou de solubilisation des phosphates, dans des souches de PGPR non natives peut augmenter leur potentiel de promotion de la croissance des plantes (Oldroyd, *et al.*, 2014).

- Exemple: Introduction des gènes nif dans des bactéries non fixatrices d'azote.

#### **b. Sélection et Amélioration**

La sélection de souches de PGPR avec des traits génétiques avantageux et leur amélioration par mutagenèse dirigée peuvent améliorer leur performance sous diverses conditions environnementales (Borriss, R. 2011).

- Exemple: Sélection de souches de *Bacillus* avec une production élevée de chitinase.

#### **c. Production de Bioformulations**

La création de bioformulations contenant des PGPR génétiquement modifiés peut offrir des solutions durables pour augmenter la productivité agricole tout en réduisant l'utilisation de fertilisants chimiques.

La génétique des PGPR révèle un potentiel immense pour améliorer l'agriculture durable. En comprenant les mécanismes génétiques sous-jacents à la promotion de la croissance des plantes, il est possible de développer des stratégies innovantes pour exploiter ces microorganismes bénéfiques. La manipulation génétique et la sélection des PGPR peuvent mener à des avancées significatives dans la production agricole, contribuant ainsi à la sécurité alimentaire mondiale (O'Callaghan, M. 2016).

# **Matériel et méthode**

## Matériel et méthodes

### Partie 1 : isolement et conservation des PGPR

#### 1-1-Prélèvement des échantillons

Dans le but d'obtenir des souches de PGPR de la zone rhizosphérique des plantes, des échantillons de sol ont été collectés à partir d'une région agricole cultivée du blé dur proche de l'université Frères Mentouri. Les systèmes racinaires ont été récupérés avec la masse de sol rhizosphérique adhérente, en suivant un prélèvement aléatoire selon la méthode décrite par Pepper et Gerba (2004).

#### 1-2-Isolement du PGPR

Les bactéries PGPR ont été isolées du sol rhizosphérique en utilisant la méthode des suspensions-dilutions.

Les étapes d'isolement

1. Un gramme du sol a été placé dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile.
2. Après agitation de 30 minutes, 1 ml du surnageant a été transféré dans un autre tube contenant 9 ml d'eau stérile.
3. Une série de dilution décimale a été faite jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ .
4. Ensuite, 0,1 ml de chaque dilution a été étalé sur le milieu de culture sélectif King B (KB) (King et al., 1954), afin d'isoler des souches de *Pseudomonas* sp.
5. Après une incubation de 48 heures à 28°C, les souches PGPR ont été observées. Les souches sélectionnées ont été purifiées par culture en strie sur KB.

#### 1-3-Conservation des souches

Les différentes souches bactériennes sont transférées dans des tubes inclinés contenant un milieu KB avec 50% de glycérol, puis conservées à -4°C.

#### 1-4-Caractérisation microscopique

Pour observer les caractéristiques morphologiques des cellules au microscope, une petite quantité de bactéries a été prélevée de chaque souche pure. Cette étude nous a permis de distinguer les différentes espèces bactériennes en fonction de la forme de leurs cellules (bacilles et cocci).

Pour vérifier la pureté des isolats et faciliter l'identification, nous avons utilisé la coloration de Gram, un procédé essentiel pour identifier une bactérie isolée et vérifier la pureté de l'isolat. À partir d'une colonie après 24 heures de croissance, un frottis est fixé par la chaleur, puis recouvert de violet de Gentiane pendant une minute. Ensuite, le violet de Gentiane est éliminé avec du Lugol pendant une minute. Le frottis est ensuite

décoloré avec de l'éthanol jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. À ce stade, les cellules Gram négatives deviennent incolores et les cellules Gram positives restent violettes. Enfin, le frottis est soumis à une contre-coloration de 30 secondes à la fuchsine pour colorer les cellules Gram négatives. Après un bref rinçage à l'eau, le frottis est séché puis examiné.

## **Partie 2 : Mesure des activités promotrices de la croissance végétale**

### **1-Production des siderophores sur CAS solide**

La production de siderophores a été évaluée sur milieu CAS (Annexe 1) solide selon la méthode modifiée décrite par Pérez-Miranda et al. (2007). Les isolats ont été cultivés sur le milieu King B liquide pendant 24 heures, puis 10 µl de chaque culture ont été déposés en spot sur le milieu CAS pour détecter la production de siderophores, selon le protocole proposé par Schwyn et Neilands (1987). La formation d'un halo orangé autour des colonies indique la production des siderophores sur un milieu de couleur Bleu.

### **2- Solubilisation des phosphates**

Ce test évalue la capacité de nos isolats à solubiliser les phosphates en utilisant le milieu de Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948), qui contient du  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphate.

Pour cela, les isolats ont été déposés sous forme de spots sur le milieu PVK solide. Après incubation à 28°C pendant 10 jours, l'apparition des zones claires autour des colonies indique la solubilisation des phosphates.

### **3- Production d'ammonium**

La production de  $\text{NH}_3$  est testée sur eau peptonée selon la méthode de Capuccino et Sherman (1992). Elle consiste à inoculer 100 µl de la culture bactérienne dans les tubes contenant l'eau peptonée, puis à incuber à 28°C pendant 48 heures. L'addition de 0,5 ml du réactif de Nessler (donne une couleur jaune à marron, indiquant la production de  $(\text{NH}_3)$ ).

### **4- Production d'HCN**

La capacité de nos souches à produire de l'acide cyanhydrique (HCN) a été testée selon la méthode de Bakker et Schipperes (1987), sur milieu King B additionné de glycine (4,4 g/l). Les isolats sont ensemencés par stries sur la gélose en boîtes de Pétri. Un disque de papier Whatman N°1 de 9 cm de diamètre imprégné d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et 2% de carbonate de sodium anhydre) est déposé au fond du couvercle de la boîte. Celle-ci est scellée avec du papier parafilm et incubée à 28°C pendant 96 heures. Un résultat positif se traduit par le virage du papier Whatman du jaune vers une couleur orange à marron, indiquant la production de HCN volatile.

## **5- Production de l'acide indole acétique (AIA)**

La production d'auxines a été testée sur gélose nutritive GN auquel est ajouté 0,5% de L-tryptophane. Le milieu nutritif a été recouvert de disques de papier Whatman n°1 (90 mm de diamètre), puis incubées à 30°C pendant 48 h. Le papier a été, ensuite, imprégné de réactif de Salkowski (2% de FeCl<sub>3</sub> à 0.5M dans 35% d'acide perchlorique). L'apparition d'une couleur rose rouge, après 30 minutes de réaction, est l'indication de la production d'AIA (Bric et al., 1991).

## **6- Production d'enzymes impliqués dans la suppression**

### ***6-1- La Cellulase***

La production des cellulases est mesurée en suivant la méthode décrite par Cattelan et al. (1999). Les isolats sont cultivés sur un milieu King B enrichi avec 1% de CMC (Carboxyméthylcellulose). Après une incubation à 30°C pendant 5 jours, les boîtes sont imprégnées d'une solution de rouge Congo (1% p/v) pendant 20 minutes, puis rincées avec une solution de NaCl 1N. L'apparition d'un halo clair autour des colonies indique une réaction positive.

### ***6-2- L'amylase***

La détection de l'amylase est réalisée en cultivant les isolats sur une gélose nutritive enrichie de 1% d'amidon (Delarras, 2014). Après une incubation de 5 jours à 30°C, les boîtes de Pétri sont recouvertes d'une solution d'iode. Une réaction positive est indiquée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Holt et al., 1994).

### ***6-3- La protéase***

La production de protéase est identifiée par la formation d'un halo clair autour des colonies cultivées sur une gélose au lait écrémé. Cette gélose est préparée en mélangeant 1 g d'agar dissous dans 50 ml d'eau distillée avec 5 g de lait écrémé en poudre dilué dans 50 ml d'eau distillée (Chaiharn et al., 2008).

### ***6-4- La pectinase***

La détection de la pectinase est effectuée sur un milieu King B enrichi de 0,5% de pectine. Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 48 heures, puis recouvertes d'une solution d'iode pendant 30 minutes. L'apparition d'un halo clair autour des colonies indique une réaction positive (Delarras, 2014).

## **7-Activité antifongique in vitro**

Ce test vise à évaluer l'action inhibitrice de nos isolats bactériens sur deux isolats phytopathogènes isolé et identifier par Sebihi (2016) : Fus 1 (*Fusarium culmorum*) et Fus 7 (*Fusarium pseudograminiarum*).

L'essai a été réalisé sur milieu de culture solide (PDA) selon la méthode décrite par Vincent et al. (1991). Les isolats sélectionnés ont été étalés sur une moitié d'une boîte gélosée, tandis qu'un disque fongique de 4 mm provenant d'une culture d'au moins cinq jours a été déposé à l'opposé sur l'autre moitié.

Les boîtes ont été incubées à 25 et 28°C pendant 10 jours, en fonction de la température optimale du champignon pathogène. Les résultats ont été notés lorsque la croissance des mycéliums dans les boîtes témoins a atteint les points d'inoculation des souches bactériennes (Hariprasad et al., 2009). La réduction du diamètre des colonies mycéliennes des champignons pathogènes en présence des isolats, comparée au témoin non inoculé, indique une activité antagoniste.

### **Partie 3 : Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum*. Selon ( Sebihi 2016 )**

35 isolats ont été sélectionnés en raison de leur production de métabolites secondaires pouvant jouer un rôle dans la biostimulation, notamment l'AIA et l'HCN, et la production des enzymes d'intérêt agricole. Les souches bactériennes sont cultivées à 28°C pendant 24 heures dans un bouillon nutritif. Les suspensions fongiques sont préparées à partir de cultures âgées de 7 jours et inoculées dans un milieu PDA liquide.

Les graines de blé dur de la variété GTA (Geta-dur) sont stérilisées en surface avec de l'éthanol à 96% pendant 1 minute, puis avec une solution d'hypochlorite de sodium (2%) pendant 15 minutes, et rincées plusieurs fois à l'eau distillée stérile. Les graines sont ensuite laissées à germer sur du papier filtre imbibé d'eau distillée stérile au fond des boîtes de Pétri.

Le sol utilisé pour les essais in situ a été prélevé d'un champ de blé dans la région d'Ain el Bye, Constantine. Ce sol a été stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 1 heure, l'opération étant répétée 3 fois après refroidissement (Chao et al., 1986).

Le sol stérilisé est réparti dans des pots en plastique désinfectés à l'éthanol. Les graines germées sont semées à une profondeur de 1 cm de la surface et inoculées avec 2 ml de suspension bactérienne par graine (trois graines par pot). Les graines non inoculées (témoins) reçoivent de l'eau distillée stérile (quatre répétitions ont été réalisées).

Cette expérience visait en premier lieu :

- à tester le pouvoir antagoniste des isolats PGPR contre deux agents pathogènes, Fus1 : *Fusarium culmorum* et Fus7 : *Fusarium pseudograminearum*. Une semaine après la plantation, les plantes ont été



infectées avec 5 ml de suspension fongique par pot. Deux témoins ont été utilisés : l'un traité uniquement avec Fus1 et l'autre uniquement avec Fus7. L'expérience a duré 60 jours.

- à tester la stimulation de la croissance des plantes. Les plantes ont été inoculées uniquement avec la suspension bactérienne, tandis que le témoin a été traité uniquement avec de l'eau distillée stérile.

La hauteur des plantes après 60 jours a été mesurée pour les deux parties du test.

# **Résultats et discussion**

# Résultats et discussion

## Partie 1 : Isolement des PGPR

### 1. Caractérisation phénotypique des isolats

La sélection de nos isolats repose sur la croissance sur le milieu de culture spécifique, King B qui est un milieu pauvre afin d'isoler des bactéries productrices de pigment. Les caractéristiques morphologiques sur le milieu KB ont permis la collection de 35 souches bactériennes fluorescentes.

L'observation morphologique des colonies de nos isolats, montre qu'ils sont crème à blanchâtres avec formes rondes, bords réguliers, des reliefs bombés avec des surfaces lisses ; alors que l'observation microbiologique après la coloration de Gram, a fait ressortir des souches de forme bacillaire et à Gram négatif et d'autres de forme coccobacille a Gram positif (Fig.14).

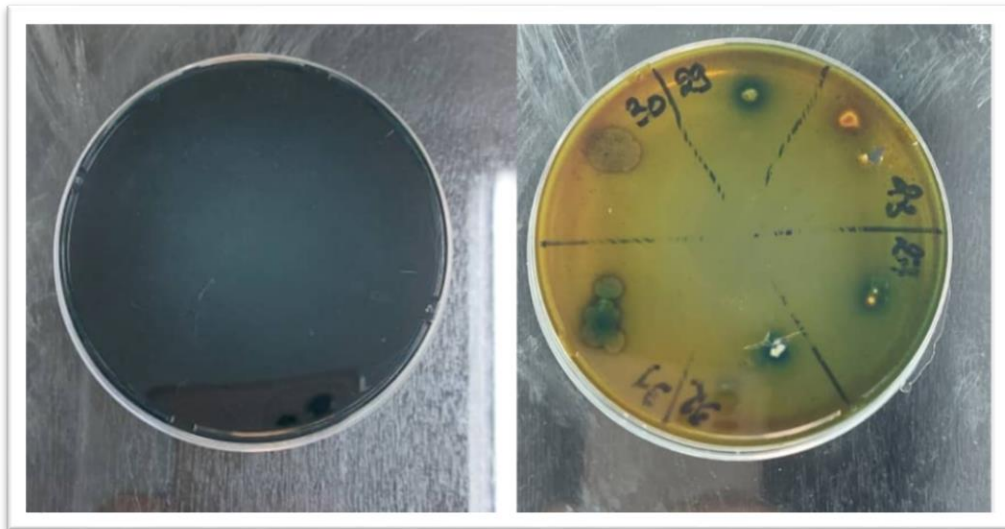


*Figure 14: Observation microscopique des isolats après coloration de Gram (X100)*

## Partie 2 : Mesure des activités promotrices de la croissance végétale

### 2-1-Production des siderophores

L'analyse de la composition chimique des siderophores a montré que tous les isolats étudiés produisent des siderophores (figure 15).



*Figure 15: Production des siderophores sur le milieu gélosé au CAS*

La détection qualitative des siderophores réalisée sur milieu KB, reconnu pour sa composition sans fer, favorise la libération des siderophores dans le milieu. Les souches préalablement sélectionnées en fonction de la synthèse d'un pigment fluorescent diffusable sur le milieu KB ont présenté un halo orange bien défini sur le milieu CAS, indiquant ainsi la production de siderophores (Figure 16). Excepté pour quatre souches, Bnj 3, Bnj 4, Bnj 5, Bnj 6, Bnj 15, Bnj 16, Bnj 17, Bnj 18, qui ne montrent aucun halo autour des colonies, indiquant l'absence de production de siderophores détectables. Les souches BNJ 2, BNJ 7, BNJ 8, BNJ 9, BNJ 10, BNJ 13, BNJ 14, BNJ 19, BNJ 20, BNJ 24, BNJ 27, BNJ 28, BNJ 29, BNJ 30, BNJ 31, BNJ 32, BNJ 33, BNJ 34 et BNJ 35 montrent une réponse positive simple, indiquant une production de siderophores modérée mais perceptible. Les souches BNJ 11, BNJ 12, BNJ 21, BNJ 22, BNJ 23 et BNJ 26 montrent une réaction positive double, suggérant une production de siderophores plus intense, marquée par des halos plus larges et colorés autour des colonies.

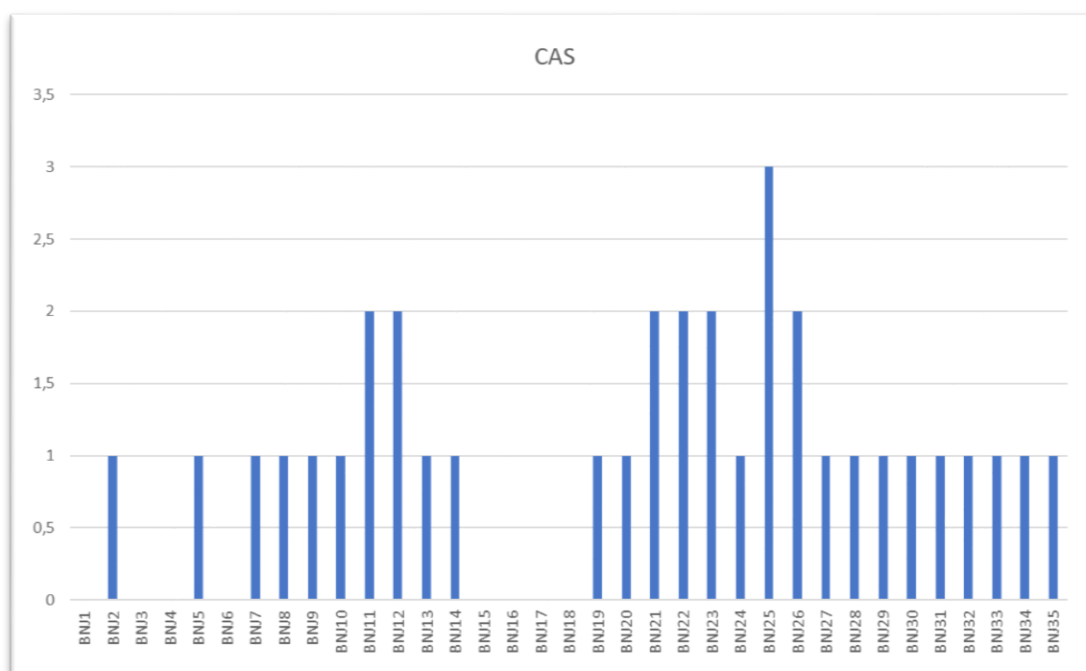


Figure 16: Production des siderophores sur le milieu gélosé CAS

Les PGPR sécrètent des sidérophores de faible poids moléculaire ayant la capacité de chélater le fer, ce qui rend l'accès au fer très difficile pour les autres microbes. Les sidérophores se lient la forme soluble de fer du sol pour le rendre disponible aux plantes (Chakraborty et al., 2009).

## 2-2- La Solubilisation des phosphates

Les 35 souches isolées ont été évaluées pour leur capacité à solubiliser le phosphate inorganique sur un milieu solide de Pikovskaya, utilisant le phosphate tricalcique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) comme unique source de phosphore. Après une incubation de 10 jours à  $28^\circ\text{C}$ , 28 souches ont produit une zone claire autour de la colonie, qui traduit une solubilisation de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (Figure 17).

- 6 souches (BNJ 1, BNJ 19, BNJ 22) ont produit une forte zone claire autour de la colonie, ce qui indique une solubilisation élevée du phosphate (indiquée par +++).
- 7 souches (BNJ 15, BNJ 16, BNJ 21, BNJ 23, BNJ 24, BNJ 26) ont montré une solubilisation modérée du phosphate avec des indices de solubilisation notés ++.
- 15 souches (BNJ 2, BNJ 3, BNJ 4, BNJ 5, BNJ 6, BNJ 10, BNJ 13, BNJ 14, BNJ 20, BNJ 25, BNJ 27, BNJ 28, BNJ 30, BNJ 31, BNJ 34, BNJ 35) ont montré une faible solubilisation du phosphate avec des indices de solubilisation notés +.

- 7 souches (BNJ 7, BNJ 8, BNJ 9, BNJ 11, BNJ 12, BNJ 17, BNJ 18, BNJ 29, BNJ 33) n'ont montré aucune solubilisation du phosphate (indiquée par -) ( Figure 18).

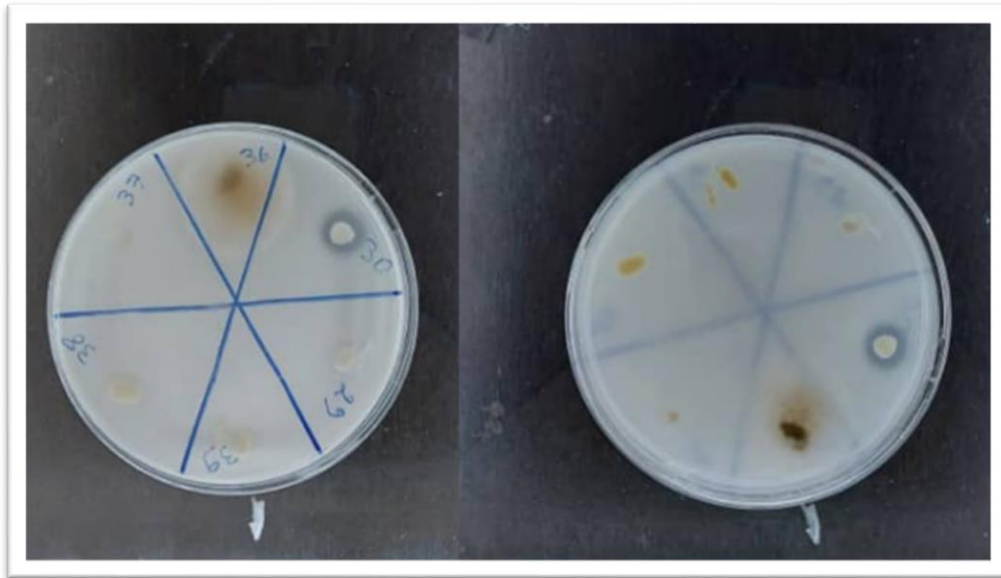


Figure 17: Colonies de de bactéries isolé avec halo de solubilisation

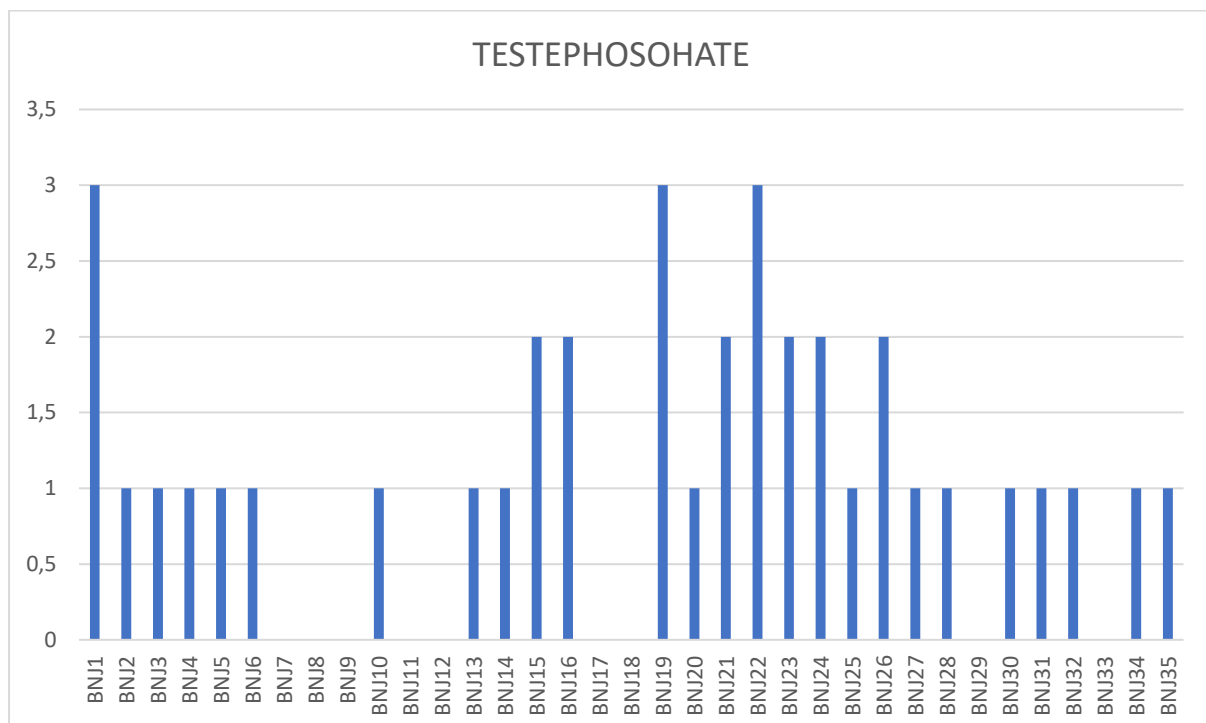


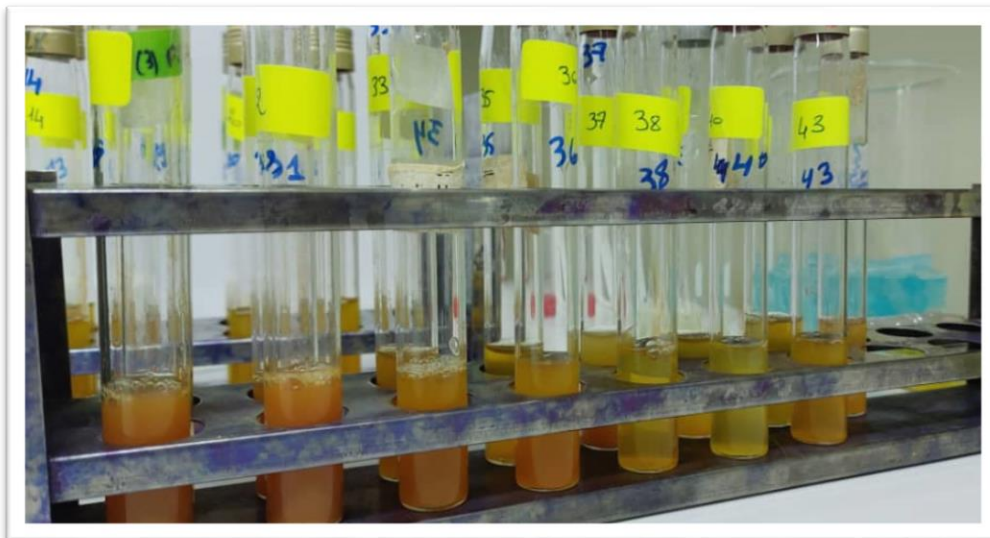
Figure 18: Solubilisation du Phosphate par les isolats sur milieu Pikovskaya solide

Le phosphore (P) est considéré, comme un élément vital pour la vie des plantes et des animaux, et il joue un rôle crucial dans le métabolisme des plantes et est l'un des nutriments essentiels nécessaires à leur croissance et à leur développement (Qureshi et al, 2012).

Dans la rhizosphère il existe des bactéries solubilisant le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et l'acide 2- céto gluconique. Leur capacité à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important pour les PGPR. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent biofertilisant dans l'agriculture (Khan *et al.*, 2009).

### 2-3-Production d'ammonium

Après avoir ajouté le réactif de Nessler aux suspensions bactériennes, un précipité jaune-brun s'est formé pour tous les isolats, indiquant la production d'ammonium



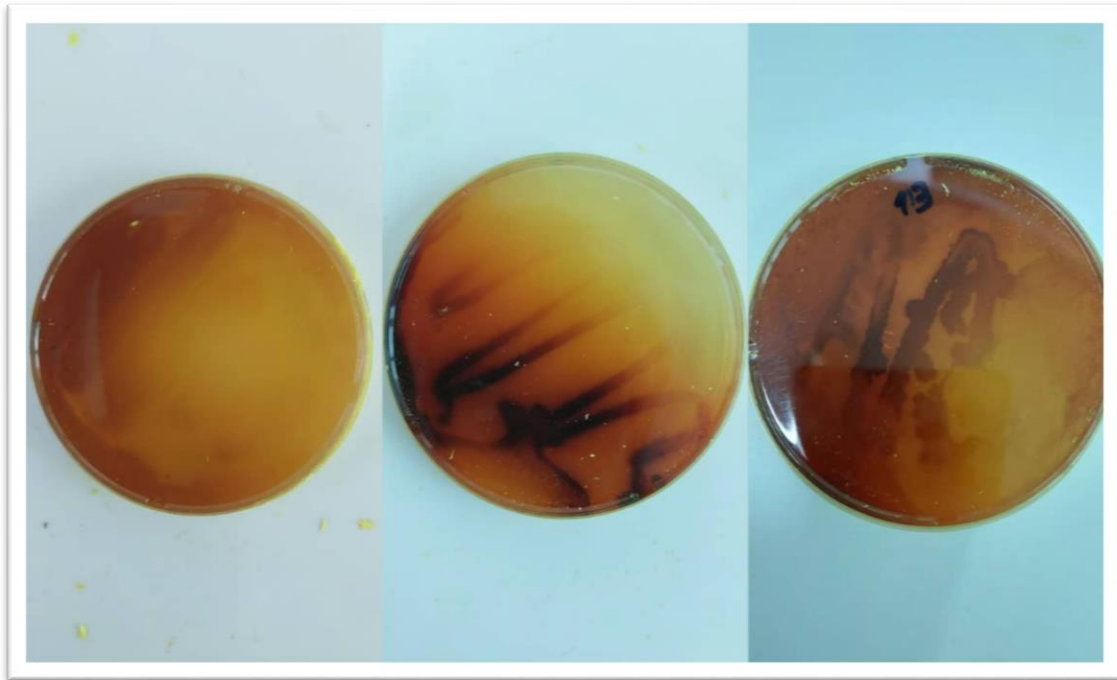
*Figure 19: Production d'NH<sub>3</sub>*

La production d'ammoniac est considérée comme un facteur crucial des rhizobactéries, car elle améliore indirectement la croissance des plantes (Joseph et al., 2007) et joue un rôle important dans la signalisation au cours des interactions entre plantes et rhizobactéries (Becker et al., 2002). Il est bien établi que l'ammoniac libéré par les bactéries stimule l'activité de la glutamine synthétase (Sood et al., 2002). alors que la fixation biologique de l'azote relève uniquement du domaine des procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction de l'azote atmosphérique en ammoniac (Weyens *et al.*, 2010).

### 2-4-Production d'HCN

La production de HCN a été mise en évidence par l'apparition d'une couleur marron orangé sur un papier filtre imprégné d'acide picrique. Sur un milieu contenant de la glycine, cette production a montré une

variabilité significative entre nos isolats. Cette variabilité peut s'expliquer par des niveaux d'expression différents des gènes impliqués dans la production de HCN, comme l'ont décrit (Ramette *et al.*, 2003). Les souches ont été classées en deux groupes : les producteurs faibles et les producteurs forts.



*Figure 20: Production du HCN sur milieu a la glycine*

Parmi les 35 souches testées :

- Forte production : 18 souches (BNJ 3, BNJ 11, BNJ 14, BNJ 15, BNJ 17, BNJ 18, BNJ 19, BNJ 22, BNJ 25, BNJ 27, BNJ 29, BNJ 31, BNJ 32, BNJ 33) ont montré une forte production de HCN (+++).

- Production faible : 5 souches (BNJ 2, BNJ 12, BNJ 20, BNJ 35) ont montré une production modérée de HCN (++) .

- Absence de production : 12 souches (BNJ 1, BNJ 4, BNJ 5, BNJ 8, BNJ 23, BNJ 28, BNJ 30) ont montré une faible production de HCN (+), tandis que 7 souches (BNJ 6, BNJ 7, BNJ 9, BNJ 10, BNJ 13, BNJ 16, BNJ 24) n'ont montré aucune production de HCN (-).

Cette classification démontre que la majorité de nos isolats ont la capacité de produire du HCN, ce qui est crucial pour leur rôle dans la suppression de divers agents pathogènes, notamment les champignons (Verma *et al.*, 1989). La HCN synthétase, une flavoprotéine membranaire, catalyse la formation de HCN et de CO<sub>2</sub> à



partir de la glycine (Ramette et al., 2003). En plus de son action directe sur les cellules pathogènes en inhibant la cytochrome c oxydase de la chaîne respiratoire, le HCN contribue également à la capture de certains ions métalliques et peut agir comme inducteur de résistance végétale (Blumer et Haas, 2000 ; Kumar et al., 2012).

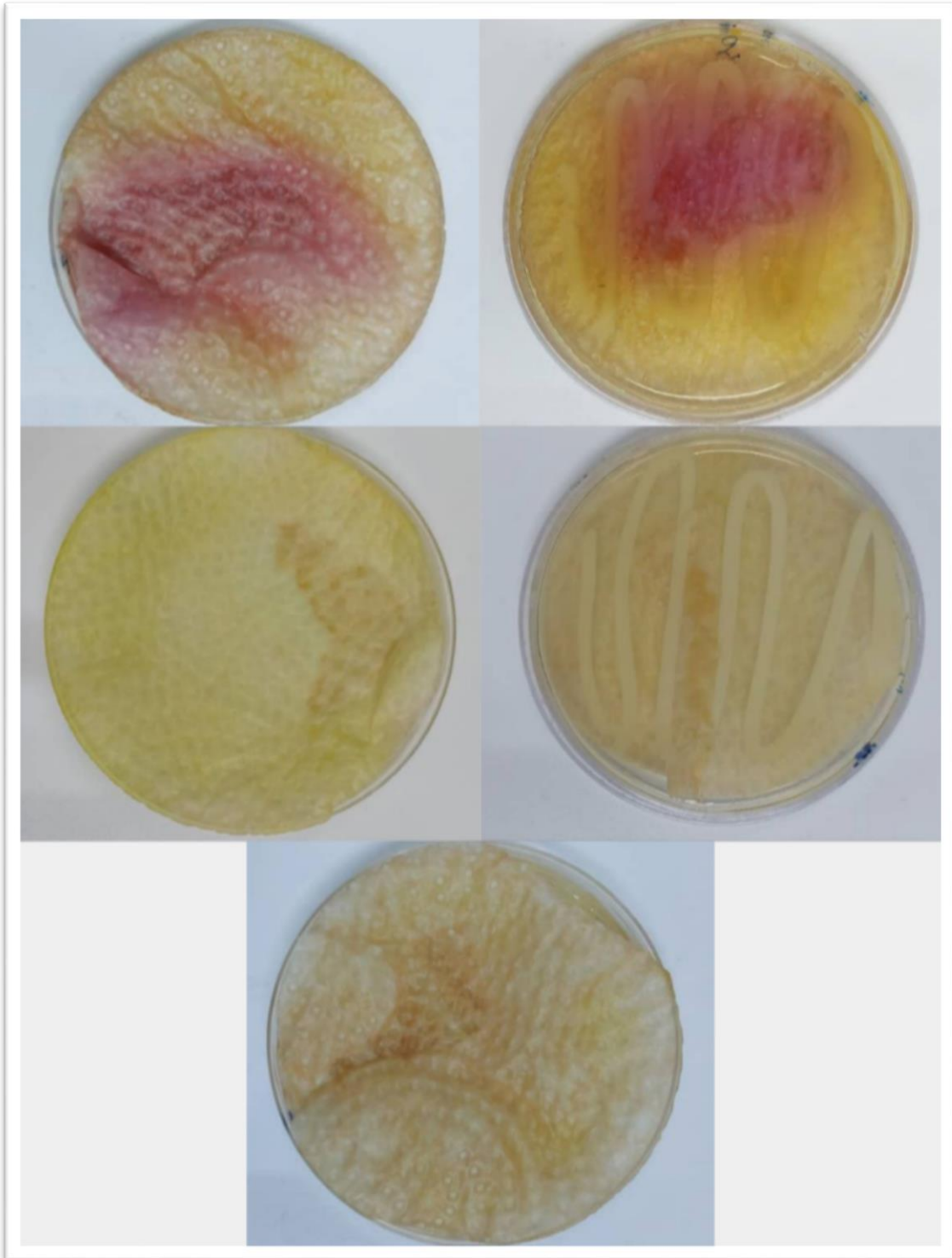
### **2-5-Production d'AIA**

Selon les données obtenues sur la capacité de production de l'AIA testée sur milieu KB additionné de tryptophane, 34 isolats synthétisent l'AIA, ce qui est révélé par le développement d'une couleur rose après l'ajout du réactif de Salkowski, avec une variation dans la production.

Ces variations vont de + (BNJ 15, BNJ 17, BNJ 19, BNJ 20, BNJ 23) à +++ (BNJ 2, BNJ 3, BNJ 4, BNJ 7, BNJ 8, BNJ 10, BNJ 11, BNJ 16, BNJ 21, BNJ 22, BNJ 24, BNJ 25, BNJ 26, BNJ 27, BNJ 28, BNJ 35). Une souche, BNJ 33, ne montre aucune production d'AIA.

L'AIA est une phytohormone connue pour son implication dans l'élongation des racines, la division cellulaire et l'élargissement des cellules (Salisbury, 1994). Cette hormone est fréquemment produite par les PGPR (Barazani et Friedman, 1999). Nos résultats concordent avec plusieurs travaux, tel que celle de Brik *et al.* (1991), qui ont démontré la présence de l'AIA chez les PGPR.

La production de cette hormone varie d'une souche à l'autre chez différentes espèces, et cette variation est également influencée par les conditions de culture telles que la phase de croissance et la disponibilité du substrat (Mirza *et al.*, 2001). Parmi les rhizobactéries non symbiotiques, les *P. fluorescens* sont en tête en termes de sécrétion d'AIA (Karnwal, 2009; Miliani, 2012). Ces PGPR peuvent influencer la nutrition des plantes en produisant des hormones (Alami *et al.*, 1999). La modification des équilibres hormonaux des plantes peut également améliorer leur nutrition (par exemple, l'auxine stimule la production de racines secondaires et de poils absorbants).



*Figure 21: Production qualitative d'Acide indole acétique*

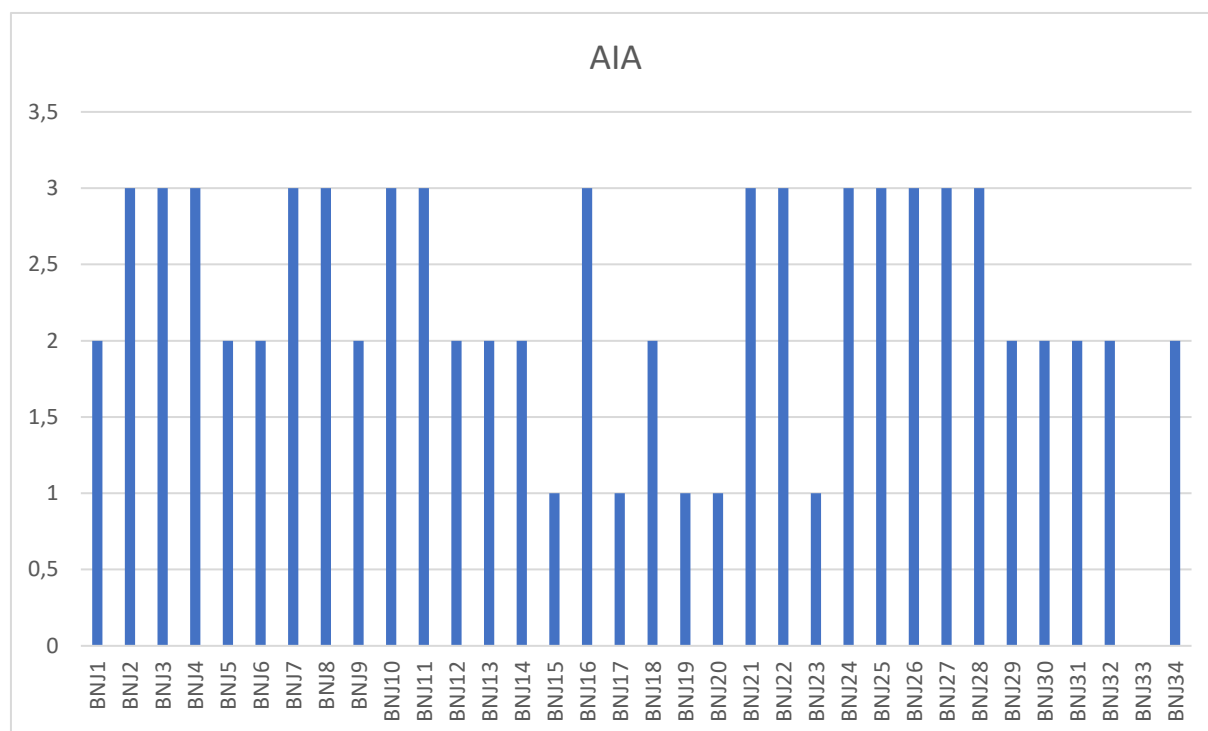


Figure 22: Production quantitative d'acide indole acétique.

### 2-6-Production d'enzymes impliqués dans la suppression

Les résultats de la production des enzymes de dégradation montrent ceci :

- Pour la Protéase : Près de 74,29 % ont révélé une activité positive, alors qu'environ 25,71 % ont montrés des résultats négatifs, suggérant une forte activité de cette enzyme pour les isolats testés.
- Pour la Pectinase : Les résultats sont plus équilibrés, avec un pourcentage de 54,29 % d'isolats montrent un résultat positifs et 45,71 % présentent un résultat négatif. Cela indique une activité modérée de la pectinase, moins marquée que celle de la protéase.

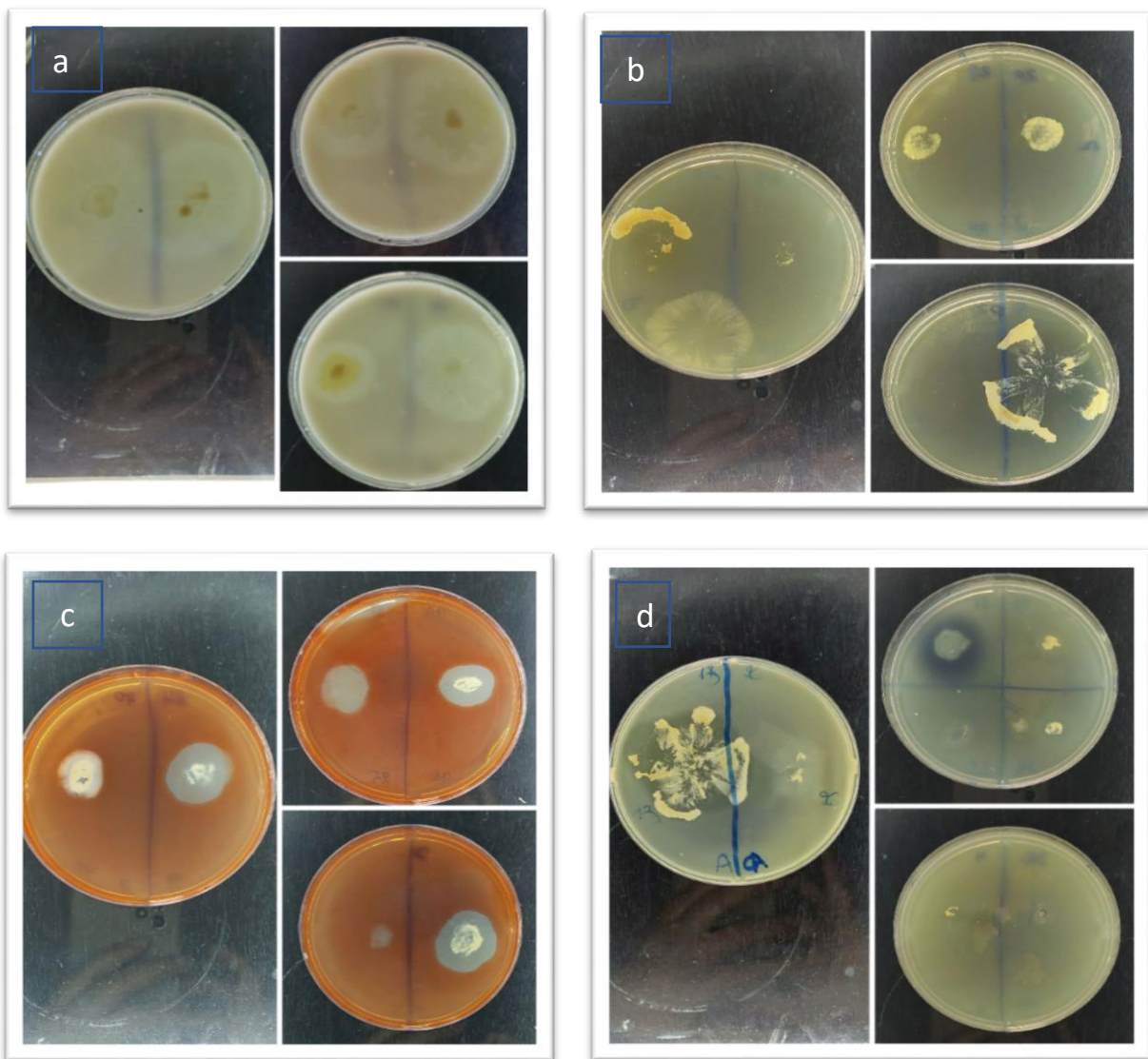
**Tableau** : les résultats des tests enzymatiques.

Tests	Pourcentage (%)	
	(+)	(-)
Protéase	74,29%	25,71%
Pectinase	54,29%	45,71%
Cellulase	97,14%	2,86%

Amylase	97,14%	2,86%
---------	--------	-------

- En fin pour la Cellulase et l'Amylase, les isolats montrent des résultats très similaires, avec un pourcentage près de 97,14 % de test positifs, indiquant une forte activité enzymatique, et uniquement 2,86 % des isolats, ont donné des résultats négatifs, ce qui est relativement faible.

En résumé, ces résultats révèlent une forte activité enzymatique pour la protéase, la cellulase et l'amylase, tandis que la pectinase présente une activité modérée. Les résultats positifs prédominent dans tous les cas, ce qui suggère une efficacité globale des enzymes testées.



**Figure 23:** production des enzymes de dégradation a-Production de la protéase, b-Production de la pectinase, c-Production de la cellulase, d-Production de L'amylase

Le parasitisme et/ou la lyse des champignons par les rhizobactéries est facilitée par la production d'enzymes hydrolytiques, qui dégradent les parois des cellules fongiques. Les protéase, les cellulase, et les pectinases sont des enzymes hydrolytiques d'importance majeure (Kishore *et al.*, 2005). La production d'enzymes hydrolytiques a été décrite chez de nombreuses bactéries impliquées dans le bio contrôle (Friedlender *et al.*, 1993 ; Viswanathan et Samiyappan, 2001).

### 2-7-Activité antagoniste in vitro

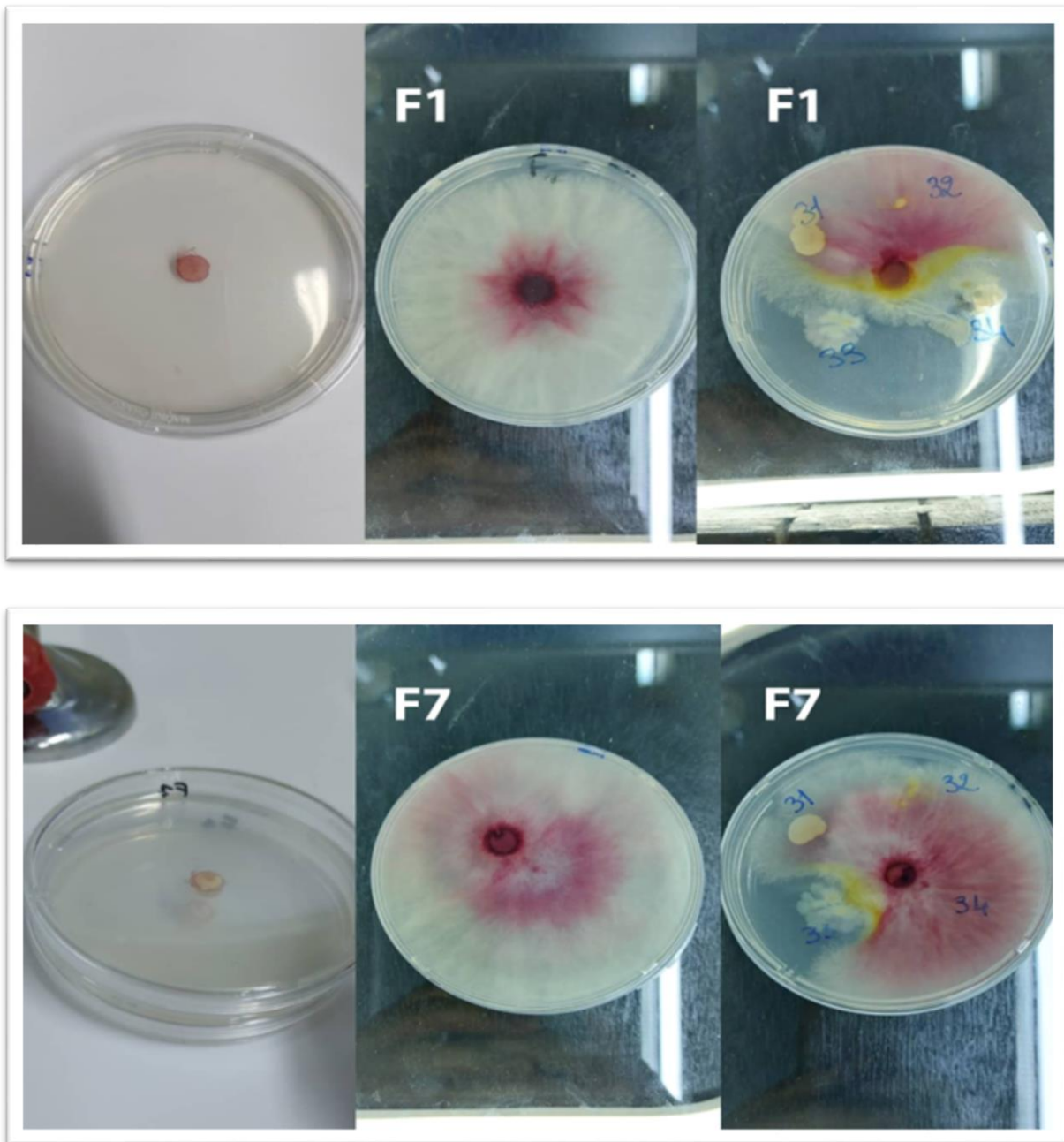
Le potentiel antagoniste de nos isolats PGPR a été testé sur un milieu PDA contre deux isolats fongiques du blé, Fus1 (*Fusarium culmorum*) et Fus7 (*Fusarium pseudograminearum*), et a produit les résultats suivants :

Souches	Pourcentage Fus 1 (%)		Pourcentage Fus 7 (%)	
	(+)	(-)	(+)	(-)
	17,14%	82,86%	31,43%	68,57%

- Les données révèlent une différence notable dans les pourcentages de l'activité antifongique de nos isolats contre Fus 1 et Fus7, il ressorts deux groupes de souches :
- Le groupe de souches (+), un pourcentage d'activité qui atteint 17,14% contre Fus 1 tandis que, l'activité contre Fusa 7 atteint 31,43%.
- Le groupe de souches (-), ou Fus 1 est beaucoup plus résistant avec un pourcentage de 82,86%, contre 68,57% pour Fus 7.

Cette comparaison met en évidence une différence significative dans la prévalence de Fus 1 et Fus 7 entre les deux groupes de souches, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour la résistance ou la sensibilité aux infections fongiques selon le type de souche.





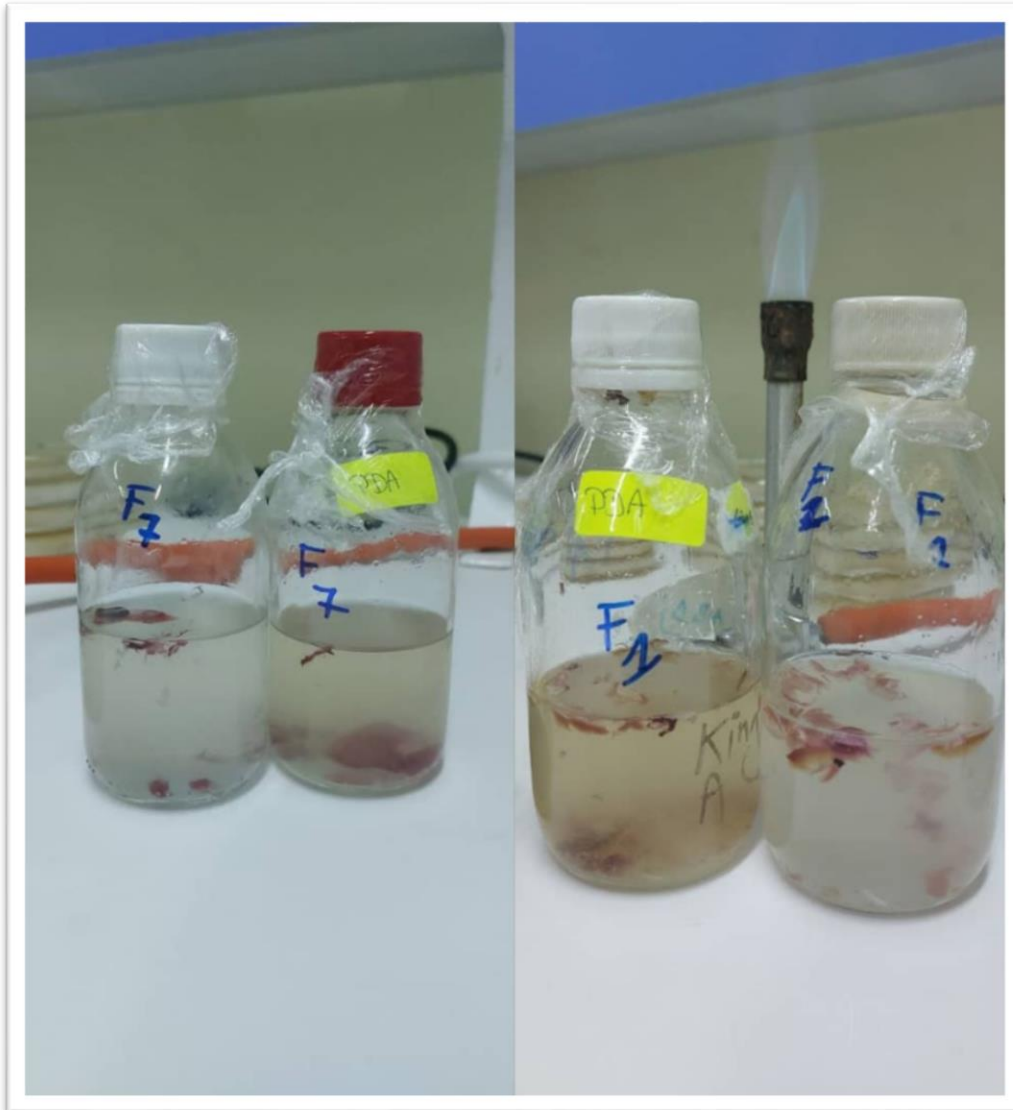
**Figure 24:** Activité antifongique contre *Fus1* : *Fusarium culmorum* et *Fus7* : *Fusarium pseudograminearum*

**Partie 3 :** Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum*

Le test *in planta* a été réalisé sur pot, avec du sol stérile et de graines stériles, sur une période de deux mois et deux semaines. Ce test a pour but de tester :

- L'effet de l'inoculation bactérienne sur la stimulation de la croissance des plantes de blé dur.
- L'effet antifongique de nos isolats sélectionnés *in planta* sur deux agents phytopathogènes Fus1 : *Fusarium culmorum*, et Fus7 : *Fusarium pseudograminearum* (Figure25).

Les résultats de ce test sont récapitulés dans un tableau en mesurant la hauteur des tiges des plantes (Tableau 3 Annexe 5).



**Figure 25:** F1( *Fusarium culmorum*) F7( *Fusarium pseudograminearum*)

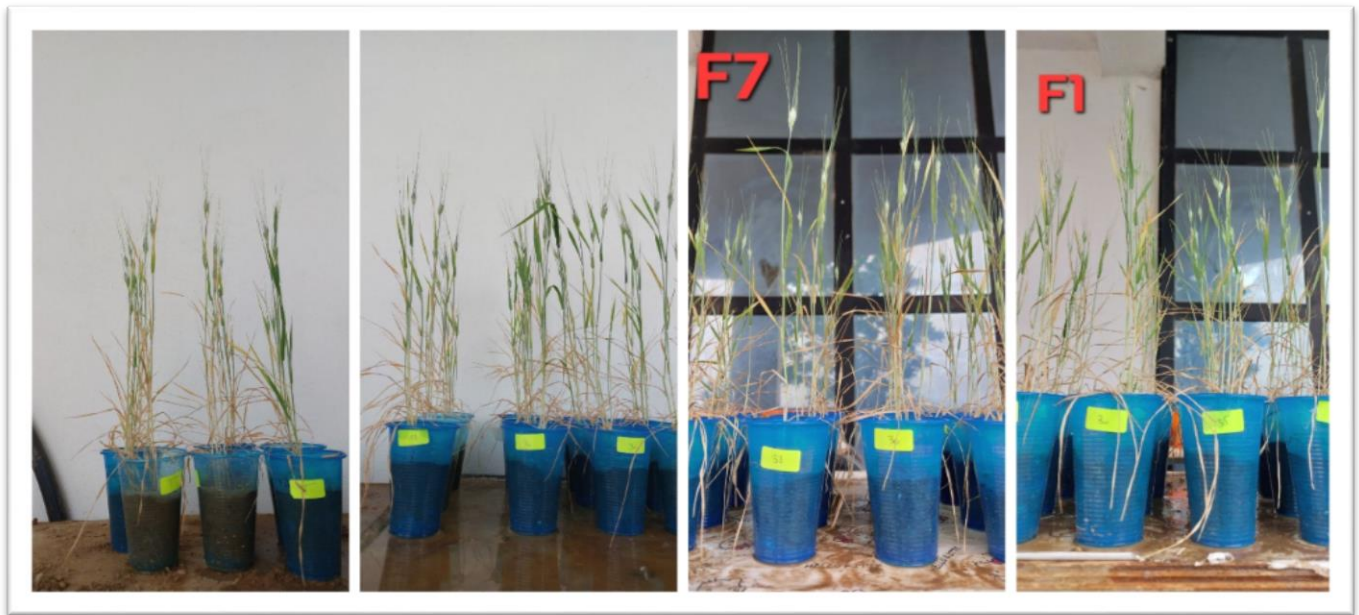


Figure 26: Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du Fus 1 et Fus 7

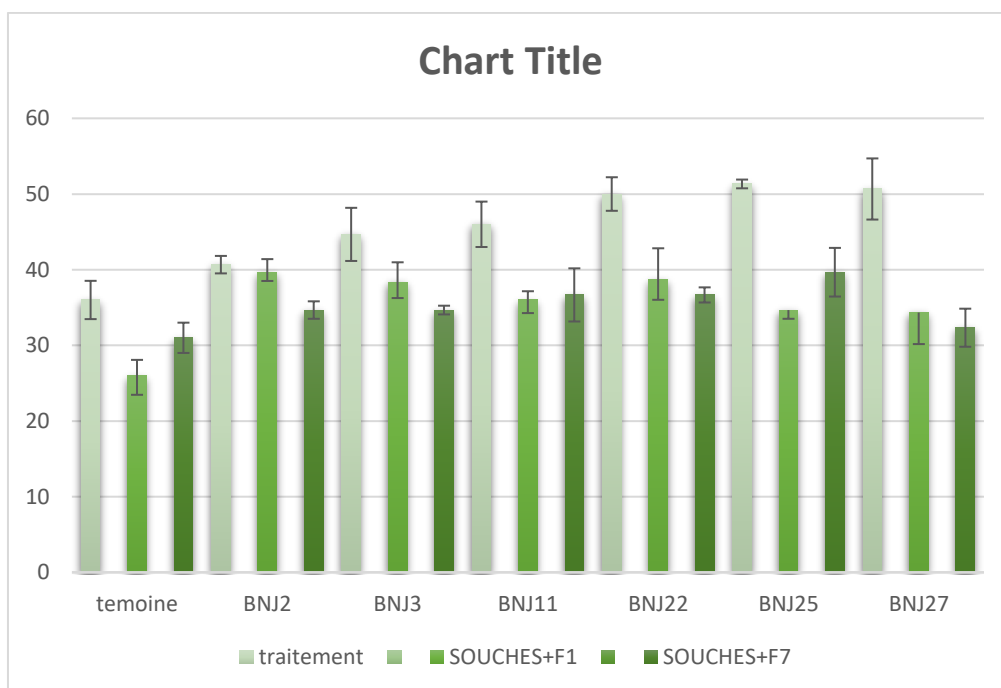


Figure 27: courbe graphique pour effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du Fus 1( *Fusarium culmorum*) et Fus 7( *Fusarium pseudograminearum*)

Les bactéries BNJ 22, BNJ 25 et BNJ 25 :

Ces bactéries ont favorisé une croissance maximale des plantes. Elles ont éliminé le champignon, empêchant ainsi la croissance de celui-ci.



L'induction de la stimulation de la croissance, par inoculation bactérienne des plantes, a été plus marquante en comparaison avec le témoin non inoculé. En effet, les plantes ont mieux poussées, où l'on a remarqué que la stimulation la plus élevée est obtenue avec l'isolat BNJ 22, BNJ 25 et BNJ27 (Figure 27, et 28).

Comme on pouvait s'y attendre, la réduction de la maladie par des traitements PGPR est accompagnée d'une augmentation de la croissance des plantes. Cependant, les mesures de croissance réalisées sur les plantes du témoin ont indiqué également dans ce test que nos isolats ont la capacité de promouvoir la croissance du blé en fournissant un meilleur flux de nutriments à la plante hôte qui a entraîné l'augmentation de la biomasse végétale.

Les bactéries sélectionnées selon l'activité antifongique, la capacité de produire des sidérophores, de l'AIA et de la production HCN, ont un effet de promotion de la croissance des plantes (PGPR).

# Conclusion

## Conclusion

Les résultats de cette étude ont permis de caractériser et d'évaluer l'efficacité de 35 isolats bactériens en tant que promoteurs de croissance végétale (PGPR) et agents de biocontrôle contre des agents pathogènes fongiques du blé.

Premièrement, la caractérisation phénotypique des isolats a révélé des souches fluorescentes sur le milieu King B, avec des morphologies variées, incluant des formes bacillaires Gram négatif et coccobacillaires Gram positif. Ces observations ont permis la sélection d'isolats prometteurs pour des tests plus approfondis.

Ensuite, les capacités des isolats à produire des sidérophores ont été confirmées, avec 31 isolats montrant des halos orange bien définis sur le milieu CAS, indiquant une production significative de sidérophores, essentiels pour la séquestration du fer et la promotion de la croissance des plantes. La solubilisation du phosphate inorganique a également été évaluée, montrant que 28 souches étaient capables de solubiliser le phosphate tricalcique, ce qui est crucial pour améliorer la disponibilité du phosphore pour les plantes.

La production d'ammonium a été constatée pour tous les isolats, soulignant leur potentiel à améliorer indirectement la croissance des plantes. La production de HCN, un composé important pour la suppression des pathogènes fongiques, a montré une variabilité parmi les isolats, avec une majorité d'entre eux présentant une forte production.

Les tests d'enzymes hydrolytiques ont révélé une activité notable pour la protéase, la cellulase et l'amylase, avec une activité modérée pour la pectinase. Ces enzymes sont essentielles pour le biocontrôle des pathogènes fongiques par la dégradation des parois cellulaires des champignons.

Les tests *in vitro* ont démontré l'activité antagoniste de certains isolats contre *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum*, bien que l'activité antifongique soit plus marquée contre *Fusarium pseudograminearum*. Ces résultats ont été confirmés par des tests *in planta*, où les isolats BNJ 22, BNJ 25 et BNJ 27 ont non seulement favorisé une croissance maximale des plants de blé, mais ont également montré une efficacité notable dans la suppression des infections fongiques.

En conclusion, les isolats bactériens sélectionnés dans cette étude montrent un potentiel prometteur en tant qu'agents de promotion de la croissance des plantes et de biocontrôle. Leur capacité à produire des sidérophores, à solubiliser le phosphate, à produire des composés bioactifs comme l'HCN et à sécréter des enzymes hydrolytiques, en fait des candidats potentiels pour des applications en agriculture durable. Les résultats obtenus ouvrent la voie à des études futures pour évaluer l'efficacité de ces isolats dans des conditions de champ et à explorer leur mécanisme d'action à l'échelle moléculaire.

# **Références bibliographique**

## Références bibliographique :

**Agence Nationale de la recherche anr.(s.d).** Firmicutes avec une membrane externe: vers des nouveaux modeles d'étude de la transition monoderms/didermes – Fir-OM .anr.fr.<https://2h.ae/Mjcd>. Consulté le:30/03/2024.

**Ahemad, M.,2015.** Phosphate-solubilizing bacteria-assisted phytoremediation of metalliferous soils: a review. *3 Biotechnologie*, 5(2), 111-121.

**Ahkami, A. H., White III, R. A., Handakumbura, P. P., & Jansson, C.,2017.** Rhizosphere engineering: enhancing sustainable plant ecosystem productivity. *Rhizosphere*, 3, 233-243.

**Ahmad, F., I. Ahmad et M.S. Khan., 2008.** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbial Research*, 163: 173-81.

**Ahmad, I., Pichtel, J., & Hayat, S. (Eds.). ,2008.** Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth. John Wiley & Sons.

**Albert, F., et A.J. Anderson., 1987.** The effect of *Pseudomonas putida* colonization on root surface peroxidase. *Plant Physiol.* 85: 537-541.

**Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M.,2006.** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms.*Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 233-266.

**Barazani, O. and J. Friedman., 1999.** Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria. *J. Chem. Ecol.*, 25: 2397-2406.

**Barona-Gomez, F., Lautru, S., Francou, F. X., Leblond, P., Pernodet, J. L., & Challis, G. L., 2006.** "Multiple biosynthetic and uptake systems mediate siderophore-dependent iron acquisition in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces ambofaciens* ATCC23877." *Microbiology*, 152(Pt 2), 335-344 .

**Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. ,2010.** "How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment." *Advances in Agronomy*, 108, 77-136.

**BELGHIT Houria & TADMOUT Yousra Khouloud. , 2022.** Caractérisation du potentiel PGP de *Bacillus* rhizosphérique. [Thèse de Master 2 , Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem].

**BENKHALIFA Bochra & BOUCHAIR Marwa,2022.** Les PGPR et leur impact sur la biofertilisation. [Thèse de Master 2, Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila].

**Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. ,2012.** "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350.

- Borriss, R., 2011.** Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. In *Bacteria in agrobiolology: plant growth responses* (pp. 41-76)
- Burd, G.I., Dixon, D.G. et Glick, B.R., 1998.** A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10):3663-3668.
- Cakmakci, R., Donmez, F., Aydin, A. et Sahin, F., 2006.** Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biol. Biochem.* 38(6):1482-1487.
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W., 2014.** Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*, 383(1), 3-41.
- Charest, M. H., Beauchamp, C. J., & Antoun, H., 2005.** Effects of the humic substances of de-inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 52(2), 219-227.
- Charest, M.H., C.J. Beauchamp et H. Antoun., 2005.** Effects of the humic substances of de inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 52: 219–227.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément, et E. Ait Barka., 2005.** Use of plant growthpromoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4951-4959.
- Cornelis, P., & Andrews, S. C., 2010.** *Iron Uptake and Homeostasis in Microorganisms*. Caister Academic Press.
- Cornelis, P., & Matthijs, S., 2002.** "Diversity of siderophore-mediated iron uptake systems in fluorescent pseudomonads: not only pyoverdines." *Environmental Microbiology*, 4(12), 787-798.
- DARRAH P., JONES D. L., KIRK G. J. D., ROOSET., 2006.** Modelling the rhizosphère : a review of methods for 'upscaling' to the whole-plant scale. *European Journal of Soil Science*, vol. 57, pp : 13–25.
- De Souza, J. T., M. De Boer, P. DeWaard, T.A. Van Beek, et J.M. Raaijmakers., 2003.** Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 7161-7172.
- De Weger, L., A., van Arendonk, J. J. C. M., Recourt, K., van der Hofstad, G. A. J. M., Weisbeek, P. J., et Lugtenburg, B., 1988.** Sierophore mediated uptake  $Fe^{3+}$  by the plant growth- stimulating *Pseudomonas putida* strain WCS358 and by other rhizosphere microorganisms. *J. Bacteriol.* 170:4693-4698.

- Defago, G., 1993.** 2,4-Diacetylphloroglucinol, a promising compound in biocontrol. *Plant Pathol.* 42: 311–312.
- Dertz, E. A., Xu, J., & Raymond, K. N., 2006.** "Biosynthesis of bacillibactin: a study of the role of the genes *dhbA*, *dhbB*, *dhbC*, *dhbE*, and *dhbF* in the production of the siderophore by *Bacillus subtilis*." *Journal of the American Chemical Society*, 128(24), 8426-8432.
- Dimkpa, C., I. Tanjaweinad, et F. Asch., 2009.** Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x. p 1-13.
- Dixon, R., & Kahn, D., 2004.** "Genetic regulation of biological nitrogen fixation." *Nature Reviews Microbiology*, 2(8), 621-631.
- DJEBRIT ,S., SLAMAT, K. ,& SALMI F., 2023.** Isolement et caractérisation des bactéries à potentiel favorisant la croissance des plantes, associée à quelques plantes spontanées sahariennes. Université de Ghardaïa. Caractérisation macroscopique morphologique et biochimique,p333
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. et Okon, Y., 2003.** Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 22(2):107-149.
- Dodd, I. C., Zinovkina, N. Y., Safronova, V. I., & Belimov, A., 2010.** Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*, 157(3), 361-379.
- Droge, B., Sanguin, H., Chamam, A., Mozar, M., Llauro, C., Panaud, O., ...& Wisniewski-Dyé, F., 2014.** Plant root transcriptome profiling reveals a strain-independent response during *Azospirillum*-rice cooperation. *Frontiers in plant science*, 5, 607.
- Ezawa, T., S. E. Smith et F. A. Smith., 2002.** P metabolism and transport in AM fungi. *Plant Soil.*244:221-230.
- François Thomas, Jan-Hendrik Hehemann, Etienne Rebuffet, Mirjam Czjzek, Gurvan Michel., 2011.** Environmental and gut bacteroidetes: the food connection.PubMed.Consulté le: 17/05/2024.
- Fuqua, C., & Greenberg, E. P., 2002.** "Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(9), 685-695.
- Gamalero, E., & Glick, B. R., 2022.** Recent Advances in Bacterial Amelioration of Plant Drought and Salt Stress.*Biology*, 11(3), 437.
- Garrity,G.M., 2001.**"Taxonomic outline of the prokaryotes."Bergey's Manual®of Systematic Bacteriology. <https://rebrand.ly/7eefbc>.

- Glick, B. R. ,2012.** "Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications." Scientifica. [Scientifica](<https://www.hindawi.com/journals/scientifica/2012/963401/>)
- Glick, B.R., 2012.** Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.
- GREGORY P. J., 2006 :** Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? European Journal of Soil Science, vol. 57, pp: 2-12.
- Groupement d'intérêt scientifique sur les sols (Gis Sol) (s.d.) .** 'Le rôle des microorganismes dans le sol'. gissol.fr. <https://2h.ae/HnOc>. Consulté le: 27/03/2024.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. & Singh, V., 2015.** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. Microbiologie Biochemologie Technologie, 7, 96-102.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V., 2015.** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. J Microb Biochem Technol, 7(2), 096-102
- Haas, D. et Défago, G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Nat. Rev. Microbiol. 3: 307–319.
- Haas, D., & Défago, G., 2005.** "Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads." *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 307-319.
- Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., & Imran, A., 2021.** Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 16.
- Hector Mora Montes. , 2017.** Uninterrupted Expression of CmSIT1 in a Sclerotial Parasite Coniothyrium minitans Leads to Reduced Growth and Enhanced Antifungal Ability. *Frontiers*. <https://2h.ae/iHcn>. Consulté le : 17/05/2024.
- Heeb, S., & Haas, D., 2001.** "Regulatory roles of the GacS/GacA two-component system in plant-associated and other gram-negative bacteria." *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(12), 1351-1363.
- Höfte, M., & Meyer, J. M., 1997.** "Siderophore-mediated iron acquisition in the genus Pseudomonas." *Biometals*, 10(4), 273-290 .
- Holmes, B., & Roberts, P., 1981.** "Biosynthesis and structure of agrobactin, a siderophore from Agrobacterium tumefaciens." *Journal of Bacteriology*, 148(2), 498-508.



- Holt, R. A., & Lawton, J. H., 1994.** The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*, 25(1), 495-520.
- Hour Chea, H. Leclerc, ,1975.** Identification d'actinomycètes aérobies isolés d'eau douce E. Hour Chea, H. Leclerc *Revue canadienne de microbiologie*, 1975, Identification d'actinomycètes aérobies isolés d'eau 21(12): 1895-1900, 10.1139/m75-277.
- Jacques, P., P. Delfosse, M. Ongena, P. Lepoivre, P. Cornélis, N. Koedam, L. Neirinckx, et P. Thonart., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahiers Agric.* 2 : 301-307.
- Jean-Marc Sanchez.(s.d .).** Microorganismes rhizosphériques.Kcenter. <https://2h.ae/RHbD>.
- Johan Larsbrink ,Lauren Sara McKee ., 2019.** Bacteroidetes bacteria in the soil: Glycan acquisition, enzyme secretion, and gliding motility.PubMed. Consulté le : 30/03/2024.
- Joseph, B., Patra, R. R., & Lawrence, R., 2007.** Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Plant Production*, 1(2), 141-152.
- Jourdan, E., M. Ongena, et P. Thonart., 2008.** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 437-449.
- Kamilova. F., S. Validov, T. Azarova, I. Mulders, et B. Lugtenberg., 2005.** Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environ. Microbiol.* 7: 1809–1817.
- Karnwal, A., 2009.** Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of L-Tryptophan and rice root exudates. *J. Plant Pathol.* 91: 61-63.
- Kauffmann, S . Dorey, S et Fritig, B., 2001.** Les stratégies de défense. *Pour la Science*, p. 116–121.
- Keneni, A., F. Assefa, et P.C. Prabu., 2010.** Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilization insoluble phosphates *J. Agr. Sci. Tech.* 12: 79-89.
- Khan, A. A., G. Jilani, M.S. Akhtar, S. M. S. Naqvi, et M. Rasheed., 2009.** Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production. *J. agric. biol. sci.* 11: 48-58.
- Kim, K.Y., D. Jordan, et G. A. McDonald., 1998.** Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biol. Fertil Soils.* 26: 79-87.
- Kirdi, B.,2011.** Rôle des PGPR «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites (Doctoral dissertation).

- Klarzynski, O et Fritig, B., 2001.** Stimulation des défenses naturelles des plantes. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, 324:953–963.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. et Schroth., M.N., 1980.** Pseudomonas siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4: 317–320.
- Kumar, P., & Dubey, R. C., 2012.** Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of *Phaseolus vulgaris*. *J Curr Pers Appl Microbiol*, 1(6), 38.
- La Chambre d’agriculture de la Drôme., 2016.** "Vie du sol : Diagnostic et gestion des fertilisols". Agriressources.fr. [<https://2h.ae/Ufnd>]. Consulté le : 23/03/2024.
- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A., & Vanderleyden, J., 2000.** "Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions." *Trends in Microbiology*, 8(7), 298-300.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F., 2009.** "Plant-growth-promoting rhizobacteria." *Annual Review of Microbiology*, 63, 541-556.
- Lugtenberg, B., et F. Kamilova., 2009.** Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-56.
- MADI Nadia épouse DJEDID., 2016.** Association de culture olivier/vesce/avoine : performance et influence sur le K (HNO<sub>3</sub>) de la rhizosphère. [Thèse de Master 2, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].
- Marketon, M. M., & González, J. E., 2002.** "Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria." *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 141-167.
- Martens E Cetal., 2008.** Mucosal Glycan Foraging Enhances Fitness and Transmission of a Saccharolytic Human Gut Bacterial Symbiont. *Cell*, 135(5):1102-1113.
- Meyer, J. M., & Abdallah, M. A., 1978.** "The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties." *Journal of General Microbiology*, 107(2), 319-328.
- Michael T. Madigan, Kelly S. Bender, Daniel H. Buckley, W. Matthew Sattley and David A. Stahl., 2019.** *Brock Biology of Microorganisms*. <https://2h.ae/ETwI>.
- Mickaël Hedde & Marine Zwicke., 2020.** "Faune du sol et production végétale". *Ens psl*. <https://2h.ae/vZFE>.) . Consulté le: 27/03/2024.
- Milner, J.L., L. Silo-Suh, J.C. Lee, H. He, J. Clardy, et J. Handelsman., 1996.** Production of kanosamine by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3061-3065.

- Moenne-Loccoz, Y., Mini, A., Richard, R., Valente, J., Prigent-Combaret, C., & Le Gouis, J., 2019.** Interactions racines x rhizobactéries et leur variabilité génétique chez le blé. *Sélectionneur Français*, (70), 87-93.
- Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J., 2005.** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417), 1729-1739.
- Nakayama, T., Y. Homma, Y. Hashidoko, J. Mizutani, et S. Tahara., 1999.** Possible role of xanthobaccins produced by *Stenotrophomonas* sp. strain SB-K88 in suppression of sugar beet damping-off disease. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4334-4339.
- Narula, A., Kumar, S., & Srivastava, P. S. , 2005.** Abiotic metal stress enhances diosgenin yield in *Dioscorea bulbifera* L. cultures. *Plant Cell Reports*, 24(4), 250-254.
- National library of Medicine NIH.** *pqqC pyrroloquinoline-quinone synthase PqqC [Methylobacterium extorquens DM4] - Gene - NCBI.* (n.d.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/72989475#top>. Consulté le : 28/05/2024.
- Neilands, J. B., 1995.** Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723-26726.
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., & Thonart, P., 2011.** Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(2), 327-337.
- O’Callaghan, M., 2016.** Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(13), 5729-5746
- Oldroyd, G. E., & Dixon, R., 2014.** Biotechnological solutions to the nitrogen problem. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 19-24
- Oliver et al., (s.d.).** Les microorganismes dans les fonctions clés du sol". INRAE[<https://2h.ae/oQIe>]. Consulté le 27/03/2024.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M. et Sahin, F., 2006.** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Sci. Hortic.* 111(1):38-43.
- O’Sullivan D.J. et O’gara F., 1992.** Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.* 56, 662-676.

- Patten, C.L. et Glick, B.R., 2002.** Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48: 635-642.
- Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q. and Gullino, M.L., 1997.** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3):131-140.
- Probanza, A., Garcia, J. L., Palomino, M. R., Ramos, B., & Mañero, F. G., 2002.** *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*, 20(2), 75-84.
- Pujic, P., et P. Normand., 2009.** La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur.* 298: 26-29.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero., 2008.** Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology.* 98: 451-457.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero., 2008.** Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology.* 98: 451-457.
- Rehman, F. U., Kalsoom, M., Adnan, M., Toor, M., & Zulfiqar, A., 2020.** Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production: A review. *SunText Rev. Biotechnol*, 1(2), 1-6.
- Rovira, A. D., 1991.** Rhizosphere research-85 years of progress and frustration. *The rhizosphere and plant growth*, 3-13.
- Rubio, E. J., Montecchia, M. S., Tosi, M., Cassán, F. D., Peticari, A., & Correa, O. S., 2013.** Genotypic characterization of *Azotobacteria* isolated from Argentinean soils and plant-growth-promoting traits of selected strains with prospects for biofertilizer production. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Saharan, B. S., & Nehra, V., 2011.** "Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review." *Life Sciences and Medicine Research*, 21, 1-30.
- Salysers AA et al., 1977.** Fermentation of mucins and plant polysaccharides by anaerobic bacteria from the human colon. *Appl Environ Microbiol*, 34(5):529-533.

- Sandra Barantal et al., 2022.** "Le sol : un écosystème complexe et hétérogène". Qubs.fr [<https://2h.ae/vZFE>]. Consulté le 23/03/2024.
- Sarris, P. F., Skandalis, N., Kokkinidis, M., & Panopoulos, N. J., 2010.** In silico analysis reveals multiple putative type VI secretion systems and effector proteins in *Pseudomonas syringae* pathovars. *Molecular plant pathology*, 11(6), 795-804.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A., 2013.** "Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils." *SpringerPlus*, 2(1), 587.
- Singh, I., 2018.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review. *European Journal of Biological Research*, 8(4), 191-213.
- Spaepen, S., et Vanderleyden, J., 2011.** Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a001438>.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., et Remans, R., 2007.** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425–448.
- Tilak, K.V.B.R., N. Ranganayaki, K.K. Pal, R. De, A.K. Saxena, C.S. Nautiyal, Shilpi Mittal, A.K. Tripathi, et B.N. Johri., 2005.** Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.* 89: 136-150.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud M-L, Touraine B, Moëgne-Loccoz Y, Muller D, Legendre L, Wisniewski-Dyé F and Prigent-Combaret C., 2013.** Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci.* 4:356.
- Van Loon, L.C., Bakker, P. et Pieterse, C. M. J., 1998.** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- Van Peer, R., G.J. Niemann et B. Schippers., 1991.** Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81 : 728-734.
- Vessey, J. K., 2003.** "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers." *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.
- Vessey, J. K., 2003.** "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers." *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.
- Vessey, J.K., 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255 : 571–586.
- Visca, P., Imperi, F., & Lamont, I. L., 2007.** "Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance." *Trends in Microbiology*, 15(1), 22-30.

- Weller, D.M., 1988.** Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26 : 379-407.
- Weyens, N., S. Monchy, J. Vangronsveld, S. Taghavi, et D. Vander Lelie., 2010.** PlantMicrobe Partnerships, p. 254-2564 . In K.N. Timmis (ed.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Whippes, J.M., 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.*52:487-511.
- Whippes, J.M., 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.*52:487-511.
- Whitman,W.B.,et al., 2015.** *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*.WorldCat. <https://2h.ae/BwQI>.
- Wikipedia(s.d.).**Actinobacteria.MedBox. <https://2h.ae/VJGq>. Consulté le: 30/03/2024.
- Zahir, Z. A, M. Arshad, et W.T. et Frankenberger, Jr., 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. *Adv. Agro.* 81: 97-198.
- Zdor, R.E. ET A.J. Anderson., 1992.** Influence of root colonizing bacteria on the defense response of bean. *Plant Soil* 140 : 99-107.
- Zeller, S.L., H. Brandt ET B. Schmid., 2007.** Host-Plant Selectivity of Rhizobacteria in a Crop/Weed Model System. *PloS ONE*, 2(9): 1-7.

---

**ANNEXES****Annexe 1 : Milieux de culture****Milieu King B (g/l)**

- 20 g Peptone
- 10ml Glycérol
- 1.5g Phosphate dipotassique
- 1.5g Sulfate de magnésium, 7 H<sub>2</sub>O
- 15g Agar

**Milieu King A (g/l)**

- 20 g Peptone
- 10ml Glycérol
- 1.5g Phosphate de potassium
- 1.5g chlorure de magnésium
- 15g Agar

**Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

- 200g de pomme de terre
  - 20g d'agar
- 20g de dextrose

Le milieu a été autoclave pendant 20 min à 120°C.

**Milieu Pikovskaya**

- 10g D –Glucose
- 0.5g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>
- 0.2g NaCl
- 0.1g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O

- 0.2g KCl
- 0,5g Extrait de levure
- 0.002g MnSO4.5H2O
- 0.002g FeSO4.7H2O
- 5g Ca3(PO4)2
- 1000 ml Eau distillée

### Milieu Bouillon Nutritif (BN) (g/l)

- 15 g BN
- 1 litre eau distiller

### Milieu CAS

2,7 mg de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O dissous dans 10 ml de HCl 10 mM avec 1,21g/l de chrome Azurol S (CAS) dissous auparavant dans 50 ml d'eau distillée. Ce mélange, de couleur bleu foncée, est ajouté très lentement sous agitation à 1,821g de HDTMA (Hexa méthylammonium bromure) dissous dans 40 ml d'eau distillée, le pH est ajusté à 7. La solution bleu foncé obtenue est autoclavée à 121 °C /15 min.

A 900 ml de King B, 100ml de la solution CAS- HDTMA est ajouté dans une erlenmeyer stérile (le mélange doit être homogénéisé). Couler ce milieu dans les boites de pitre, puis ensemencée les isolats

### Annexe 2 : Réactif de Nessler

Iodure de potassium	50g
Dichlorure de mercure	solution saturée
Solution d'hydroxyde de Na 9N	400ml

### Annexe 3 : Tableau résultats des différents tests des activités promotrices de la croissance végétale

*Tableau 1 : Tableau résultats des différents tests des activités promotrices de la croissance végétale (Annexe 3)*

Souches	CAS	HPO4	Antifongique F1	Antifongique F7	Test NO3	HCN	AIA



BNJ 1	-	+++	-	-	+	-	++
BNJ 2	+	+	-	+	+	++	+++
BNJ 3	-	+	-	-	+	+++	+++
BNJ 4	-	+	-	+	-	+	+++
BNJ 5	-	+	-	+	++	+	++
BNJ 6	-	+	-	-	-	-	++
BNJ 7	+	-	-	+	-	-	+++
BNJ 8	+	-	-	-	-	+	+++
BNJ 9	+	-	-	-	-	-	++
BNJ 10	+	+	-	-	-	-	+++
BNJ 11	++	-	-	-	++	+++	+++
BNJ 12	++	-	-	+	+	++	++
BNJ 13	+	+	-	+	+	-	++
BNJ 14	+	+	-	+	++	+++	++
BNJ 15	-	++	-	-	-	+++	+
BNJ 16	-	++	-	-	+	-	+++
BNJ 17	-	-	-	-	+	+++	+
BNJ 18	-	-	-	++	++	+++	++
BNJ 19	+	+++	+	-	-	+++	+
BNJ 20	+	+	-	-	++	+	+
BNJ 21	++	++	-	+	+	-	+++
BNJ 22	++	+++	-	-	+++	+++	+++
BNJ 23	++	++	-	-	+++	+	+
BNJ 24	+	++	-	-	+++	-	+++
BNJ 25	+++	+	+	++	++	+++	+++
BNJ 26	++	++	+	-	++	-	+++
BNJ 27	+	+	-	-	++	+++	+++
BNJ 28	+	+	-	-	++	+	+++
BNJ 29	+	-	+	-	++	+++	++
BNJ 30	+	+	-	-	+	+	++
BNJ 31	+	+	-	-	++	+++	++
BNJ 32	+	+	+	-	-	+++	++
BNJ 33	+	-	-	+	++	+++	-
BNJ 34	+	+	+++	-	++	-	++
BNJ 35	+	+	-	-	++	++	+++

**Note:** +++ haute production, ++ production moyenne, + faible production, - pas production

#### Annexe 4 : Tableau résultats des différents tests enzymatiques réalisés :

*Tableau 2: Tableau résultats des différents tests enzymatiques (Annexe 4)*

souches	protease	péctinase	Cellulase	Amylase
BNJ 1	+	-	+	+
BNJ 2	+	-	+	+
BNJ 3	-	+	+	+
BNJ 4	+	-	+	+
BNJ 5	-	-	+	+
BNJ 6	+	+	+	+
BNJ 7	+	+	+	+
BNJ 8	+	+	+	+
BNJ 9	+	-	+	+

BNJ 10	+	-	+	+
BNJ 11	+	+	+	+
BNJ 12	+	+	+	+
BNJ 13	+	-	+	+
BNJ 14	+	-	+	+
BNJ 15	+	+	+	+
BNJ 16	-	+	+	+
BNJ 17	+	+	+	+
BNJ 18	+	-	+	+
BNJ 19	-	+	+	+
BNJ 20	+	+	+	+
BNJ 21	+	+	+	+
BNJ 22	+	-	+	+
BNJ 23	+	+	+	+
BNJ 24	+	-	+	+
BNJ 25	+	+	+	+
BNJ 26	+	+	+	+
BNJ 27	+	-	+	+
BNJ 28	-	-	+	+
BNJ 29	-	-	+	+
BNJ 30	-	+	-	-
BNJ 31	+	+	+	+
BNJ 32	+	+	+	+
BNJ 33	-	-	+	+
BNJ 34	-	+	+	+
BNJ 35	+	-	+	+

**Note:** + une production, - pas production

**Annexe 5 :** Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du *Fusarium culmorum* (F1) et *Fusarium pseudograminearum* (F7)

*Tableau 3 : Effet de l'inoculation bactérienne sur la croissance du blé et l'inhibition du *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum**

Traitement	Hauteur de la tige (tige cm)
Témoin	36
BNJ 2	40,67
BNJ 3	44,67
BNJ 11	46
BNJ 22	50
BNJ 25	51,33
BNJ 27	50,67
Témoin F1	26

---

BNJ2+ F1	39,66
BNJ3+ F1	38,33
BNJ11+ F1	36
BNJ22+ F1	38,67
BNJ25+ F1	34,66
BNJ27+ F1	34,33
Témoign F7	31
BNJ2+F7	34,66
BNJ3+F7	34,66
BNJ11+F7	34,67
BNJ22+F7	34,67
BNJ25+F7	34,67
BNJ27+F7	32,33

## ملخص:

تتناول هذه المذكرة دراسة تأثير البكتيريا المعززة لنمو النباتات (PGPR) على تحسين خصوبة التربة وجودة المحاصيل وزيادة الإنتاج الزراعي. الهدف من هذا البحث هو تقييم فعالية استخدام هذه البكتيريا كبديل مستدام للأسمدة والمبيدات الكيميائية التقليدية. تم إجراء العديد من التجارب المخبرية على خمسة وثلاثين سلالة من البكتيريا المعزولة من تربة زراعية في منطقة قسنطينة، الجزائر. حيث تم تحديد خصائصها البيوكيميائية والمرفولوجية واختيارها على أساس سماتها المعززة لنمو النبات. تضمنت التجارب فحص قدرة البكتيريا على تثبيت النيتروجين في وسط معقم، وتقييم قدرتها على إذابة الفوسفات غير القابل للذوبان، وقدرتها على إنتاج حمض الأندولي-3-أسيتيك (AIA)، وإنتاج السيديغفور، والأمونيا، وسيانيد الهيدروجين (HCN). كما شملت التجارب تقييم إنتاج الإنزيمات المشاركة في إزالة مسببات الأمراض مثل السيليلوز، البكتيناز، الأميلاز، والبروتيناز. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم مكافحة البيولوجية وإمكانية تحفيز نمو النباتات بواسطة هذه السلالات ضد نوعين من *Fusarium: pseudograminearum* و *Fusarium culmorum*، وكذلك تحديد مدى إنتاجها لهرمونات النمو. أظهرت النتائج أن البكتيريا المختارة تمتلك قدرات ممتازة في تثبيت النيتروجين، إذابة الفوسفات، وإنتاج هرمونات النمو. كما أظهرت فعالية كبيرة في مكافحة الفطريات الضارة التي تؤثر سلباً على نمو القمح. تم زراعة عينات من القمح في بيئة معقمة ومعالجتها ببكتيريا PGPR، وأظهرت النتائج أن القمح المعالج بهذه البكتيريا نما بشكل أفضل وأسرع مقارنة بالقمح غير المعالج. كما منعت العزلات المختارة نمو *Fusarium*، وعززت نمو القمح في تجربة الأصبص، مما يشير إلى أن استخدام بكتيريا PGPR يمكن أن يكون طريقة فعالة لتحسين إنتاج القمح وزيادة غلة المحاصيل. تشير هذه النتائج إلى الإمكانية الكبيرة لاستخدام بكتيريا PGPR كبديل بيولوجي ومستدام للأسمدة والمبيدات الكيميائية، مما يساهم في تحسين الإنتاج الزراعي وتقليل التأثيرات البيئية السلبية.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا المعززة لنمو النباتات (PGPR) . Sidérophores . Fusarium . AIA .

---

## **Abstract:**

This thesis examines the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) on improving soil fertility, crop quality, and increasing agricultural production. The aim of this research is to evaluate the effectiveness of using these bacteria as a sustainable alternative to traditional chemical fertilizers and pesticides. Numerous laboratory experiments were conducted on thirty-five strains of bacteria isolated from agricultural soil in the Constantine region of Algeria. Their biochemical and morphological characteristics were determined and selected based on their plant growth-promoting traits. The experiments included examining the bacteria's ability to fix nitrogen in a sterile medium, solubilize insoluble phosphate, produce indole-3-acetic acid (IAA), siderophores, ammonia, and hydrogen cyanide (HCN). The experiments also evaluated the production of enzymes involved in pathogen removal, such as cellulase, pectinase, amylase, and protease. Additionally, the biological control and plant growth-promoting potential of these strains were evaluated against two *Fusarium* species: *Fusarium pseudograminearum* and *Fusarium culmorum*, as well as their capacity to produce growth hormones. The results showed that the selected bacteria possessed excellent capabilities in nitrogen fixation, phosphate solubilization, and growth hormone production. They also demonstrated significant efficacy in combating harmful fungi affecting wheat growth. Wheat samples were grown in a sterile environment and treated with PGPR. The results showed that wheat treated with these bacteria grew better and faster compared to untreated wheat. Furthermore, the selected isolates prevented the growth of *Fusarium* and enhanced wheat growth in pot experiments, suggesting that the use of PGPR can be an effective method to improve wheat production and increase crop yields. These results indicate a great potential for using PGPR as a biological and sustainable alternative to chemical fertilizers and pesticides, thereby contributing to improved agricultural production and reduced negative environmental impacts.

**Keywords:** plant growth-promoting bacteria (PGPR), siderophores, *Fusarium*, IAA.

---

## Résumé

Ce mémoire examine l'effet des bactéries promotrices de croissance des plantes (PGPR) sur l'amélioration de la fertilité du sol, la qualité des cultures et l'augmentation de la production agricole. L'objectif de cette recherche est d'évaluer l'efficacité de l'utilisation de ces bactéries comme alternative durable aux engrais et pesticides chimiques traditionnels. De nombreuses expériences de laboratoire ont été menées sur trente-cinq souches de bactéries isolées du sol agricole dans la région de Constantine, en Algérie. Leurs caractéristiques biochimiques et morphologiques ont été déterminées et sélectionnées en fonction de leurs propriétés favorisant la croissance des plantes. Les expériences comprenaient l'examen de la capacité des bactéries à fixer l'azote dans un milieu stérile, à solubiliser le phosphate insoluble, à produire de l'acide indole-3-acétique (AIA), des sidérophores, de l'ammoniac et du cyanure d'hydrogène (HCN). Les expériences ont également évalué la production d'enzymes impliquées dans l'élimination des agents pathogènes tels que la cellulase, la pectinase, l'amylase et la protéinase. De plus, l'efficacité biologique et la capacité de stimulation de la croissance des plantes par ces souches ont été évaluées contre deux espèces de *Fusarium* : *Fusarium pseudograminearum* et *Fusarium culmorum*, ainsi que leur capacité à produire des hormones de croissance. Les résultats ont montré que les bactéries sélectionnées possédaient d'excellentes capacités de fixation de l'azote, de solubilisation du phosphate et de production d'hormones de croissance. Elles ont également montré une grande efficacité dans la lutte contre les champignons nuisibles affectant la croissance du blé. Des échantillons de blé ont été cultivés dans un environnement stérile et traités avec des PGPR. Les résultats ont montré que le blé traité avec ces bactéries poussait mieux et plus rapidement que le blé non traité. En outre, les isolats sélectionnés ont empêché la croissance du *Fusarium* et ont stimulé la croissance du blé dans des expériences en pot, ce qui suggère que l'utilisation de PGPR peut être une méthode efficace pour améliorer la production de blé et augmenter les rendements des cultures. Ces résultats indiquent un grand potentiel pour l'utilisation de PGPR comme alternative biologique et durable aux engrais et pesticides chimiques, contribuant ainsi à améliorer la production agricole et à réduire les impacts environnementaux négatifs.

**Mots-clés :** Bactéries Promotrices de Croissance des Plantes (PGPR), sidérophores, *Fusarium*, L'AIA.

Année universitaire : 2023-2024	Présenté par : <b>MESSAOUD BOUREGHDA</b> <b>Batoul</b> RIHENE Nardjes
Utilisation des bactéries (PGPR) pour améliorer la production agricole et lutter contre les champignons nuisibles : Étude appliquée sur le blé	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en	
<p><b>Résumé:</b></p> <p>Ce mémoire examine l'effet des bactéries promotrices de croissance des plantes (PGPR) sur l'amélioration de la fertilité du sol, la qualité des cultures et l'augmentation de la production agricole. L'objectif de cette recherche est d'évaluer l'efficacité de l'utilisation de ces bactéries comme alternative durable aux engrais et pesticides chimiques traditionnels. De nombreuses expériences de laboratoire ont été menées sur trente-cinq souches de bactéries isolées du sol agricole dans la région de Constantine, en Algérie. Leurs caractéristiques biochimiques et morphologiques ont été déterminées et sélectionnées en fonction de leurs propriétés favorisant la croissance des plantes. Les expériences comprenaient l'examen de la capacité des bactéries à fixer l'azote dans un milieu stérile, à solubiliser le phosphate insoluble, à produire de l'acide indole-3-acétique (AIA), des sidérophores, de l'ammoniac et du cyanure d'hydrogène (HCN). Les expériences ont également évalué la production d'enzymes impliquées dans l'élimination des agents pathogènes tels que la cellulase, la pectinase, l'amylase et la protéinase. De plus, l'efficacité biologique et la capacité de stimulation de la croissance des plantes par ces souches ont été évaluées contre deux espèces de <i>Fusarium</i> : <i>Fusarium pseudograminearum</i> et <i>Fusarium culmorum</i>, ainsi que leur capacité à produire des hormones de croissance. Les résultats ont montré que les bactéries sélectionnées possédaient d'excellentes capacités de fixation de l'azote, de solubilisation du phosphate et de production d'hormones de croissance. Elles ont également montré une grande efficacité dans la lutte contre les champignons nuisibles affectant la croissance du blé. Des échantillons de blé ont été cultivés dans un environnement stérile et traités avec des PGPR. Les résultats ont montré que le blé traité avec ces bactéries poussait mieux et plus rapidement que le blé non traité. En outre, les isolats sélectionnés ont empêché la croissance du <i>Fusarium</i> et ont stimulé la croissance du blé dans des expériences en pot, ce qui suggère que l'utilisation de PGPR peut être une méthode efficace pour améliorer la production de blé et augmenter les rendements des cultures. Ces résultats indiquent un grand potentiel pour l'utilisation de PGPR comme alternative biologique et durable aux engrais et pesticides chimiques, contribuant ainsi à améliorer la production agricole et à réduire les impacts environnementaux négatifs.</p>	
<b>Mots-clefs :</b> Bactéries Promotrices de Croissance des Plantes (PGPR), sidérophores, <i>Fusarium</i> , L'AIA.	
<b>Laboratoires de recherche :</b> laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (U Constantine 1 Frères Mentouri).	
<p><b>Président du jury :</b> BECHKRI Sakina ( MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).  <b>Encadrant :</b> GHARZOULI Razika (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).  <b>Co-encadrant :</b> SEBIHI F. Zohra (MCA - U. Khenchla)  <b>Examineur(s) :</b> BOUDOKHANE M. Ibtissem (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	