



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

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## Effet phytostimulant d'une souche actinobactérienne sur quelques espèces des *Fabaceae* et *Poaceae*

---

Présenté par : Bellili Bouchra

Salmi Khadidja

Zaabat Maya

Le : 26/06/2025

Jury d'évaluation :

Président : CHABBI Rabah

MAA Univ. Constantine 1 Frères Mentouri

Encadrant : OULMI Lamia,

MCB Univ. Constantine 1 Frères Mentouri

Examinateur : LIFA Maroua

MCB Univ. Constantine 1 Frères Mentouri

Année universitaire  
2024 - 2025

## **Remerciements**

Avant toute chose, nous rendons grâce à Dieu, le Tout-Puissant, de nous avoir guidés sur le chemin du savoir, et de nous avoir accordé la force, la patience, le courage et la volonté nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, Dr. OULMI Lamia, pour nous avoir généreusement fait bénéficier de ses connaissances, de son expertise et de son expérience. Nous la remercions pour ses conseils avisés, sa bienveillance, sa disponibilité, sa gentillesse, sa compréhension et ses encouragements constants. Merci d'avoir accepté de diriger ce travail et de nous avoir accompagnés avec rigueur et bienveillance tout au long de ces années. Son engagement, son soutien indéfectible et les efforts qu'elle a déployés ont été déterminants dans l'aboutissement de ce mémoire. Nous lui en sommes profondément reconnaissants.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Mr. CHABBI Rabah, qui nous a fait l'immense honneur de présider ce jury, ainsi qu'au Dr. Lifa Maroua, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Nous les remercions chaleureusement pour l'intérêt qu'ils y ont porté et pour le temps précieux qu'ils ont consacré à son examen.

## **Remerciements**

Nos remerciements les plus sincères vont également au Pr. Kitouni Mahmoud, qui nous a généreusement offert l'accès à son laboratoire ainsi qu'à ses équipements. Grâce à sa confiance et à son soutien matériel, nous avons pu réaliser nos manipulations dans les meilleures conditions. Son engagement en faveur des étudiants et sa volonté de partager ses ressources témoignent d'un esprit de grande générosité, que nous tenons à saluer tout particulièrement.

Nous remercions également l'ensemble de l'équipe du laboratoire Biopole pour leur accueil, leur assistance technique et leurs conseils pratiques, qui ont grandement facilité le déroulement de notre travail.

Nos vifs remerciements vont également au Pr. BENHIZIA Yacine pour sa disponibilité constante et pour avoir mis à notre disposition les équipements nécessaires à la réalisation de notre expérience. Nous lui sommes profondément reconnaissants pour la confiance qu'il nous a accordée, ainsi que pour l'accès à son propre laboratoire, ce qui a grandement facilité notre travail. Nous exprimons également notre gratitude à l'ensemble de son équipe, dont le soutien, la disponibilité et la collaboration ont largement contribué au bon déroulement de nos manipulations.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des enseignants de notre parcours, pour leur engagement, leur accompagnement tout au long de notre formation, et les connaissances précieuses qu'ils nous ont transmises au fil des années.

## *Dédicace*

**Al hamdoullah**, qui nous a permis de poursuivre nos études et d'avancer dans la vie jusqu'à ce jour tant attendu, que j'ai rêvée de voir se réaliser. À cette occasion, je dédie mon diplôme :

**À mes très chers parents,**

**Mon père Mouhamed et ma mère Roukia,** Ma réussite est le fruit de vos sacrifices. Merci pour tout ce que vous m'avez offert : votre soutien, vos encouragements, votre tendresse, vos veillées tardives et vos efforts constants. Je ne l'oublierai jamais.

**À mon grand frère Chouaib,** à sa douce **Roumaissa** et à leur petit prince **Ilyas**,

**À mes frères Islam et Abderahim,**

Que Dieu vous garde toujours comme un soutien inébranlable pour moi. Merci pour vos conseils, votre présence constante, et vos encouragements tout au long de mon parcours. Je prie Dieu de vous accorder bonheur et réussite.

**À ma sœur Kawtar,**

Merci d'avoir toujours été là, dans les joies comme dans épreuves. Ton amour, ta tendresse et ton soutien m'ont portée jusqu'à cette réussite.

**À mes chères binômes,**

**Maya et khadidja,** merci pour votre collaboration, votre patience, et votre esprit d'équipe tout au long de cette aventure. Entre les nuits de travail, les moments de stress et les éclats de rire partagés. Je vous adresse toute ma gratitude, et je vous souhaite la réussite et le bonheur dans tous vos projets futurs.

**À mes amies d'enfance,**

**Soumia, Oumaima,** celles qui ont grandi avec moi, partagé mes rires, mes rêves et mes secrets. Merci pour votre présence constante, même quand les chemins se sont éloignés. Cette réussite, je la partage avec vous, avec tout l'amour que je vous porte. À tous ceux que j'aime, à mes amies d'études et les personnes qui m'ont soutenue, merci pour vos prières et votre soutien.

Enfin, je dédie ce travail à moi, **Bellili boucha**, car j'ai cru en moi. Pour toutes ces années de travail acharné. Pour les nuits blanches, la fatigue, les efforts, les larmes. Pour avoir refusé d'abandonner. Merci à moi pour ma force, ma patience et mes sacrifices.

*Bouchra*

# **Dédicace**

C'est avec un immense plaisir, un cœur ouvert, une profonde émotion et beaucoup de fierté que je dédie ce travail à :

## **À mes très chères parents**

**Mon père, Toufik, et ma mère, Rachida**, qui ont toujours cru en moi, m'ont soutenue sans relâche, conseillée avec amour et fait d'innombrables sacrifices pour que je puisse avancer. Leur foi, leur patience et leurs efforts m'ont permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Que Dieu les récompense pour tout le bien qu'ils m'ont offert.

## **À mes sœurs,**

**Amina et Sabrina**, pour leur soutien moral généreux, leur affection constante et leur présence précieuse tout au long de mes études.

## **À mon frère,**

**Abdel Djalil**, pour son appui et ses encouragements tout au long de mon parcours.

Merci à vous, ma famille, d'avoir toujours été là pour moi. Ce mémoire vous est dédié, avec tout mon amour, ma reconnaissance et ma fierté.

## **À mes chères binômes,**

**Bouchra et Maya**, Ravie d'avoir travaillé avec vous tout au long de cette belle aventure. Nous avons partagé les efforts, les réflexions, les doutes, mais aussi les réussites, dans un bel esprit d'équipe. Merci pour votre sérieux, votre engagement et votre bonne humeur.

## **À moi-même,**

**Khadidja**, À celle qui a persévétré, même dans les moments de doute. À celle qui a travaillé avec patience, courage et foi. Pour chaque pas franchi, chaque nuit de travail, chaque défi relevé avec dignité. Ce mémoire est plus qu'un simple aboutissement : c'est la preuve que la volonté, l'effort et la confiance en Dieu finissent toujours par porter leurs fruits. Je me rends hommage avec fierté, humilité et gratitude. **Alhamdoullah** pour la force, l'endurance et la paix intérieure tout au long de ce parcours.

***Khadidja***

# Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À ma chère mère, aucun mot ne pourra jamais te remercier comme tu le mérites. Ton amour, ta patience et ta force m'accompagnent chaque jour. Tu es mon repère, mon refuge, ma lumière dans les moments d'ombre. C'est en grande partie grâce à toi que ce chemin a pu être parcouru.

À mon père, merci pour ta confiance, ton soutien constant et ta présence toujours rassurante. Tu m'as donné la force d'y croire, même quand le chemin semblait difficile. Merci pour ton courage et tout ce que tu m'as transmis sans jamais rien attendre en retour.

À mes sœurs, **Sara et Nesrine**, vous occupez une place unique dans ma vie. Votre soutien, vos paroles, votre présence ont été une source de réconfort et de force dans les moments les plus décisifs. Merci d'avoir toujours été là, sans condition, avec cet amour qui m'a tant portée.

À mes frères, **Djad et Islam**, merci pour votre affection et votre manière unique de me soutenir. Vous avez toujours cru en moi, même dans les moments où moi-même j'en doutais. Et cela m'a donné la force d'avancer.

À **Riad**, merci pour ta gentillesse, ton respect et ton soutien constant. Et merci à **la belle-famille de Nesrine**, pour votre prières et votre soutien.

À mes deux petits trésors, mes anges, mes petits soleils, **Djouri et Yacine**, vos sourires illuminent mes journées et vos petits gestes remplissent mon cœur d'un amour que les mots ne peuvent décrire. Vous êtes ma tendresse, ma joie la plus pure, et une partie précieuse de mon âme. Je vous aime infiniment.

À ma chère grand-mère, **Mani Ouarda**, tes prières, ta tendresse et ta sagesse m'ont toujours accompagnée. Tu es une présence précieuse dans ma vie.

À **Bouchra et Khadidja**, mes amies chères, merci d'avoir marché à mes côtés dans ce parcours. Votre présence, votre écoute et vos encouragements ont rendu ce chemin plus doux, plus fort, et surtout moins seul.

À **moi-même**, à celle qui a souvent douté, mais qui a continué malgré tout. À celle qui a puisé en elle une force silencieuse pour avancer, même dans les moments les plus flous. Ce travail, c'est le fruit de mes efforts, de mes nuits sans sommeil, de mes petits pas parfois hésitants mais toujours sincères. C'est une preuve que ma persévérance, ma patience et ma foi en moi-même ont fini par porter leurs fruits. Et enfin, pour chaque pas accompli Alhamdoulilah.

*maya*

Face aux impacts négatifs de l'agriculture conventionnelle sur les sols, l'environnement et l'alimentation, les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) apparaissent comme une solution écologique pour améliorer la productivité végétale. Dans ce travail, nous avons étudié une souche actinomycétaire, isolée d'un sol salin, afin d'évaluer son potentiel PGPR à travers la production d'acide indole-3-acétique (AIA) et son effet sur la croissance de six espèces végétales : la lentille (*Lens culinaris*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), trois variétés de blé (*Triticum durum*) HD RA1, SIRTA RN1 et VITRO RA1 et une variété d'orge (*Hordeum vulgare*) SAYD P.T.O. La souche bactérienne a été caractérisée morphologiquement sur le milieu DSMZ 65, montrant un développement progressif de structures mycéliennes et sporales. La capacité de production d'AIA a été confirmée par la méthode colorimétrique de Salkowski, atteignant une concentration maximale de 26,87 µg/mL. Son effet phytostimulant a été évalué à travers des tests de germination *in vitro* et *in vivo* en analysant la croissance racinaire, le taux de germination, la biomasse et la teneur en chlorophylle. Les résultats obtenus indiquent une amélioration significative de la croissance des plantules, en particulier chez le pois chiche et le blé VITRO RA1. L'arrosage à l'eau de pluie a favorisé la croissance, contrairement au jus de fermentation ou au milieu GBA. Enfin, une augmentation modérée de la chlorophylle a été observée chez la variété de blé VITRO RA1 dont les graines ont été inoculées avec la souche bactérienne. Ces résultats suggèrent que la souche actinomycétaire possède un potentiel phytostimulant partiel, avec des effets positifs spécifiques à certaines espèces, ce qui en fait une candidate prometteuse pour des applications biofertilisantes ciblées dans le cadre de systèmes agricoles adaptés.

**Mots-clés :** Agriculture biologique – PGPR – Actinomycètes – Acide indole-3-acétique.

Faced with the negative impacts of conventional agriculture on soils, the environment, and food systems, plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are emerging as an ecological alternative to enhance plant productivity. In this study, we investigated an actinomycete strain isolated from saline soil to assess its PGPR potential through the production of indole-3-acetic acid (IAA) and its effect on the growth of six plant species: lentil (*Lens culinaris*), chickpea (*Cicer arietinum*), three wheat varieties (*Triticum durum*) HD RA1, SIRTA RN1, and VITRO RA1, and one barley variety (*Hordeum vulgare*) SAYD P.T.O. The strain was morphologically characterized on DSMZ 65 medium, showing progressive development of mycelial and spore structures. IAA production was confirmed using the Salkowski colorimetric method, reaching a maximum concentration of 26.87 µg/mL. Its phytostimulatory effect was evaluated through both *in vitro* and *in vivo* germination tests by analyzing root growth, germination rate, biomass, and chlorophyll content. The results indicated a significant improvement in seedling growth, particularly in chickpea and wheat VITRO RA1. Watering with rainwater promoted growth, in contrast to fermentation juice or GBA medium. Finally, a moderate increase in chlorophyll content was observed in the VITRO RA1 wheat variety whose seeds were inoculated with the bacterial strain. These results suggest that the actinomycete strain has partial phytostimulant potential, with positive effects specific to certain species, making it a promising candidate for targeted biofertilizer applications within adapted agricultural systems.

**Keywords:** Organic agriculture - PGPR - Actinomycetes - Indole-3-acetic acid.

نظرًا للتأثيرات السلبية للزراعة الحديثة على التربة والبيئة وجودة الغذاء، تُعتبر البكتيريا المحفزة لنمو النباتات (PGPR) حلاً بيئياً لتحسين إنتاجية النباتات. في هذا البحث، قمنا بدراسة سلالة من الأكتينوميسيات تم عزلها مسبقاً من تربة مالحة، لتقدير قدرتها على تعزيز النمو النباتي من خلال إنتاج حمض الإندول-3-أسيتيك (IAA) وتأثيرها على نمو ستة أنواع نباتية: العدس (*Triticum durum*)، الحمص (*Cicer arietinum*)، الحنطة (*Lens culinaris*) ، ثلاثة أصناف من القمح (*Hordeum vulgare*) وصنف من الشعير (VITRO RA1، SIRTA RN1، HD RA1، SAYD P.T.O). تمت دراسة خصائص السلالة على الوسط الغذائي DSMZ 65، حيث أظهرت تطوراً تدريجياً للبنية الخيطية وتكونين أبواغ طيلة مدة الحضن. من جهة تم تأكيد قدرة السلالة على إنتاج IAA باستخدام طريقة سالكوفسكي، حيث سجلنا قيمة 26.87 ميكروغرام/مل كأعلى تركيز. ومن جهة أخرى تم تقدير تأثيرها على النباتات من خلال تجارب إنبات في المختبر (*in vitro*) وفي ظروف طبيعية (*in vivo*) ، وذلك من خلال تحليق طول الجذور، حساب نسبة الإنبات، وزن الكتلة الحيوية، وقياس محتوى الكلوروفيل. وقد أظهرت النتائج تحسناً واضحاً في نمو الشتلات، خاصة عند نبات الحمص والقمح من صنف VITRO RA1. و كذلك نمو جيد بعد السقي بمياه الأمطار بخلاف السقي بالوسط الغذائي المتاخر أو وسط الـ GBA. كما لاحظنا ارتفاع طفيف في محتوى الكلوروفيل عند صنف القمح VITRO RA1 المعالج بالسلالة البكتيرية. تشير هذه النتائج إلى أن السلالة المدروسة تملك قدرة نسبية على تحفيز إنبات البذور، مع تأثيرات إيجابية تختلف حسب النوع النباتي، مما يجعلها مرشحة جيدة لتطبيقات التسميد الحيوي الموجه ضمن أنظمة الزراعة المستدامة.

**الكلمات المفتاحية:** الزراعة العضوية – البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) – الأكتينوميسيات – حمض الإندول-3-أسيتيك..

## Liste des abréviations

**ABA** : Acide abscissique

**AIA** : Acide indole-3-acétique

**AIB** : Acide indole-3-butyrique

**DAPG** : 2,4-Diacétylphloroglucinol

**DO** : Densité Optique (valeur mesurée par spectrophotométrie)

**DSMZ 65** : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen 65

**HCN** : Cyanure d'hydrogène (Hydrogen Cyanide)

**IAM** : Indole-3-acétamide

**IAN** : Indole-3-acétonitrile

**ipdC** : Gène codant pour l'enzyme indole-3-pyruvate décarboxylase

**IPDC** : Indole-3-pyruvate décarboxylase

**IPYA** : Indole-3-pyruvate

**O.A.I.C** : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales

**PGPR** : *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*

**rpm** : Rotation par minute

## Liste des tableaux

|   |                                    |
|---|------------------------------------|
| <b>Tableau 01 : Caractères culturaux de la souche sur le milieu DSMZ65.</b> .....   | <b>26</b>                          |
| <b>Tableau 02 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines des lentilles sur papier filtre.</b> .....   | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 03 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines des pois chiches Sur papier filtre.</b> .....  | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 04 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété VITRO RA1sur papier filtre.</b> .....  | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 05 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété SIRTA RN1 sur papier filtre.</b> .....   | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 06 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété HD RA1sur papier filtre.</b> .....   | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 07 : Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété SAYD P.T.O sur papier filtre.</b> .....  | <b>31</b>                          |
| <b>Tableau 08 : Résultats de l'évaluation de l'effet de l'inoculation bactérienne sur le poids frais, le taux de germination et les indices de vigueur des plantules selon les 'espèces.</b> .....Erreur ! Signet non défini. |                                    |
| <b>Tableau 09 : L'influence de la souche bactérienne sur la biomasse racinaire (poids frais et poids sec) d'espèces cultivées.</b> .....  | <b>Erreur ! Signet non défini.</b> |
| <b>Tableau 10 : Effet des différents traitements bactériens et arrosage sur la germination et la croissance des plantules.</b> .....  | <b>32</b>                          |

## Liste des figures

|  |                              |
|--|------------------------------|
| <b>Figure 01:</b> Classification des organismes du sol en fonction de leurs tailles (Blanchart, 2014). ....  | 4                            |
| <b>Figure 02 :</b> PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique (Pérez-Montano <i>et al.</i> , 2014). ....   | 7                            |
| <b>Figure 03 :</b> Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes (Belyagoubi, 2014). ....  | 10                           |
| <b>Figure 04 :</b> Cycle de l'azote (Bioteau <i>et al.</i> , 2002). ....   | 12                           |
| <b>Figure 05 :</b> La structure chimique des auxines naturelles (Srivastava, 2002). ....   | 14                           |
| <b>Figure 06 :</b> Voies de biosynthèse de l'AIA à partir de son précurseur. ....  | 16                           |
| <b>Figure 07 :</b> Mécanismes directs et indirects médiés par les PGPR avec des effets bénéfiques sur les plantes hôtes(El-Saadony <i>et al.</i> , 2022 modifier).....   | 18                           |
| <b>Figure 08 :</b> Schéma illustrant la technique des lamelles.....  | 20                           |
| <b>Figure 09 :</b> Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita et Rajesh, 2014).....  | 22                           |
| <b>Figure 10 :</b> Les graines référencées utilisées dans l'expérimentation, fournies par l'O.A.I.C. ....  | 23                           |
| <b>Figure 11 :</b> Culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation à 30 °C.....   | 27                           |
| <b>Figure 12 :</b> Culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 15 jours d'incubation à 30 °C.....  | 27                           |
| <b>Figure 13 :</b> Culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 21 jours d'incubation à 30 °C.....  | 27                           |
| <b>Figure 14 :</b> Observation microscopique du (Gx100) de la souche après 7 jours d'incubation.....   | 28                           |
| <b>Figure 15 :</b> Observation microscopique (Gx100) de la souche après 15 jours d'incubation. ....  | 28                           |
| <b>Figure 16 :</b> Observation microscopique des spores (Gx100) de la souche après 21 jours d'incubation... <td>29</td>  | 29                           |
| <b>Figure 17 :</b> Formation d'anneau rouge dans les tubes réactionnels après ajout du réactif de Salkowski aux surnageants de fermentation.....   | 29                           |
| <b>Figure 18 :</b> Histogramme représentant les concentrations d'AIA en µg/mL calculées dans les différentes répétitions.....  | 30                           |
| <b>Figure 19 :</b> Culture de 21 jours dans le milieu Fahraeus. ....   | 32                           |
| <b>Figure 20:</b> Effet des différents traitements bactériens sur le développement morphologique du blé (VITRO RA1), de la lentille et du Pois chiche après 26 jours de culture..Erreurs ! Signet non défini.        |                              |
| <b>Figure 21 :</b> Comparaison de la taille des tiges, des racines principales et du nombre de ramifications chez la Lentille selon les traitements appliqués après 26 jours... Erreurs ! Signet non défini.         |                              |
| <b>Figure 22:</b> Comparaison de la taille des tiges, des racines principales et du nombre de ramifications chez le Pois chiche selon les traitements appliqués après 26 jours.. Erreurs ! Signet non défini.        |                              |
| <b>Figure 23 :</b> Comparaison de la taille des tiges, des racines principales et du nombre de ramifications chez le blé (VITRO RA1)selon les traitements appliqués après 26 jours..... Erreurs ! Signet non défini. |                              |
| <b>Figure 24 :</b> Extraction et clarification de l'extrait chlorophyllien pour l'analyse spectrophotométrique .....   | Erreurs ! Signet non défini. |
| <b>Figure 25 :</b> Variation des teneurs en chlorophylle a, b et totale chez le pois chiche selon les traitements .....  | Erreurs ! Signet non défini. |
| <b>Figure 26 :</b> Variation des teneurs en chlorophylle a, b et totale chez le blé VITRO RA1 selon les traitements. ....  | Erreurs ! Signet non défini. |

## **Table de matière**

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| <b>Remerciement</b>  |                             |
| <b>Dédicace</b>  |                             |
| <b>Résumé</b>  |                             |
| <b>Abstract</b>  |                             |
| <b>ملخص</b>  |                             |
| <b>Liste des abréviations.....</b>                                     | i                           |
| <b>Liste des tableaux.....</b>   | ii                          |
| <b>Liste des figures.....</b>  | iii                         |
| <b>Introduction</b>  |                             |
| <b>Revue bibliographique</b>   |                             |
| <b>1. Agriculture biologique .....</b>                                 | 3                           |
| <b>1.1 Biodiversité du sol .....</b>                                   | 3                           |
| <b>1.2 Faune du sol.....</b>   | 4                           |
| <b>1.3 Flore du sol.....</b>   | 5                           |
| <b>1.4 Rhizosphère .....</b>   | 6                           |
| <b>2 Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des plantes .....</b> | 6                           |
| <b>2.1 Actinomycètes.....</b>  | 8                           |
| <b>2.1.1 Généralités .....</b>   | 8                           |
| <b>2.1.2 Morphologie.....</b>  | 10                          |
| <b>2.2 Mécanisme d'action des PGPR .....</b>                           | 11                          |
| <b>2.2.1 Biofertilisants .....</b>                                     | 11                          |
| <b>2.2.2 Fixation d'azote .....</b>                                    | 11                          |
| <b>2.2.3 Solubilisation du phosphate.....</b>                          | 13                          |
| <b>2.2.4 Phytostimulants .....</b>                                     | 13                          |
| <b>2.2.5 Bio-control.....</b>  | 17                          |
| <b>Matériel et Méthodes</b>  |                             |
| <b>1. Revivification des bactéries .....</b>                           | 19                          |
| <b>1.1 Préparation du milieu de culture DSMZ 65 .....</b>              | 19                          |
| <b>1.2 Préparation de la biomasse cellulaire.....</b>                  | Erreur ! Signet non défini. |
| <b>2. Étude morphologique .....</b>                                    | 19                          |
| <b>2.1 Étude macroscopique.....</b>                                    | 19                          |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>2.2 Étude microscopique.....</b>                          | <b>20</b> |
| <b>3. Production de l'acide indole acétique .....</b>        | <b>20</b> |
| <b>3.1 Préparation du milieu de fermentation.....</b>        | <b>20</b> |
| <b>3.2 Préparation de l'inoculum.....</b>                    | <b>21</b> |
| <b>3.3 Dosage de l'AIA.....</b>                              | <b>21</b> |
| <b>4. Effet des PGPR sur la croissance des graines .....</b> | <b>22</b> |
| <b>4.1 Matériel végétal .....</b>                            | <b>22</b> |
| <b>4.2 Test de germination <i>in vitro</i> .....</b>         | <b>23</b> |
| <b>4.2.1 Inoculation des graines.....</b>                    | <b>23</b> |
| <b>4.2.2 Culture sur milieu fahraeus.....</b>                | <b>23</b> |
| <b>4.3 Test de culture <i>in vivo</i> .....</b>              | <b>24</b> |
| <b>4.3.1 Analyse morphologique des plantules.....</b>        | <b>25</b> |
| <b>4.3.2 Dosage de la chlorophylle .....</b>                 | <b>25</b> |

### Résultats et Discussion

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| <b>1. Étude morphologique.....</b>   | <b>26</b>                   |
| <b>1.1. Étude macroscopique .....</b>  | <b>26</b>                   |
| <b>1.2. Étude microscopique .....</b>  | <b>28</b>                   |
| <b>2. Production de l'AIA .....</b>  | <b>29</b>                   |
| <b>3. Test de germination <i>in vitro</i> .....</b>  | <b>30</b>                   |
| <b>3.1 Évaluation de l'effet de l'inoculation bactérienne sur la germination et la croissance racinaire des graines .....</b>                        | <b>30</b>                   |
| <b>3.2 Évaluation de l'effet de l'inoculation bactérienne sur la biomasse racinaire (poids frais et sec) des différentes espèces végétales .....</b> | Erreur ! Signet non défini. |
| <b>3.3 Culture sur milieu fahraeus .....</b>   | <b>31</b>                   |
| <b>4. Test de culture <i>in vivo</i>.....</b>  | <b>32</b>                   |
| <b>4.1 Effet des différents traitements bactériens et arrosage sur la germination et la croissance des plantules .....</b>                           | <b>32</b>                   |
| <b>4.2 Effet des traitements sur les caractères morphologiques des plantules .....</b>   | Erreur ! Signet non défini. |
| <b>4.3 Effet des traitements sur la teneur en pigments chlorophylliens .....</b>   | Erreur ! Signet non défini. |

### Conclusion

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Références bibliographiques.....</b> | <b>50</b> |
| <b>Annexes .....</b>                    | <b>I</b>  |

# **Introduction**

Face à l'augmentation constante de la population mondiale et à la pression croissante sur les ressources alimentaires, l'agriculture moderne s'est imposée comme un modèle intensif visant à maximiser les rendements. Ce système repose sur la mécanisation, les biotechnologies, l'irrigation améliorée et surtout l'usage massif d'intrants chimiques tels que les engrains minéraux et les produits phytosanitaires. Bien qu'elle réponde efficacement aux exigences de productivité et de compétitivité sur les marchés internationaux (Zwaenepoel et Bars, 1997), cette approche soulève de nombreuses préoccupations environnementales et sanitaires. En effet, l'application prolongée d'engrais chimiques perturbe l'équilibre microbiologique des sols, réduit leur teneur en matière organique et provoque leur acidification, compromettant ainsi leur fertilité à long terme (Sall *et al.*, 2017). Par ailleurs, le ruissellement des nutriments excédentaires contribue à la pollution des eaux et à l'eutrophisation des milieux aquatiques, tandis que la bioaccumulation de résidus chimiques dans la chaîne alimentaire représente une menace réelle pour la santé humaine, notamment un risque accru de maladies chroniques, de troubles endocriniens et de cancers.

Dans ce contexte, l'agriculture biologique émerge comme une alternative durable, visant à produire des aliments sains tout en préservant l'environnement et le bien-être animal. Ce mode de production repose sur le respect des équilibres naturels, de la biodiversité et de la vie des sols, en excluant l'utilisation de produits chimiques de synthèse et d'organismes génétiquement modifiés (OGM). Il privilégie des pratiques agricoles écologiquement responsables telles que la rotation des cultures, l'utilisation de composts ou d'engrais organiques, le recours aux auxiliaires biologiques pour le contrôle des ravageurs, ainsi que la valorisation des ressources naturelles locales (FAO, 2020).

Parmi les leviers biologiques mobilisables pour améliorer la croissance des plantes de manière durable, le sol et sa microflore représentent une ressource stratégique. Le sol, en tant que réservoir de biodiversité, abrite une immense diversité d'organismes vivants, incluant bactéries, champignons et actinomycètes, qui jouent un rôle crucial dans le maintien de sa fertilité et dans les cycles biogéochimiques (Vincent *et al.*, 2023 ; Andrén et Balandreau, 1999). La rhizosphère, zone d'interaction étroite entre les racines et le microbiote, constitue un environnement privilégié où se développent de nombreuses bactéries bénéfiques appelées rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Prescott *et al.*, 2007 ; Bais *et al.*, 2006). Ces micro-organismes, naturellement présents dans les sols, sont compatibles avec les

principes de l'agriculture biologique et constituent une alternative prometteuse aux intrants chimiques.

Les PGPR influencent positivement la croissance végétale à travers divers mécanismes, tels que la solubilisation des phosphates, la fixation biologique de l'azote, la protection contre les agents pathogènes, mais surtout par la production de phytohormones (Antoun et Prevost, 2006 ; Spaepen *et al.*, 2007). Parmi celles-ci, l'acide indole-3-acétique (AIA), principale auxine naturelle, joue un rôle déterminant dans le développement racinaire, la division cellulaire et l'absorption des nutriments (Hopkins, 2003 ; Bhatla et Lal, 2023). Il est produit non seulement par les plantes, mais également par de nombreuses bactéries du sol via des voies métaboliques dépendantes du tryptophane (Hernandez, 2022 ; Chudiwal et Nalawade, 2024).

Dans cette perspective, le présent mémoire s'articule autour de trois volets complémentaires. La première partie constitue une revue bibliographique consacrée à l'agriculture biologique, avec un accent particulier sur les micro-organismes de la rhizosphère. Nous y mettons en lumière le rôle central des PGPR, reconnus pour leur potentiel en tant que biofertilisants, agents de biocontrôle et phytostimulants.

La deuxième partie est consacrée aux aspects expérimentaux, détaillant les méthodologies et techniques employées pour évaluer l'effet phytostimulant d'une souche actinomycétaire sélectionnée pour sa forte capacité PGPR sur des espèces végétales d'intérêt agricole : deux légumineuses, la lentille (*Lens culinaris*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*), ainsi que des céréales, le blé dur (*Triticum durum*) et l'orge (*Hordeum vulgare*).

Enfin, la troisième partie analyse les résultats obtenus concernant l'influence de cette souche, cultivée en milieu de fermentation, sur la germination, le développement des plantules et la croissance des plantes. Ce mémoire se conclura par une synthèse générale et des perspectives d'application.

# **Revue bibliographique**

## 1. Agriculture biologique

L'agriculture moderne est un système agricole caractérisé par l'utilisation intensive d'intrants tels que les engrains chimiques non organiques principalement azotés, phosphorés et potassiques. Ils sont utilisés pour fournir aux plantes les nutriments essentiels à leur croissance permettant l'augmentation des rendements agricoles (Mallem *et al.*, 2015). Cependant, cette pratique a des conséquences néfastes sur la santé humaine, animale et environnementale ; notamment la dégradation des sols, la pollution de l'eau et les impacts négatifs sur la biodiversité.

Face à ces enjeux, l'agriculture biologique apparaît comme une alternative durable, privilégiant des méthodes respectueuses de l'environnement et de la santé humaine.

L'agriculture biologique est un système de production intégré qui repose sur l'utilisation d'intrants naturels, tels que les minéraux et les produits d'origine végétale, tout en excluant les engrains de synthèse et les pesticides chimiques. Ce mode de culture vise à préserver et à améliorer la santé des agro-écosystèmes. Elle favorise la biodiversité, les cycles biologiques et l'activité biologique des sols (FAO, 2020 ; Claud et Blaise, 2003). Elle améliore l'enrichissement du sol en éléments nutritifs en favorisant la décomposition des débris végétaux et en contrôlant naturellement les infestations de parasites sans agents chimiques.

Des pratiques agricoles telles que l'utilisation d'engrais verts, la rotation des cultures et la culture de plantes de couverture sont indispensables pour favoriser la diversité des micro-organismes du sol et maintenir la fertilité des sols (Varma *et al.*, 2024). Donc, une attention particulière doit être accordée à la santé du sol, qui constitue l'un de ses principes fondamentaux (Claud et Blaise, 2003).

### 1.1 Biodiversité du sol

Le sol est la couche superficielle de la croûte terrestre, c'est un milieu polyphasique composé de matière minérale et de matière organique (la phase solide), d'eau (la phase liquide), d'air (la phase gazeuse) et d'organismes vivants (Djigal, 2003). Le sol est un écosystème très particulier, abritant l'un des plus grands réservoirs de biodiversité de la planète (Vincent *et al.*, 2023). Il contient une vaste diversité d'espèces, ces espèces sont appelées la faune et la flore du sol (André et Balandreau, 1999). La faune est généralement divisée en quatre catégories selon leur taille : la microfaune, la mésofaune, la macrofaune et

la mégafaune. La flore du sol regroupe l'ensemble des microorganismes qui y vivent (Figure 01).

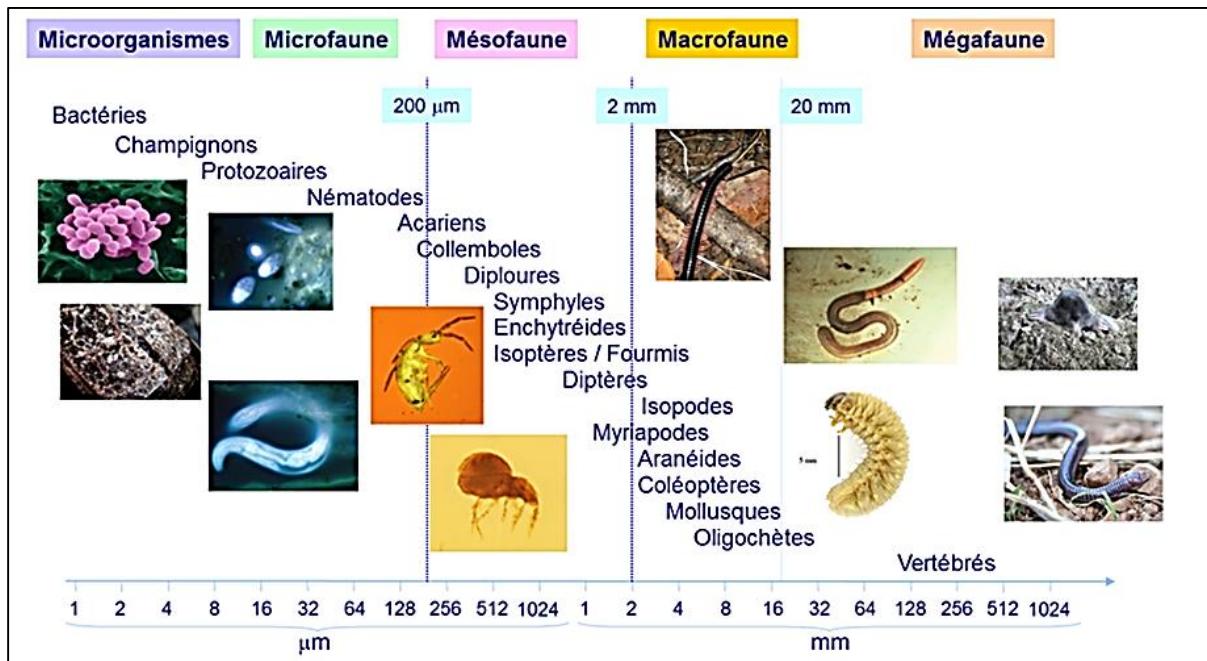


Figure 01: Classification des organismes du sol en fonction de leurs tailles (Blanchart, 2014).

## 1.2 Faune du sol

La faune du sol a un effet positif direct ou indirect sur la croissance des plantes. En effet, de nombreuses recherches ont démontré qu'elle joue un rôle actif dans la décomposition de la matière organique pour la rendre assimilable par les plantes (Diallo, 2011).

La microfaune est principalement composée d'arthropodes et de nématodes. Les arthropodes vivent principalement dans la litière, où ils se nourrissent et fragmentent activement la matière végétale, favorisant ainsi le développement d'une activité microbienne intense (Diallo, 2011).

La mésofaune est composée d'organismes de taille variable, entre quelques centaines de microns et deux millimètres. Les plus importants sont les acariens et les collemboles. Leur participation est essentielle pour améliorer la qualité du sol (Hedde, 2018).

La macrofaune, abondante et variée, est principalement composée de termites, de vers de terre et de fourmis. Les termites ont un impact significatif sur la décomposition et l'humification des déchets végétaux, ainsi que sur la structure morphologique, physique et

chimique des sols. Ils participent aussi à la concentration et au stockage des nutriments dans les structures qu'ils forment. Les activités de fouissage et d'ingestion de matière organique des vers de terre ont un impact sur la structure et la fertilité du sol. Les fourmis bâissent des nids en utilisant des particules provenant des horizons profonds, ces nids sont souvent de grande taille et altèrent la composition des sols environnants (Diallo, 2011).

### **1.3 Flore du sol**

En termes de diversité et de densité, le sol est un véritable réservoir de microorganismes : les bactéries, les champignons et les protozoaires, etc. Leur rôle principal est d'améliorer la fertilité des sols. Les groupes les plus essentiels, en termes de fonctions, sont les champignons et les bactéries essentiellement les actinomycètes.

Les champignons sont des organismes eucaryotes hétérotrophes, constituant un phylum propre (Frons *et al.*, 2018). Ils peuvent posséder une structure aérienne nommée sporophore, mais leur caractéristique principale réside dans une importante partie souterraine appelée le mycélium. La microflore fongique du sol est composée de levures, de champignons filamentueux, et en grande majorité de moisissures appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Fusarium*, etc.

Les champignons ont des effets bénéfiques sur les plantes, notamment à travers les symbioses appelées les mycorhizes, qui établissent une relation entre les racines des plantes et les hyphes fongiques, en produisant de nombreux filaments mycéliens dans le sol, formant ainsi un réseau qui explore une grande quantité de sol autour de la plante. Cette exploration permet aux champignons de récupérer les éléments nutritifs de manière plus efficace que les racines des plantes.

Leur intervention la mieux documentée est leur rôle central dans la nutrition en phosphore des plantes (Smith et Read, 2008). Ce dernier est souvent peu disponible dans les sols, même s'ils sont riches, car il est fortement lié aux particules argilo-humiques du sol. Les champignons récupèrent cet élément et le transportent vers les racines. Leur implication dans l'assimilation d'autres éléments minéraux tels que l'azote, le potassium, le calcium et les oligo-éléments, varie en fonction des cas.

De plus, ils peuvent jouer un rôle important dans la régulation de l'eau absorbée par la plante, contribuant ainsi à sa résistance au stress hydrique. Diverses études ont également souligné

leur impact sur la résistance des plantes aux maladies causées par des pathogènes (Amir et Ducousoo, 2010).

Les bactéries, sont des organismes procaryotes unicellulaires, très abondantes dans les sols. Elles présentent une grande variété de rôles et de fonctions au sein de cet écosystème. Elles participent à diverses activités biotiques du sol afin de le rendre dynamique pour le renouvellement des nutriments et durable pour la production agricole. En effet, les bactéries logées autour ou dans les racines « la rhizosphère » des plantes ont une plus grande polyvalence dans la transformation, la mobilisation et la solubilisation des nutriments que celles des sols en vrac (Munees et Mulugeta, 2014).

#### **1.4 Rhizosphère**

Le terme « rhizosphère » a été proposé pour la première fois par le botaniste allemand Lorenz Hiltner en 1904 (Prescott *et al.*, 2007). Il dérive du grec « *rhiza* » racine et du mot « *sphère* », indiquant la zone d'influence autour des racines. La rhizosphère correspond à la zone entourant les racines des plantes. Il s'agit de l'un des écosystèmes les plus complexes, servant d'interface dynamique pour les échanges entre le sol, les racines et le microbiote (ensemble des micro-organismes présents dans un environnement spécifique).

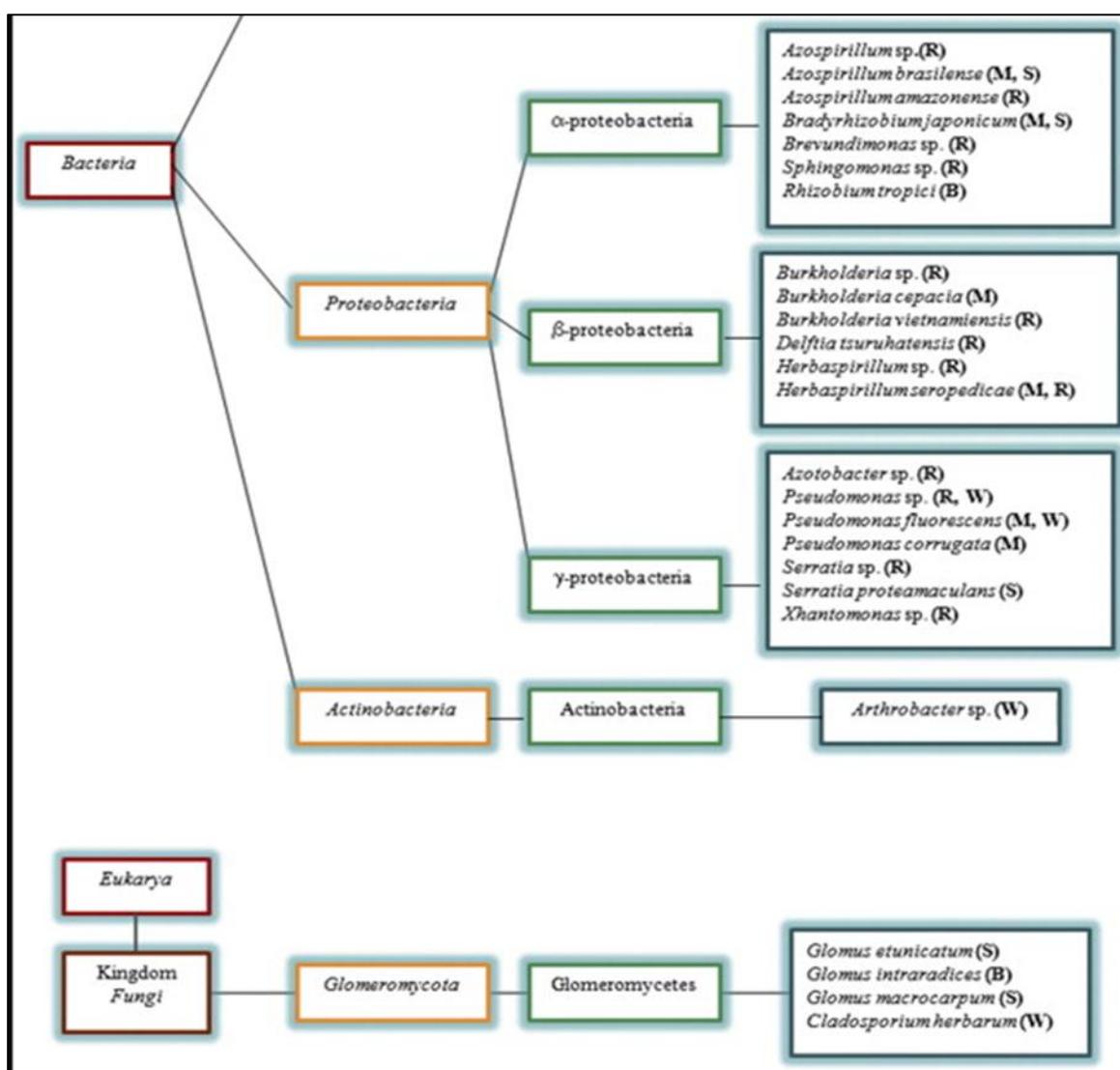
Cette niche écologique est caractérisée par des gradients chimiques et biologiques générés par les exsudats racinaires (comme les sucres, les acides aminés et les acides organiques) (Jones, 1998). Ces exsudats influencent l'activité microbienne ainsi que les interactions sol-plante.

La rhizosphère abrite de nombreuses bactéries, appelées « rhizobactéries », qui interagissent de différentes manières avec les plantes. Ces interactions peuvent être bénéfiques, neutres ou nocives selon les espèces et les conditions environnementales (Bais *et al.*, 2006).

### **2 Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des plantes**

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (de l'anglais : *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), ont été introduites pour la première fois à la fin des années 1970. À cette époque, Kloepper et Schroth ont démontré que certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* amélioraient le rendement des cultures de pommes de terre jusqu'à 500 %, notamment par la production de sidérophores chélateurs de fer, privant ainsi les bactéries pathogènes du fer nécessaire à leur développement (Kloepper et Schroth, 1981).

Les PGPR sont définies comme un groupe hétérogène de bactéries vivant dans la rhizosphère, capables de stimuler la croissance des plantes en colonisant la surface ou l'intérieur des racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009). Ces effets bénéfiques peuvent être directs, via l'interaction avec la plante hôte, ou indirects, par l'inhibition des agents pathogènes. Les plantes colonisées présentent souvent des modifications morpho-physiologiques significatives, telles qu'une augmentation de la biomasse racinaire et foliaire, une meilleure absorption des nutriments et une tolérance accrue aux stress abiotiques et biotiques.



**Figure 02 :** PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique (Pérez-Montano *et al.*, 2014). Diversité phylogénétique des micro-organismes producteurs d'AIA associés à différentes cultures (maïs, riz, blé, soja, haricot). La figure présente les principaux groupes bactériens (Firmicutes, Protéobactéries, Actinobactéries) et fongiques (Gloméromycètes) impliqués dans la biosynthèse d'AIA, selon l'espèce végétale hôte.

Les PGPR regroupent une grande diversité de genres et d'espèces microbiens, dont plusieurs ont été largement étudiés pour leurs applications agricoles. Elles appartiennent principalement à quatre phylums : les *Protéobactéries*, les *Actinobactéries*, les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes* (Figueiredo *et al.*, 2010) (Figure 02). Parmi les genres les plus fréquemment identifiés, on peut citer : *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Micrococcus*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Agrobacterium*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Serratia* et *Rhizobium* (Niranjan Raj *et al.*, 2005).

## 2.1 Actinomycètes

Les actinomycètes ont été découverts pour la première fois par F. Cohn en 1875. Waksman a structuré l'histoire des actinomycètes en quatre grandes phases.

La première, qui s'étend de 1874 à 1890, les actinomycètes ont été extraits pour la première fois de sols et de plantes et identifiés comme des agents pathogènes affectant les végétaux et les animaux.

La deuxième phase, de 1900 à 1919, est marquée par l'isolement des actinomycètes présents dans le sol. Les recherches de Kraisky, Cohn, Waksman et Curtis ont permis de mieux appréhender leurs caractéristiques et leur rôle écologique.

La troisième phase, de 1919 à 1940, s'intéresse aux aspects bactériologiques des actinomycètes. Les travaux de Waksman et de ses collaborateurs ont permis l'élaboration de méthodes pour l'isolement, la culture et l'identification des actinomycètes.

Enfin, la dernière phase, qui commence en 1940 et perdure jusqu'à aujourd'hui, se concentre sur l'étude des capacités des actinomycètes à produire des molécules bioactives (Harir, 2018) très intéressantes en particulier dans les domaines de l'agriculture, de l'écologie, de l'industrie pharmaceutique, etc.

### 2.1.1 Généralités

Le terme « Actinomycètes » dérive de deux mots grecs, « *Actino* » et « *Mycète* », signifiant « champignons à rayons » ou « champignons rayonnants », une expression également utilisée en anglais « *Ray fungi* » ainsi qu'en allemand et en russe (Loqman, 2009). De nos jours, cette nomination est abandonnée et ils sont appelés les actinobactéries.

Les actinomycètes constituent un groupe hétérogène de bactéries Gram-positives, filamenteuses, et représentent la source principale de métabolites anticellulaires dans la nature (Boughachiche *et al.*, 2005). Leur ADN contient une proportion élevée de guanine et

de cytosine. Ils sont extrêmement diversifiés, avec plus de 350 genres identifiés à ce jour, et font partie du plus grand phylum bactérien (Whitman, 2010). Ubiquistes, ces organismes se trouvent dans des environnements aquatiques et terrestres. Bien que la majorité des actinobactéries soient des saprophytes vivant dans le sol, on les retrouve également dans les écosystèmes extrêmes. Dans le sol, leur densité varie généralement de  $10^6$  à  $10^9$  cellules par gramme de sol, avec une prédominance des souches du genre *Streptomyces* (plus de 95 % des souches actinomycétales isolées) (Yoko et Takaji, 2018).

Les activités microbiennes accélèrent la dégradation et la minéralisation de la matière organique présente dans le sol, contribuant ainsi à une nutrition optimale des plantes.

Les actinobactéries, notamment celles des genres *Streptomyces*, *Nocardia*, et *Micromonospora*, jouent un rôle fondamental dans les écosystèmes terrestres, en particulier dans la dégradation de la matière organique complexe. Ils possèdent une grande capacité à produire des enzymes extracellulaires telles que la cellulase, la xylanase, et la chitinase, qui dégradent respectivement la cellulose, l'hémicellulose et la chitine (Goodfellow & Williams, 1983). Ces enzymes contribuent à la minéralisation de la matière organique, libérant des nutriments essentiels pour les plantes, notamment l'azote et le phosphore.

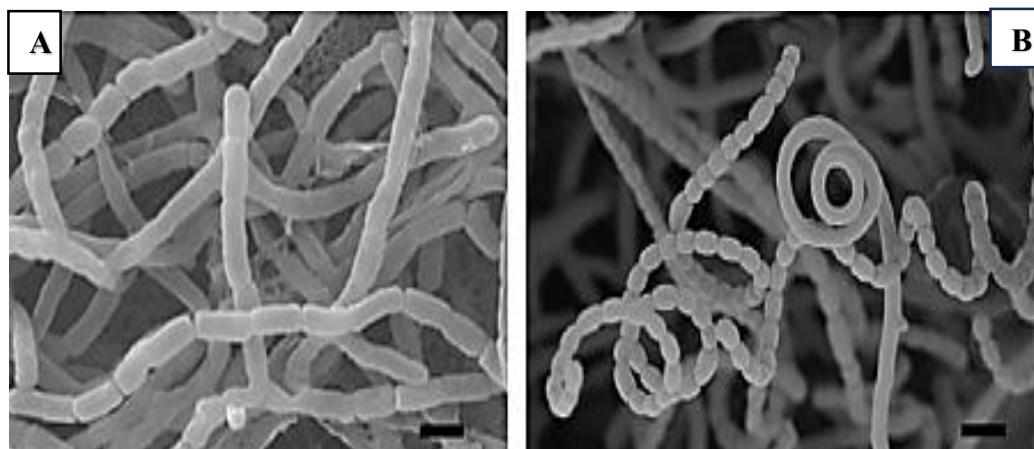
Les actinomycètes jouent également un rôle important dans la rhizosphère en agissant comme des PGPR. Elles favorisent la croissance des plantes par divers mécanismes : la production de phytohormones comme l'AIA (El-Tarably, 2008) ; la solubilisation du phosphate inorganique, augmentant la biodisponibilité du phosphore pour la plante (Jog *et al.*, 2012) ; la production d'enzymes antifongiques, comme la chitinase et la glucanase, capables de dégrader la paroi cellulaire des champignons pathogènes, jouant ainsi un rôle dans le biocontrôle phytopathologique (Ameer, 2014 ; Gopalakrishnan *et al.*, 2013).

La production d'antibiotiques est une autre caractéristique importante des actinomycètes, ce qui les rend précieux dans la lutte contre les phytopathogènes. Ils produisent des antibiotiques tels que la streptomycine, qui est utilisée non seulement en médecine mais aussi en agriculture pour contrôler des maladies bactériennes (Olsson *et al.*, 2011). D'autres composés antifongiques sont produits, comme la griseofulvine, utilisée dans la lutte contre des champignons comme *Aspergillus* et *Penicillium*. Ainsi, ils peuvent réguler les communautés microbiennes autour des racines des plantes, offrant une défense contre les infections fongiques ou bactériennes.

Les actinobactéries sont donc à l'interface de plusieurs fonctions écologiques : dégradation des composés organiques, protection des plantes contre les pathogènes, et amélioration de la croissance végétale. Leur rôle dans la régulation biologique des sols et la promotion d'une agriculture durable mérite une attention accrue.

### 2.1.2 Morphologie

Les actinomycètes présentent une morphologie similaire à celle des champignons, mais avec des caractéristiques distinctes. Les hyphes sont plus fins, avec un diamètre de 0,5 à 1 µm, ce qui est deux à dix fois plus petit que celui des champignons (de 2 à 5 µm). On observe des espèces dont le mycélium est inexistant, comme celles du genre *Mycobacterium*, d'autres dont le mycélium est temporaire et se fragmente par la suite, comme celles du genre *Nocardia*, et un mycélium bien développé et durable, tel que les espèces du genre *Streptomyces* (Figure 03) (Belyagoubi, 2014).



**Figure 03 :** Clichés de microscopie électronique à balayage illustrant les types fragmentaire et permanent du mycélium des actinomycètes (Belyagoubi, 2014).  
(A) Bactéries du genre *Nocardia* qui se fragmentent, (B) Bactéries du genre *Streptomyces* en sporulation. Barre d'échelle : 1 µm.

Le mycélium peut être fragmenté ou non. Lorsqu'il est fragmenté, l'examen des fragments et de leur mobilité peut fournir des éléments importants pour l'identification du microorganisme.

Dans le cas où le mycélium est stable, on peut voir :

Un bon développement d'un mycélium végétatif, appelé également mycélium du substrat, à l'intérieur ou à la surface du milieu de culture gélosé. Ce mycélium est généralement coénocytique ;

Pour d'autres genres actinomycétales, on note le développement simultané de deux types de mycelia, un mycélium aérien en plus du mycélium de substrat. Dans certains cas, le mycelium aérien peut donner naissance à des structures spécialisées appelées conidies ou conidiospores ;

La formation du mycélium aérien seul, bien que ce phénomène est rare, comme chez certaines espèces du genre *Sporichthya* (Djaballah, 2010).

Les spores des actinomycètes se développent par séptation aux extrémités des filaments et peuvent se présenter sous différentes formes : isolées, groupées en chaînes, enfermées dans un sporange (sporangiospores), ou sous forme de conidies (conidiospores). La majorité des spores sont immobiles, à l'exception des spores flagellées (pour les espèces aquatiques) qui possèdent une mobilité limitée (Willey *et al.*, 2013).

## 2.2 Mécanisme d'action des PGPR

En fonction de leurs rôles biologiques, les PGPR peuvent être classées en trois grandes catégories fonctionnelles : biofertilisants, par l'amélioration de la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère ; phytostimulants, par la production de phytohormones favorisant la croissance ; agents de biocontrôle et de bioremédiation, par la production de métabolites antifongiques et d'antibiotiques, ou par la dégradation de polluants organiques (Antoun et Prevost, 2006).

### 2.2.1 Biofertilisants

Selon Vessey (2003), les biofertilisants sont définis comme des substances contenant des micro-organismes vivants qui, une fois appliqués aux semences, aux tissus végétaux ou au sol, colonisent la rhizosphère ou les tissus internes des plantes. Leur activité biologique stimule la croissance végétale, principalement en améliorant l'assimilation ou la biodisponibilité des éléments nutritifs essentiels tels que l'azote, le phosphore et le potassium (Santos *et al.*, 2024).

### 2.2.2 Fixation d'azote

Bien qu'il soit majoritairement présent dans l'atmosphère sous forme gazeuse ( $N_2$ ), l'azote constitue l'un des éléments nutritifs les plus limitants pour la croissance des plantes.

La forme gazeuse est chimiquement stable et non directement assimilable par les végétaux (Pujic et Normand, 2009).

La fixation biologique de l'azote repose sur l'enzyme nitrogénase capable de réduire le N<sub>2</sub> en NH<sub>3</sub>. Il s'agit d'un processus exclusif aux procaryotes (Figure 04), particulièrement chez certaines bactéries libres, associatives ou symbiotiques (Madigan et Martinko, 2007 ; Weyens *et al.*, 2010).

Ces micro-organismes, appelés diazotrophes, jouent un rôle fondamental dans la fertilité des sols. Parmi eux, on peut citer les genres *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Rhizobium* (Tilak *et al.*, 2005 ; Figueiredo *et al.*, 2008). La fixation symbiotique est bien illustrée par les genres *Rhizobium* et *Frankia*, alors que des formes libres ou associées à la rhizosphère, comme *Azospirillum*, ont démontré un fort potentiel en tant que PGPR depuis les années 1970, notamment pour leur capacité à améliorer la nutrition azotée des plantes (Bioteau *et al.*, 2002).

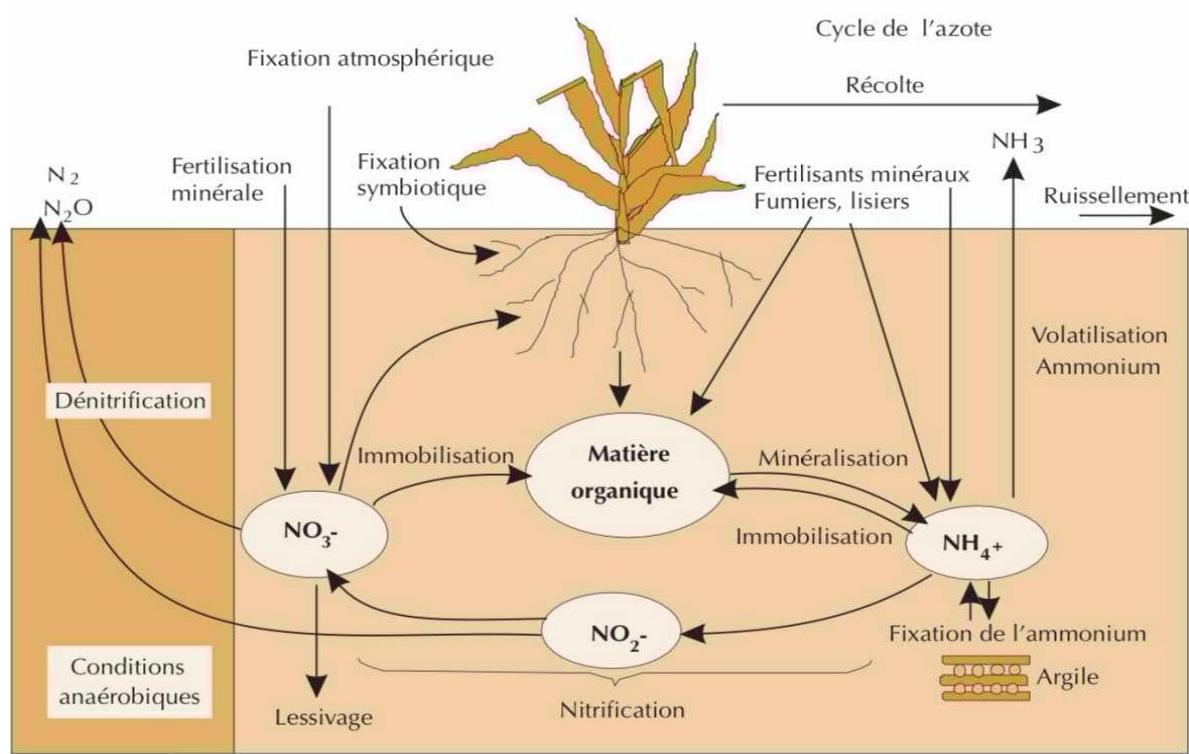


Figure 04 : Cycle de l'azote (Bioteau *et al.*, 2002).

### 2.2.3 Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) constitue, après l'azote, un élément nutritif essentiel au développement optimal des plantes. Il intervient dans des processus physiologiques clés tels que la photosynthèse, la respiration, le transfert d'énergie (ATP/ADP), la transduction des signaux, la division cellulaire, la croissance tissulaire, ainsi que la biosynthèse des acides nucléiques et des protéines (Anand *et al.*, 2016 ; Khan *et al.*, 2010). Toutefois, sa biodisponibilité dans les sols est généralement faible, car 95 à 99 % du phosphore s'y trouve sous des formes insolubles ou précipitées, non accessibles directement aux plantes (Sáenz-Mata *et al.*, 2016 ; Gopalakrishnan *et al.*, 2015).

Les PGPR jouent un rôle fondamental dans la solubilisation du phosphate par la sécrétion d'acides organiques de faible poids moléculaire, tels que l'acide gluconique, qui abaissent le pH de la rhizosphère, libérant ainsi le phosphore sous forme assimilable (Sáenz-Mata *et al.*, 2016 ; Kaur *et al.*, 2016 ; Alori *et al.*, 2017). Elles utilisent également des mécanismes tels que la chélation, l'acidification ou encore une lyse enzymatique pour transformer le phosphore organique ou minéral insoluble en formes utilisables par les plantes (Richardson et Simpson, 2011).

Parmi les genres bactériens les plus efficaces figurent *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Flavobacterium*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Arthrobacter* et *Agrobacterium* (Giri *et al.*, 2003 ; Saharan et Nehra, 2011).

### 2.2.4 Phytostimulants

Les phytostimulants, également appelés « biostimulants », désignent des substances d'origine naturelle ou micro-organismes qui, appliqués aux plantes ou à leur environnement, améliorent la croissance, la vigueur, le rendement ou la tolérance au stress abiotique, sans apporter directement de nutriments (Calvo *et al.*, 2014). Leur mode d'action repose principalement sur la production ou la modulation de phytohormones.

Les phytohormones, appelées aussi régulateurs de croissance, sont des substances organiques synthétisées naturellement par les plantes à faible concentration (du µg/L au mg/L). Ces hormones contribuent à la régulation de la croissance et du développement des plantes. La réponse de ces dernières aux phytohormones dépendant de leur concentration et de la sensibilité des cellules cibles aux hormones (Hopkins, 2003).

Les PGPR sont capables de synthétiser ces régulateurs de croissance, ce qui influence fortement l'architecture racinaire, la division cellulaire, la photosynthèse et d'autres

processus métaboliques (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Dobbelaere *et al.*, 1999 ; Spaepen *et al.*, 2007).

Les phytohormones sont souvent divisées en cinq groupes : Les auxines, les gibberellines, les cytokinines, l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène.

En plus de ces principaux groupes, deux autres semblent avoir une activité régulatrice de la croissance des plantes, les brassinostéroïdes et les polyamines (Hopkins, 2003), dont les auxines sont les plus importantes.

Les auxines constituent les premières hormones végétales découvertes. Le mot «auxine» provient du mot grec «auxein», qui signifie «augmenter».

Les auxines sont un groupe important de phytohormones naturelles qui ont été détectées pratiquement dans toutes les plantes terrestres, ainsi que dans plusieurs microorganismes du sol.

Les auxines naturelles incluent l'acide indole-3-acétique (AIA), l'acide indole-3-butyrique (AIB), l'acide phényl-acétique et l'acide 4-chloroindole-3-acétique (4-Cl-AIA) (Figure 05). Parmi les auxines de synthèse, l'acide naphtalène acétique est la plus utilisée. Sur le plan de la structure chimique, la présence d'une chaîne latérale sur un cycle aromatique est le seul caractère commun à ces molécules qui expriment une activité auxinique (Bhatla et Lal, 2023).

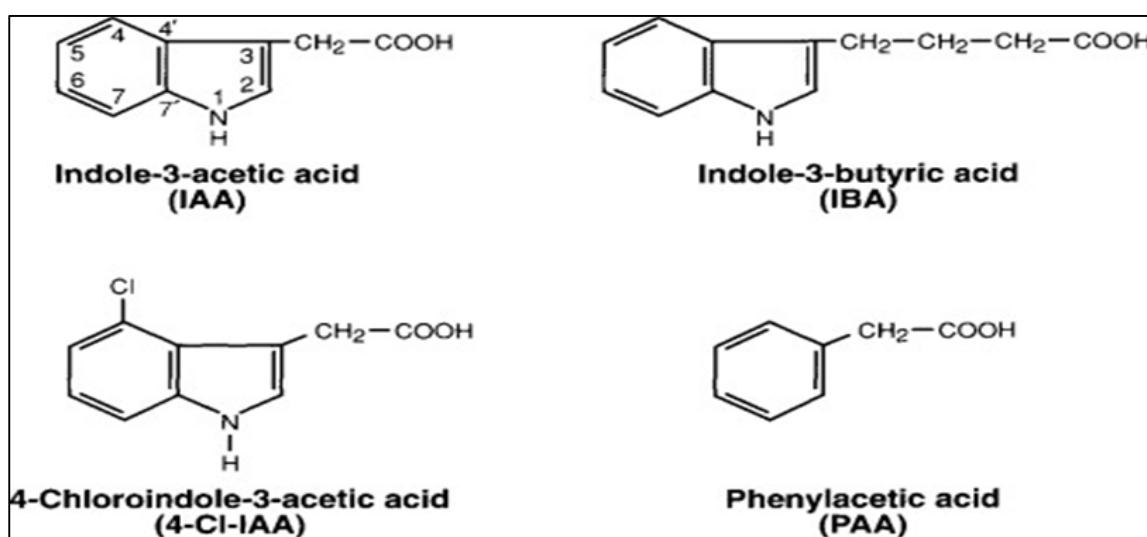


Figure 05 : La structure chimique des auxines naturelles (Srivastava, 2002).

L'acide indole-3-acétique est l'hormone de la croissance végétale naturelle la plus courante de la famille des auxines. Elle est principalement synthétisée naturellement par les plantes au niveau des régions méristématiques, influençant la régulation de la croissance et du développement des plantes. L'AIA est produit également par des bactéries spécifiques telles que *Azospirillum brasilense* et *Bradyrhizobium japonicum* qui sont des bactéries rhizosphériques, et aussi par des champignons parmi eux : *Fusarium oxysporum* et *Macrophomina phaseolina*. Ces microorganismes synthétisent l'AIA par la voie du tryptophane comme un précurseur principal (Hernandez, 2022).

L'AIA est impliqué principalement dans la croissance et le développement général des plantes, il agit sur plusieurs aspects en stimulant le développement des racines, améliorant l'absorption des nutriments, la fructification, la dominance apicale et le fleurissement. Son rôle est aussi primordial dans les interactions plantes-microorganismes, il favorise la communication entre eux ce qui peut contribuer à l'amélioration de la santé des plantes et à leur résistance face à divers stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité et la toxicité des métaux lourds (Etesami et Glick, 2024).

L'acide indole acétique est produit par les PGPR, en tant que métabolite secondaire, en utilisant généralement les substrats exsudés par les racines, en particulier le tryptophane. Ce dernier est considéré comme précurseur de la biosynthèse de l'AIA (Chudiwal et Nalawade, 2024). En effet, des études identifient cinq voies de biosynthèse de l'AIA dépendantes du tryptophane et une voie indépendante dérivant de l'indole-3-glycérolphosphate (Spaepen *et al.*, 2007) comme s'est illustré dans la (Figure 06).

La voie indole-3-acétamide (IAM) où le tryptophane est converti en IAM par l'enzyme tryptophane-2-monooxygénase. Par la suite, ce dernier est transformé en AIA par l'enzyme amidase.

La voie indole-3-pyruvate (IPYA) : le tryptophane est converti en IPYA par une aminotransférase. L'IPYA est ensuite décarboxylé en indole-3-acétaldéhyde par l'enzyme IPDC, puis oxydé en AIA.

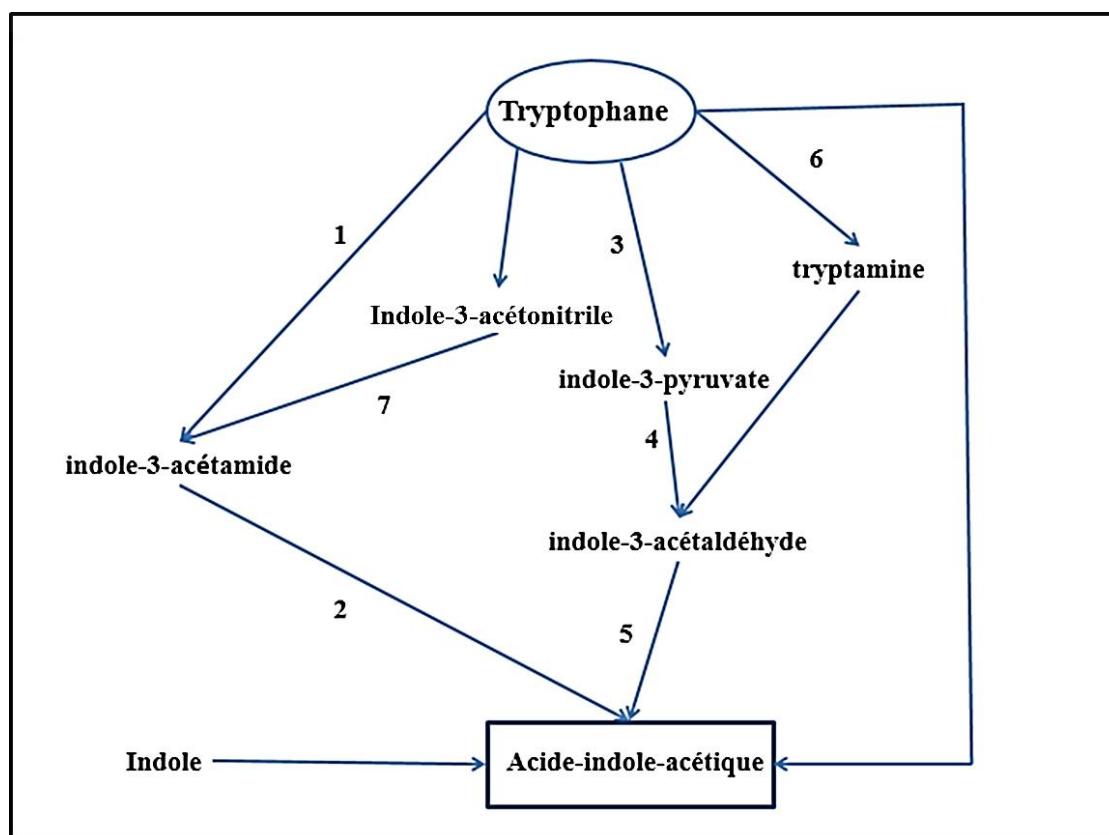
La voie de la tryptamine : le tryptophane est décarboxylé en tryptamine. Cette dernière est oxydée en indole-3-acétaldéhyde, qui est ensuite transformé en AIA.

La voie de l'oxydase à chaîne latérale : le tryptophane est directement converti en AIA sans intermédiaire connu.

La voie indole-3-acétonitrile (IAN) : l'IAN est d'abord transformé en IAM par une nitrile hydratase, puis converti en AIA par une amidase.

La voie indépendante du tryptophane : cette voie utilise l'indole ou l'indole-3-glycérolphosphate comme précurseurs et fonctionne sans apport de tryptophane.

La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA) chez les bactéries est influencée par une variété de facteurs environnementaux, nutritionnels et régulatoires. Parmi les facteurs environnementaux, on retrouve des conditions de stress telles qu'un pH acide, un stress osmotique, ainsi qu'une carence en sources de carbone. La présence de surfaces végétales ou l'exposition à certains composés d'origine végétale, tels que les flavonoïdes produits par les plantes (notamment chez *Rhizobium spp.*) ou les extraits de feuilles de *Citrus sinensis* (chez *Xanthomonas axonopodis*), jouent également un rôle significatif dans l'induction de cette voie métabolique.



**Figure 06 :** Voies de biosynthèse de l'AIA à partir de son précurseur.  
 1 tryptophane-2-monoxygénase , 2 amidase, 3 aminotransférase, 4 indole-3-pyruvate décarboxylase, 5 indole-3-acétaldéhyde oxydase, 6 tryptophane décarboxylase, 7 nitrile hydratase.

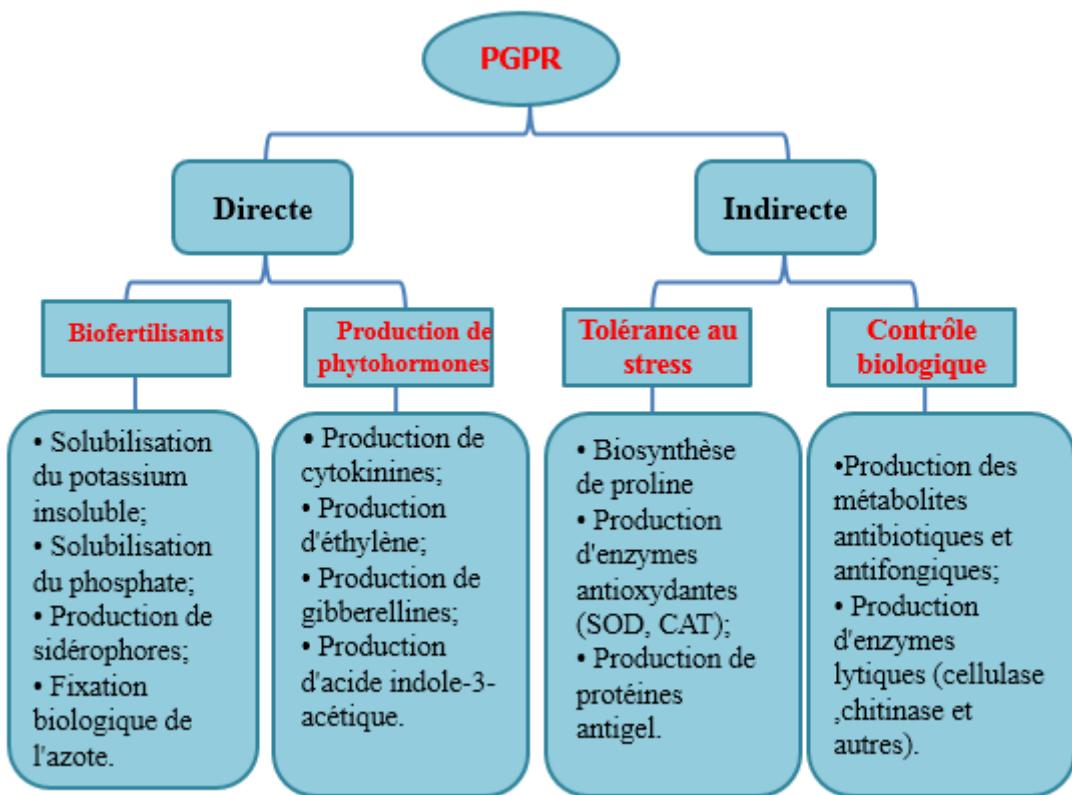
Sur le plan nutritionnel, le tryptophane, précurseur majeur de l'AIA, peut être fourni par les racines des plantes, les micro-organismes en décomposition ou les exsudats racinaires.

La régulation de cette biosynthèse repose sur des mécanismes complexes de rétrocontrôle. Chez *Azospirillum brasilense*, l'AIA agit comme inducteur de sa propre production via une rétroaction positive, tandis que des molécules comme l'anthranilate exercent une inhibition. Par ailleurs, des facteurs physiologiques tels que la densité cellulaire et l'entrée en phase stationnaire influencent l'expression du gène \*ipdC\*, essentiel à la synthèse de l'AIA, favorisant une production accrue à mesure que la culture atteint cette phase de croissance (Spaepen *et al.*, 2007).

### 2.2.5 Bio-control

Le biocontrol désigne l'utilisation de micro-organismes, tels que les rhizobactéries, pour prévenir ou contrôler les maladies des plantes causées par des pathogènes fongiques ou bactériens. Cette méthode de lutte biologique repose sur plusieurs mécanismes complémentaires qui agissent directement ou indirectement sur les agents pathogènes. Parmi lesquels on retrouve la production d'antibiotiques, la production d'enzymes lytiques telles que la chitinase, l' $\alpha$ -1,3-glucanase, la protéase et la lipase, qui lysent les parois cellulaires fongiques et bactériennes pathogènes (Narayanasamy, 2008 ; El-Saadony *et al.*, 2022).

L'antibiose constitue un mécanisme clé du biocontrôle utilisé par les PGPR pour inhiber la croissance des phytopathogènes. Elle repose sur la production de composés antimicrobiens tels que les antibiotiques, les toxines, les enzymes extracellulaires et les biosurfactants. Les bactéries telles que *Pseudomonas fluorescens* produisent des métabolites secondaires comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), la phénazine, le cyanure d'hydrogène ou encore la pyoluteorine, qui suppriment efficacement les agents pathogènes, y compris les nématodes phytoparasites (Zuber *et al.*, 2003 ; Subedi *et al.*, 2020). D'autres genres bactériens tels que *Bacillus*, *Streptomyces* et *Stenotrophomonas* produisent également des molécules antifongiques comme la kanosamine, la zwittermicine A ou encore l'oligomycine A (Rabhi, 2019). L'efficacité de l'antibiose dépend fortement de l'état physiologique de la cellule bactérienne, influencé par les facteurs abiotiques, la disponibilité en nutriments, le stade de développement de la plante hôte et la nature des exsudats racinaires (Picard *et al.*, 2000).



**Figure 07 :** Mécanismes directs et indirects médiés par les PGPR avec des effets bénéfiques sur les plantes hôtes. SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase (El-Saadony *et al.*, 2022 modifier).

## **Matériel et Méthodes**

Notre étude a été menée au laboratoire de Génie Microbiologique et Application, situé au biopôle de Chaabat Erssas, à l'université Constantine 1 Frères Mentouri, sous la responsabilité du Dr. Oulmi.

### **3 1. Revivification des bactéries**

#### **1.1 Préparation du milieu de culture DSMZ 65**

Le milieu DSMZ 65 a été préparé selon la formule décrite en annexe. Il contient du glucose comme source de carbone et d'énergie essentiel à la croissance bactérienne, ainsi que de l'extrait de levure et l'extrait de malt qui fournissent des nutriments essentiels comme sources d'azote et d'acides aminés. Le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) a été ajouté à la fois comme source de calcium et comme tampon pour stabiliser le pH du milieu, tandis que l'agar est utilisé comme agent solidifiant. Afin de recréer les conditions de l'environnement d'origine de la souche, 30 g/L de sel ont été ajoutés au milieu. Ce dernier joue un double rôle : il simule les conditions hypersalines de la sebkha, régulant ainsi l'osmolarité de la souche, dont son origine, et agit comme inhibiteur de croissance des micro-organismes indésirables. Le pH du milieu a été initialement ajusté à 7,4 afin de compenser la diminution de 0,2 unité observée après la stérilisation, cette baisse du pH est un phénomène courant, lié aux modifications des équilibres ioniques et à la dégradation thermique de certains composants du milieu. La stérilisation a été réalisée à 121 °C pendant 20 minutes.

#### **1.2 Préparation de la biomasse cellulaire**

Dans cette étude, nous avons utilisé une souche bactérienne issue de la collection du laboratoire, conservée à -18 °C. Elle a été cultivée sur le milieu DSMZ 65 avec un ensemencement réalisé en surface par stries pour s'assurer de la pureté des cultures. Les cultures ont ensuite été incubées à 30 °C jusqu'à l'apparition des colonies. Par la suite, nous avons réalisé plusieurs repiquages sur le même milieu de culture afin de préparer une bonne quantité de biomasse pour les éventuelles manipulations. L'incubation a été réalisée à 30 °C pendant une période de 7 jours.

### **4 2. Étude morphologique**

#### **2.1 Étude macroscopique**

L'analyse des caractères morphologiques et culturels de la souche bactérienne cultivée sur le milieu DSMZ 65 a été effectuée après 7, 14 et 21 jours d'incubation à 30 °C. Les

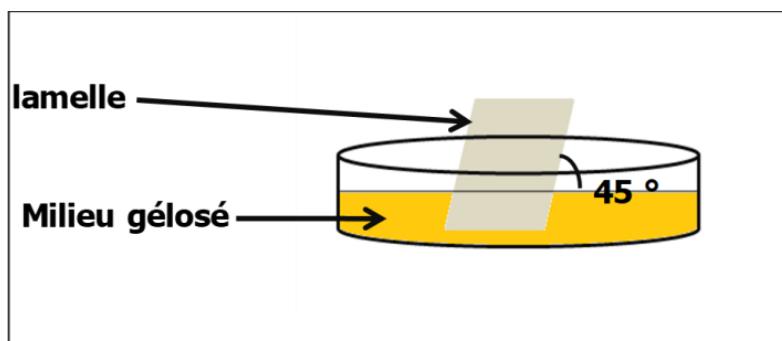
observations ont permis de caractériser la forme, la couleur, la taille des colonies, l’élévation, les bordures, l’opacité, la surface, la consistance et la couleur du revers des boîtes.

## 2.2 Étude microscopique

Pour l’étude microscopique, la technique des lamelles inclinées développée par Williams et Cross en 1971 a été utilisée afin de mettre en évidence l’organisation mycélienne et la sporulation.

Cette technique repose sur la stérilisation de quatre lamelles, effectuée par immersion dans de l’éthanol pendant une heure, suivie d’un passage rapide à la flamme du bec Bunsen. Les lamelles stériles sont ensuite déposées délicatement sur le milieu DSMZ 65, en formant un angle de 45° comme c'est illustrée dans la figure 08. L’ensemencement a été réalisé à l’intersection lamelle-gélose à l'aide d'une anse de platine stérile.

Une lamelle a été prélevée à chaque intervalle de 7, 14 et 21 jours d’incubation. Elles ont ensuite été placées sur une plaque chauffante réglée à 50 °C pendant 2 heures afin d'assurer la fixation des cellules bactériennes.



**Figure 08 :** Schéma illustrant la technique des lamelles.

Les préparations ont ensuite été colorées au bleu coton-lactophénole (voir Annexe) pendant 15 minutes. Les lamelles colorées ont été délicatement déposées sur des lames propres en vue d'une observation microscopique à l'objectif d'immersion ( $\times 100$ ). Cette technique permet d'examiner le mycélium de substrat, le mycélium aérien, ainsi que la formation des spores, fournissant des critères essentiels pour l'identification et la caractérisation morphologique de la souche.

## 3. Production de l'acide indole acétique

### 3.1 Préparation du milieu de fermentation

La capacité de la souche à produire l'acide indole acétique a été testé en milieu GBA (voir annexe). Nous avons préparé ce milieu qui contient plusieurs composants clés pour la

croissance bactérienne. La peptone et l'extrait de viande fournissent des sources d'azotes ainsi que des acides aminés essentiels. Le glycérol, en tant que source de carbone facilement assimilable, favorise la production métabolique d'énergie. L'amidon en complément du glycérol, constitue une autre source de carbone qui influence la dynamique de la fermentation. Le carbonate de calcium joue un rôle de tampon en régulant le pH du milieu et en neutralisant les acides organiques produits lors du métabolisme microbien. Le chlorure de sodium permet de maintenir l'équilibre osmotique des cellules bactériennes dans le milieu.

Nous avons également ajouté de la farine de datte, en tant que source naturelle de sucres, de polyphénols et de minéraux, qui favorise la croissance bactérienne et pourrait influencer la production d'AIA. Le tryptophane, élément clé du milieu, est le principal précurseur de l'AIA. Enfin, le sulfate de magnésium apporte du magnésium, un cofacteur essentiel dans de nombreuses réactions enzymatiques impliquées dans la production d'AIA à des quantités bien définies.

Le milieu a été réparti dans 21 flacons, à raison de 50 mL par flacon. La stérilisation a été effectuée à 121 °C pendant 20 minutes.

### **3.2 Préparation de l'inoculum**

Dans 130 mL d'eau physiologique stérile, nous avons raclé toute la surface des cultures bactériennes développées sur le milieu DSMZ 65 afin de préparer une suspension bactérienne bien concentrée.

Nous avons ensuite inoculé 5 mL de cette suspension dans chaque flacon, à l'exception du flacon témoin, puis nous les avons incubés à 30 °C dans un agitateur-incubateur Brunswick Scientific à 140 rpm pendant 7 jours.

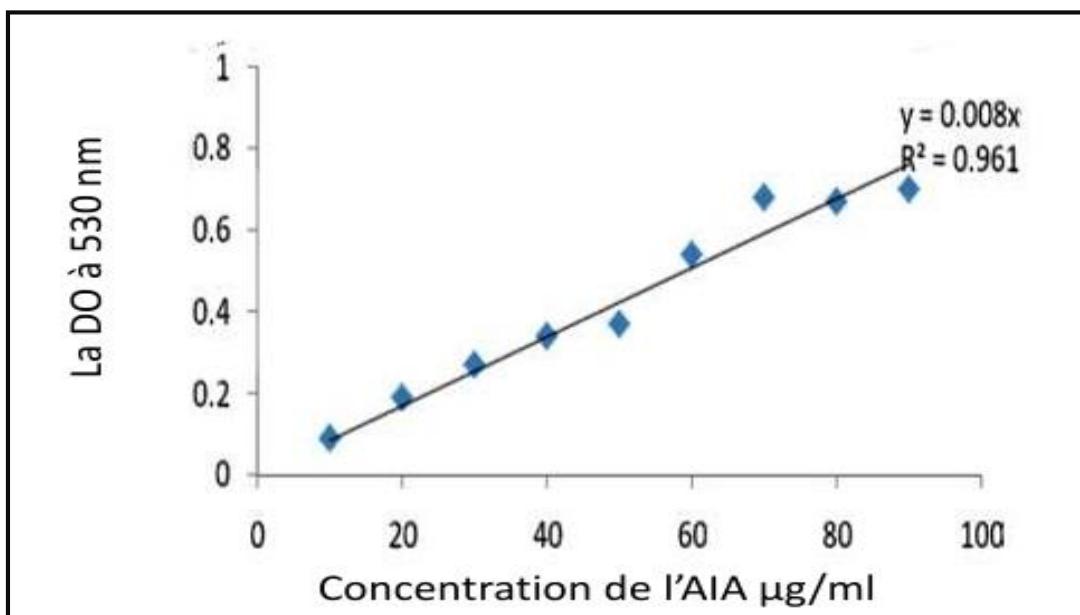
### **3.3 Dosage de l'AIA**

Pour doser l'AIA produit au cours de la fermentation, les cultures obtenues ont été transférées dans des tubes coniques stériles, puis centrifugées à 3 000 rpm pendant 15 minutes dans la centrifugeuse FRONTIER<sup>TM</sup>5706 afin de récupérer le surnageant et de l'utiliser pour le dosage de l'AIA.

La concentration en AIA a été déterminée par la méthode colorimétrique décrite par Bric *et al.*(1991), utilisant le réactif de Salkowski (voir Annexe). Pour cela, 2 mL de chaque culture ont été transférés dans des tubes propres, puis 4 mL de réactif de Salkowski ont été ajoutés.

Les tubes ont ensuite été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. L'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'AIA.

Les densités optiques ont été mesurées par le spectrophotomètre Analytik jena, à une longueur d'onde de 530 nm. Les quantités produites ont été calculées à l'aide de l'équation de la droite de régression obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'AIA établi par Monita et Rajesh publié en 2014 (Figure 09).



**Figure 09 :** Courbe d'étalonnage de l'AIA (Monita et Rajesh, 2014).

## 5 4. Effet des PGPR sur la croissance des graines

### 4.1 Matériel végétal

Les graines utilisées dans cette étude sont des semences référencées et certifiées, obtenues auprès de l'office Algérien interprofessionnel des céréales (O.A.I.C). Deux légumineuses de la famille *Fabaceae* ont été utilisées : la lentille (*Lens culinaris*) et le pois chiche (*Cicer arietinum*), ainsi que quatre variétés de céréales de la famille *Poaceae* : trois variétés de blé dur (*Triticum durum*) VITRO RA1, SIRTA RN1 et HD RA1 et une variété d'orge (*Hordeum vulgare*) SAYD P.T.O (Figure 10).

Pour chaque espèce végétale, 30 graines ont été sélectionnées en veillant à leur taille similaire, afin de garantir l'uniformité des conditions expérimentales.



**Figure 10 :** Les graines référencées utilisées dans l’expérimentation, fournies par l’O.A.I.C.

Afin d'éliminer toute contamination microbienne, une stérilisation de surface a été réalisée comme suit : une immersion des graines dans de l'éthanol à 70 % pendant 2 à 5 minutes suivi d'une deuxième immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 15 minutes. Enfin, trois rinçages à l'eau distillée stérile afin d'éliminer tout résidu de désinfectant.

## 4.2 Test de germination *in vitro*

### 4.2.1 Inoculation des graines

Les graines stérilisées ont été immergées pendant une heure dans la suspension bactérienne, tandis que les graines témoins ont été traitées avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, elles ont été placées dans des boîtes de Pétri contenant une double couche de papier filtre imbibée de 7 mL d'eau distillée stérile.

Après quelques jours de germination, les racines des plantules ont été soigneusement prélevées, puis immédiatement pesées à l'aide d'une balance électronique de précision. Cette première pesée correspond au poids frais des racines.

Les échantillons ont ensuite été placés dans une étuve réglée à 30 °C pendant une durée de 15 jours, jusqu'à déshydratation complète. À l'issue de cette période, les racines ont été de nouveau pesées afin de déterminer le poids sec.

#### 4.2.2 Culture sur milieu fahraeus

Le milieu Fahraeus, est un milieu semi solide (voir annexe) qui contient une solution stock contenant des oligoéléments essentiels : l'acide borique, le sulfate de manganèse tétrahydraté, le sulfate de zinc heptahydraté, le sulfate de cuivre pentahydraté et le molybdate de sodium dihydraté. Ces oligoéléments jouent un rôle important dans le métabolisme des plantes, notamment dans la synthèse des enzymes, la respiration cellulaire et la fixation de l'azote.

En plus de ces éléments, le milieu comporte des sels qui fournissent les éléments nutritifs de base comme le calcium, le magnésium, le phosphore et le fer. La composition exacte du milieu est détaillée dans l'annexe. Le pH a été ajusté à 6,8 et 12 g d'agar ont été ajoutés à un litre du milieu. La stérilisation a été réalisée à 121 °C pendant 20 minutes par autoclavage. Le milieu a ensuite été réparti de manière aseptique dans des tubes stériles dont le même volume a été versé dans chaque tube. Après solidification, des graines ont été placées en surface du milieu. Pour les tubes témoins, les graines stériles ont été trempées dans de l'eau distillée stérile. Pour les autres tubes, les graines stériles ont été trempées dans la suspension bactérienne pendant 1 heure.

Par la suite, tous les tubes ont été incubés à 30 °C dans une étuve, afin de permettre la germination et le développement racinaire.

### 4.3 Test de culture *in vivo*

Une expérience en pots a été mise en place dans le but d'évaluer l'effet des bactéries sur la croissance des plantules. Nous avons sélectionné trois types de graines, à savoir les lentilles (*Lens culinaris*), les pois chiches (*Cicer arietinum*) et le blé de la variété Vitro RA1. Pour chaque type, nous avons semé trois graines dans chaque pot afin d'assurer une comparaison rigoureuse de leur croissance dans les conditions expérimentales.

L'expérimentation a comporté plusieurs traitements : deux pots ont été semés avec des graines trempées dans de l'eau distillée stérile, dont l'un a été arrosé avec du jus de fermentation bactérienne et l'autre avec de l'eau de pluie ; deux autres pots ont été semés avec des graines inoculées avec la suspension bactérienne, le premier arrosé avec le jus de fermentation, le second avec de l'eau de pluie. Un cinquième pot témoin négatif a été semé avec des graines non traitées et arrosé avec le milieu GBA, afin d'évaluer l'effet de ses composants. Nous avons initialement arrosé avec 250 mL, puis poursuivi avec un arrosage de 80 mL tous les trois jours.

Un suivi régulier a été effectué afin d'évaluer l'effet des bactéries sur le développement des plantules.

#### **4.3.1 Analyse morphologique des plantules**

Après 26 jours, la longueur des parties aériennes et racinaires ainsi que le développement des ramifications racinaires sont mesurées afin d'évaluer l'effet de la souche sur les caractères morphologiques des plantes.

#### **4.3.2 Dosage de la chlorophylle**

Le dosage de la chlorophylle a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique décrite par Arnon (1949), basée sur l'extraction des pigments photosynthétiques dans l'acétone à 80 %. Pour cela, 0,25 g de feuilles fraîches ont été prélevés et mis dans des tubes en présence de 5 mL d'acétone à 80 % et conservés à -10 °C pendant une nuit. L'extrait obtenu a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance des surnageants a été mesurée à deux longueurs d'onde spécifiques 645 nm et 663 nm.

Les concentrations de la chlorophylle a, la chlorophylle b et la chlorophylle totale ont été calculées selon les équations décrite par KIAS *et al.* (2017).

## **Résultats et Discussion**

## 1. Étude morphologique

### 1.1. Étude macroscopique

L'analyse macroscopique a été effectuée à des intervalles réguliers, le 7<sup>ème</sup>, le 15<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour d'incubation à une température de 30 °C sur le milieu de culture DSMZ65. Les observations ont permis de documenter l'évolution des caractéristiques visibles présentées dans le tableau 1 ci-dessous.

**Tableau 01 :** Caractères culturaux de la souche sur le milieu DSMZ65.

| Durée                  | Croissance | Couleur du mycélium de substrat | Couleur du mycélium aérien | Couleur de la masse sporale |
|------------------------|------------|---------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 7 <sup>ème</sup> jour  | +/-        | Beige                           | Blanc                      | Blanche                     |
| 15 <sup>ème</sup> jour | +          | Beige                           | Beige                      | Blanc crème                 |
| 21 <sup>ème</sup> jour | ++         | Marron                          | Beige                      | Blanc crème                 |

(+/-) croissance moyenne; (+) bonne croissance ; (++) très bonne croissance.

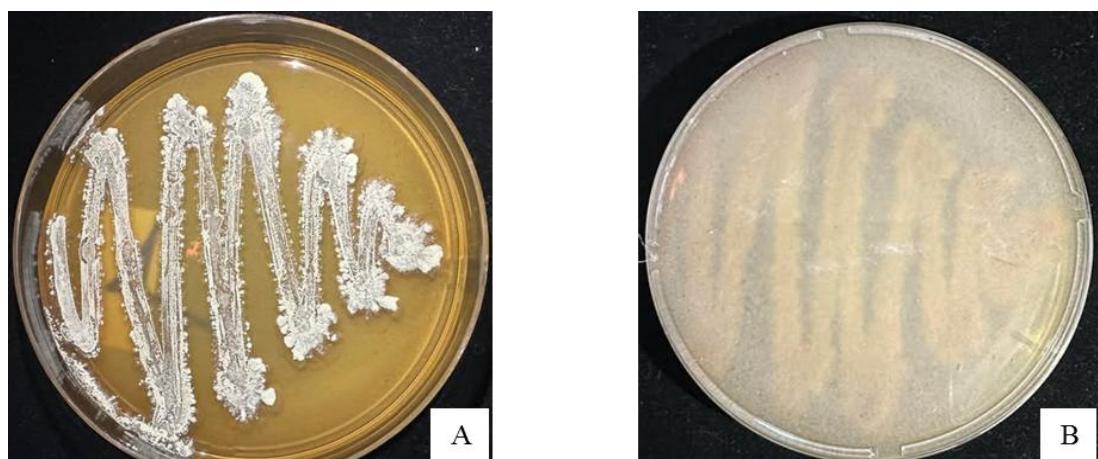
Après 7 jours d'incubation, une croissance mycélienne modérée a été observée. Les colonies présentent une forme circulaire avec un contour régulier, mesurant entre un à deux millimètres de diamètre. Elles sont caractérisées par une consistance pâteuse et sèche, avec une surface centrale de couleur beige, légèrement bombée par rapport au milieu, entourée d'une zone lisse de couleur blanche. Ces colonies sont incrustées dans la gélose, soutenues par un mycélium de substrat de couleur beige et un mycélium aérien blanc. De plus, la souche produit une quantité modérée de masse sporale de couleur blanche (Figure 11).

Après 15 jours, la croissance de la souche s'est accélérée, se caractérisant par une croissance rapide et intense du mycélium et une augmentation significative de la masse sporale de couleur blanc crème (Figure 12).

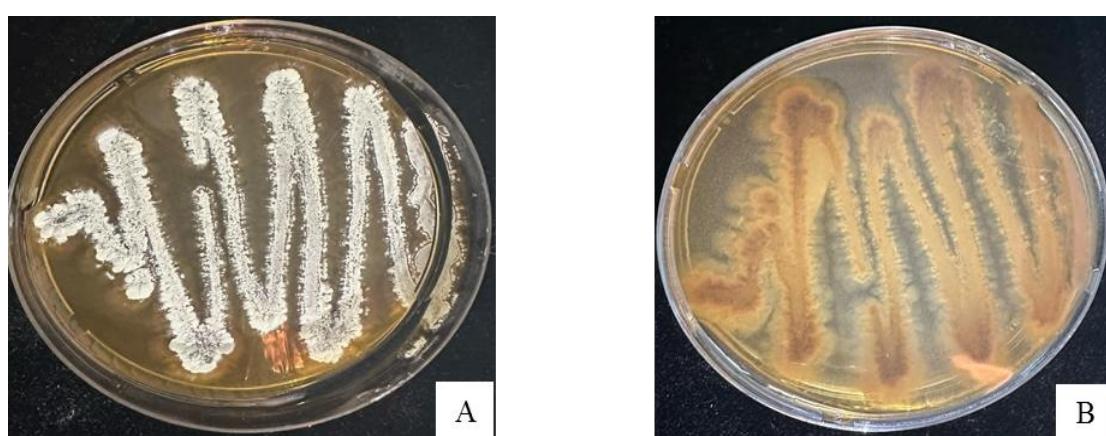
Après 21 jours, le mycélium de substrat devient plus dense, avec un changement de couleur vers le marron, indiquant un stade de maturation avancée (Figure 13).



**Figure 11 :** Culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 7 jours d'incubation à 30 °C.  
A : mycélium aérien ; B : mycélium de substrat.



**Figure 12 :** Culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 15 jours d'incubation à 30 °C.  
A : mycélium aérien ; B : mycélium de substrat.

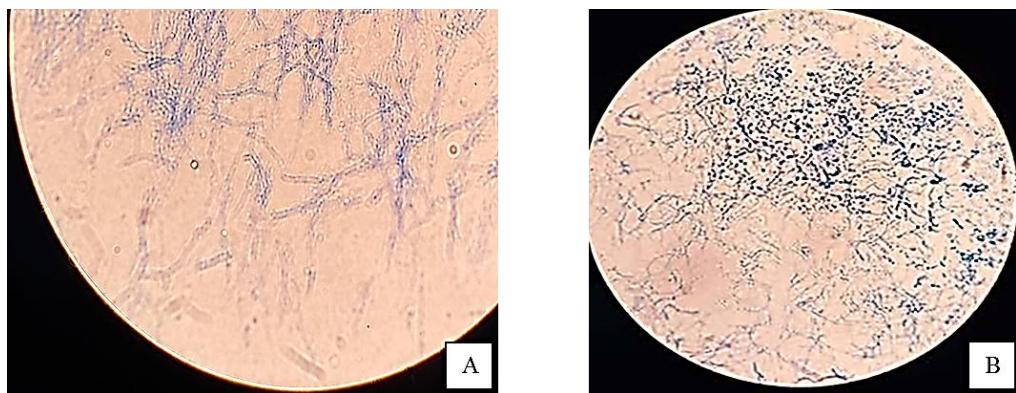


**Figure 13 :** culture de la souche bactérienne sur le milieu DSMZ65 après 21 jours d'incubation à 30 °C.  
A : mycélium aérien ; B : mycélium de substrat.

## 1.2. Étude microscopique

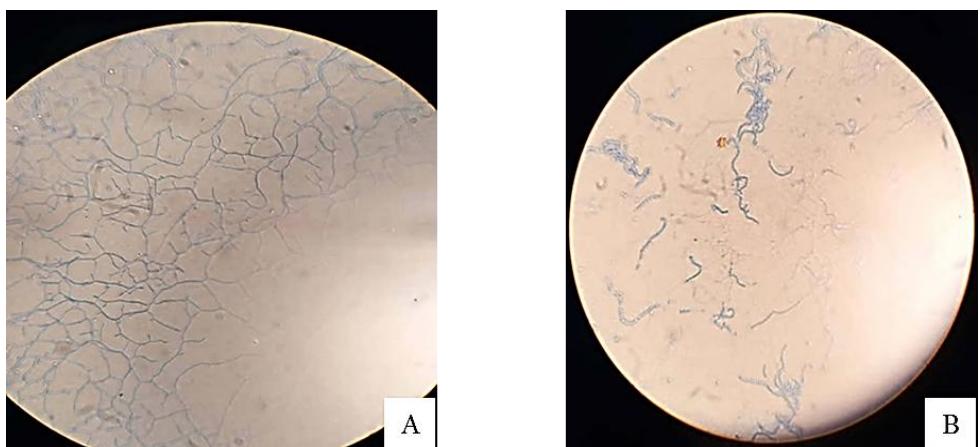
L'étude microscopique a été faite par observation au microscope optique à (Gx100) par la technique des lamelles.

Après 7 jours, le mycélium de substrat apparaît comme un enchevêtrement de filaments fins et ramifiés, avec l'émergence d'un mycélium aérien abondant et la formation de structures sporales à ce stade de développement (Figure 14).



**Figure 14 :** Observation microscopique du (Gx100) de la souche après 7 jours d'incubation.  
A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien.

Après 15 jours, d'incubation nous avons remarqué la croissance d'un mycélium aérien fin et d'un mycélium de substrat épais. Ils sont caractérisés par de longs filaments, ramifiés et enchevêtrés. Ces filaments portent des spores en forme ovoïde, organisées en chaînettes et parfois isolées (Figure 15).



**Figure 15 :** Observation microscopique (Gx100) de la souche après 15 jours d'incubation.  
A : mycélium de substrat ; B : mycélium aérien

Après 21 jours d'incubation, le mycélium aérien n'est plus observable, suggérant une dégradation progressive des structures hyphales en lien avec la phase terminale du cycle de vie. La présence de spores ovoïdes, isolées ou organisées en chaînes, indique une sporulation complète et achevée (Figure 16).



**Figure 16 :** Observation microscopique des spores (Gx100) de la souche après 21 jours d'incubation.

## 6 2. Production de l'AIA

Après 7 jours de fermentation dans le milieu GBA modifié, nous avons remarqué une croissance bactérienne importante qui se traduit par la formation de troubles homogènes et de quelques agrégats de filaments.

La production de l'AIA a été révélée par l'ajout du réactif de Salkowski aux surnageants des milieux de fermentations, entraînant la formation d'anneaux rouges caractéristiques dans les tubes réactionnels, illustrés dans la figure suivante (Figure 17).



**Figure 17 :** Formation d'anneau rouge dans les tubes réactionnels après ajout du réactif de Salkowski aux surnageants de fermentation.

Après la mesure des densités optiques, l'équation de la courbe étalon de Monita et Rajesh, nous a permis de calculer les concentrations correspondantes de la phytohormone produite par la souche bactérienne. Les résultats des dosages, effectués sur les vingt répétitions ainsi que sur le témoin, sont illustrés à la figure 18. Ils montrent les concentrations obtenues après 30 min et après 24 heures de contact en obscurité avec le réactif de Salkowski.

**Figure 18 :** Histogramme représentant les concentrations d'AIA en µg/mL calculées dans les différentes répétitions.



Dosage après 30 min de contact en obscurité avec le réactif de Salkowski  
Dosage après 24 h de contact en obscurité avec le réactif de Salkowski

Ces résultats révèlent :

-D'une part, une production détectable d'AIA après 30 minutes de contact entre le réactif et le surnageant. Toutefois, une augmentation significative est observée après 24 heures d'incubation à l'obscurité.

Cette progression indique que la révélation colorimétrique par le réactif de Salkowski est dépendante du temps d'incubation des tubes réactionnels dans l'obscurité, et qu'une incubation prolongée permet une meilleure détection de l'AIA produit.

- D'autre part, les variations de concentrations d'AIA observées entre les différentes répétitions peuvent être attribuées à la composition hétérogène de la suspension bactérienne, qui peut contenir, en proportions variables, des spores et un nombre de cellules dans les fragments de mycélium.

Ces observations confirment la capacité de cette souche à synthétiser l'AIA de façon fiable, ce qui pourrait être valorisé dans des applications agricoles, notamment dans le cadre de la promotion de la croissance des plantes par des bactéries PGPR.

La concentration observée dans le témoin négatif peut être attribuée à la présence de tryptophane dans le milieu GBA. En effet, le réactif de Salkowski n'est pas totalement spécifique à l'AIA comme c'est mené dans l'étude de Gaspar *et al* en 1964 et peut également réagir directement avec le tryptophane ou certains de ses dérivés, conduisant à une coloration similaire.

### 3. Test de germination *in vitro*

#### 3.1 Évaluation de l'effet de l'inoculation bactérienne sur la germination et la croissance racinaire des graines

Les résultats montrent une germination partielle des graines, avec une différence notable entre les graines traitées avec la suspension bactérienne et les graines témoins (Tableau 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Tout au long de la germination, le nombre de graines germées est légèrement supérieur pour les graines témoins par rapport aux graines inoculées, la longueur des radicules reste nettement inférieure à celle des témoins tout au long de l'expérience.

Chez le pois chiche, les graines inoculées ont constamment présenté un plus grand nombre de germinations, mais leur croissance racinaire est restée inférieure à celle des témoins.

Pour le blé (VITRO RA1), l'inoculation a favorisé la germination.

**Tableau 02 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines des lentilles sur papier filtre.

**Tableau 03 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines des pois chiches sur papier filtre.

**Tableau 04 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété VITRO RA1 sur papier filtre.

**Tableau 05 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété SIRTA RN1 sur papier filtre.

Chez le blé (SIRTA RN1), les graines inoculées montrent un retard important de germination, et une croissance racinaire très inférieure à celle des témoins. Cela reflète une double inhibition : à la fois sur la germination et sur l'élongation racinaire.

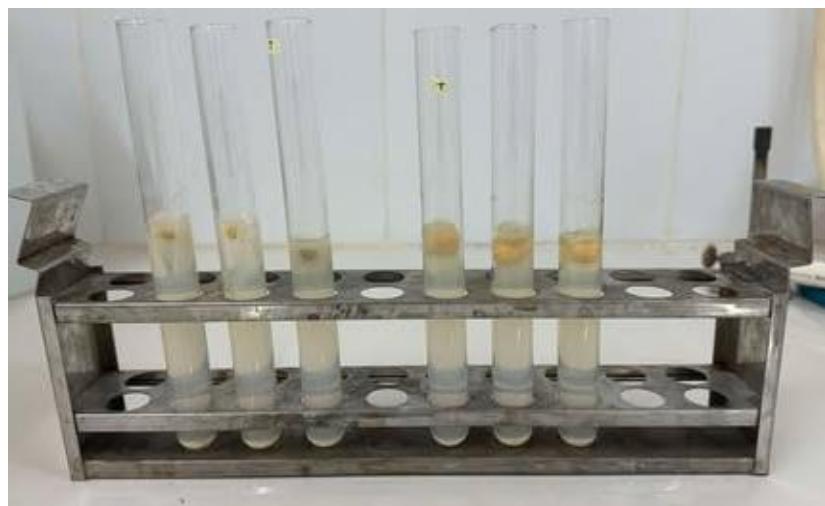
**Tableau 06 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété HD RA1 sur papier filtre.

**Tableau 07 :** Suivi de la germination et la croissance racinaire des graines de la variété SAYD P.T.O sur papier filtre.

### 3.2 Culture sur milieu fahraeus

Malgré une préparation soignée du milieu de culture Fahraeus et l'application d'une procédure de stérilisation des graines (éthanol 70 % suivi d'hypochlorite de sodium à 2 % puis rinçage à l'eau distillée), aucune germination n'a été observée durant toute la période d'incubation de 21 jours, aussi bien dans les tubes inoculés que dans les témoins. Une contamination fongique a été détectée dans l'ensemble des tubes. Cette contamination est probablement due au fait que les tubes ont été exposés à l'air libre durant les trois premiers jours et à température ambiante. Cependant, ce type de manipulation exige normalement des chambres de culture fermées sous atmosphère contrôlée pour éviter toute prolifération fongique. En effet, certaines moisissures, peuvent produire des métabolites secondaires (ex. : mycotoxines) inhibant directement la germination des graines. De plus, une concentration excessive en agar peut restreindre la diffusion de l'eau et de l'air dans le milieu, empêchant

une imbibition correcte, étape indispensable au déclenchement de la germination (Figure 19).



**Figure 19 :** Culture de 21 jours dans le milieu Fahraeus.  
Absence de germination pour tous les essais

#### 4. Test de culture *in vivo*

##### 4.1 Effet des différents traitements bactériens et arrosage sur la germination et la croissance des plantules

Afin de mieux apprécier les effets des différents traitements sur les plantules des cultures *in vivo* ont été réalisés. Les résultats des différentes manipulations sont regroupés dans le tableau 10.

L'expérience de culture *in vivo* visait à évaluer l'effet d'une suspension bactérienne sur seulement les trois types végétaux : lentilles, pois chiches et blé (Vitro RA1) Choisies selon nos tests préliminaires.

Le milieu GBA utilisé comme témoin a eu un effet défavorable sur la croissance des lentilles, suggérant que ses constituants sont inadaptés, voire potentiellement néfastes, au développement de cette espèce.

**Tableau 8 :** Effet des différents traitements bactériens et arrosage sur la germination et la croissance des plantules.

# **Conclusion**

Dans un contexte où l'agriculture durable devient une priorité face aux impacts négatifs des intrants chimiques notre travail s'est inscrit dans la valorisation des microorganismes bénéfiques du sol, en particulier les actinomycètes comme promoteurs de croissance des plantes (PGPR), pour leur potentiel en tant que biofertilisants et agents phytostimulants. L'ensemble des travaux menés au cours de cette étude visait à explorer le potentiel d'une souche actinomycète déjà isolée dans la production de l'acide indole-3-acétique (AIA), une phytohormone essentielle à la croissance des plantes, et à évaluer son effet sur la germination et le développement morphologique et la teneur en chlorophylle de différentes espèces végétales, notamment les lentilles, le pois chiche, l'orge et trois variétés de blé.

La culture sur le milieu DSMZ 65 nous a permis de déterminer les caractéristiques macroscopiques de la souche révélant notamment une bonne croissance accompagnée d'une masse sporale intense. L'observation microscopique par la technique de culture sur lamelle, nous a permis de déterminer les caractères microscopiques montrant un mycélium de substrat ramifié, un mycélium aérien ramifié et fragmenté, ainsi que des spores ovoïdes, disposées en chaînettes ou isolées.

De plus, les résultats indiquent que la souche est capable de synthétiser l'acide indole-acétique (AIA), déterminés par la méthode colorimétrique de Salkowski reposant sur une lecture de l'absorbance à 530 nm. Toutefois, la production révélée par le réactif de Salkowski reste influencée par des facteurs comme le temps de la réaction et la composition du milieu, notamment la présence de tryptophane.

Les essais de germination *in vitro* ont mis en évidence des effets contrastés selon l'espèce végétale. De plus l'essai de culture sur milieu Fahraeus n'a pas permis d'obtenir de germination, en raison d'une contamination fongique généralisée probablement liée aux conditions d'incubation non stériles. Ce résultat souligne l'importance d'un environnement strictement contrôlé pour ce type de manipulation.

Les essais de culture *in vivo* ont confirmé que l'arrosage à l'eau de pluie constitue la condition la plus favorable à la croissance des plantules.

À la lumière de ces résultats, il serait pertinent d'effectuer des répétitions de la même manipulation afin de confirmer et valider les résultats obtenus.

Il serait intéressant, dans la continuité de cette étude, de mener des essais en sol naturel afin d'évaluer l'efficacité de la souche PGPR dans des conditions réelles, plus proches du contexte agricole.

Il serait également nécessaire de poursuivre et d'approfondir cette étude afin d'identifier des souches présentant un effet positif sur les espèces végétales testées.

Il serait important d'encourager les agriculteurs à remplacer les pratiques actuelles, telles que l'utilisation d'engrais chimiques, par des méthodes issues de l'agriculture biologique, qui sont à la fois moins coûteuses, plus respectueuses de l'environnement et bénéfiques pour la productivité des cultures.

# **Références Bibliographiques**

**A**

- Alori E.T., Glick B.R. and Babalola O.O. (2017) Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front Microbiology*, 8, p : 971.
- Amir H. et Ducousoo M. (2010) Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques. dans : Huillier L., Jaffré T., et Wulff A. Mines et environnement en Nouvelle Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration. Nouvelle Calédonie : Institut Agronomique Néo-Calédonien , p : 129-145.
- Anand K., Kumari B. and Mallick M.A. (2016) Phosphate solubilizing microbes: An effective and alternative approach as bio-fertilizers. *International Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 8(2), p : 37-40.
- Andrén O. and Balandreau J. (1999) Biodiversity and soil functioning - From black box to can of worms?. *Écologie appliquée des sols*, 13(2), p : 105-108.
- Antoun H. and Prevost D. (2006) Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui Z. A. PGPR : biocontrol and biofertilization. The Netherlands: Springer. p : 1-38.
- Arnon D. (1949) copper enzymes in isolated chloroplasts.polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *plant physiology*, 24(1), p : 1-15.

**B**

- Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S. and Vivanco J.M. (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *The Annual Review of Plant Biology*, 57, p: 233-266.
- Belyagoubi L. (2014) Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat : Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Tlemcen : Université Aboubakr Belkaïd. p : 209.
- Bhatla S.C. and Lal M.A. (2023) Auxins. in: Bhatla S.C. and Lal M.A. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore. p :399-420.
- Bioteau T., Bordenave P., Laurent F., et Ruelland D. (2002) Évaluation des risques de pollution diffuse par l'azote d'origine agricole à l'échelle de bassins versants : intérêts d'une approche par modélisation avec SWAT®. *Sciences Eaux & Territoires*, (32), p : 3-12.
- **Blanchart E., Peigné J. et Vian J.F.** Les organismes du sol [en ligne]. (page consultée le 29/03/2025).

[https://www.supagro.fr/ress-pepites/OrganismesduSol/co/4\\_1d\\_OSTaille.html](https://www.supagro.fr/ress-pepites/OrganismesduSol/co/4_1d_OSTaille.html)

- Bloemberg G. and Lugtenberg B.J.J. (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(4), p : 343-350.
- Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudmeh A. et Boulahrouf A. (2005) Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain M'lila. *Sciences et Technologie*, (23), p : 5-10.

**C**

- Calvo P., Nelson L. and Klopper J. W. (2014) Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383, p : 3-41.
- Chudiwal A. and Nalawade A. (2024) Production of indole acetic acid from soil bacteria : A alternative approach on plant growth. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. [en ligne], 11(5) (page consultée le 16/11/2024). [https://www.researchgate.net/publication/382498377\\_Production\\_of\\_Indole\\_Acetic\\_Acid\\_from\\_soil\\_bacteria\\_A\\_alternative\\_approach\\_on\\_plant\\_growth](https://www.researchgate.net/publication/382498377_Production_of_Indole_Acetic_Acid_from_soil_bacteria_A_alternative_approach_on_plant_growth)
- Claude A. et Blaise L. (2003) Bio raisonnée OGM : quelle agriculture dans notre assiette?. France : Terre vivante. p: 19.

**D**

- Damam M., Kaloori K., Gaddam B. and Kausar R. (2016) Plant growth promoting substances (phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 37(1), p : 130-136.
- Diallo N.H. (2011) Effet de l'apport des matières organiques sur les fonctions microbienne d'un sol cultivé. Thèse de doctorat : biotechnologies microbiennes et végétales et amélioration des plantes. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, p : 167.
- Djaballah C. (2010) Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'lila. Mémoire de Magister : écologie microbienne. Université Mentouri Constantine, p : 73.
- Djigal D. (2003) Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéritivores: effets sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse de doctorat : biologie végétale. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, p : 183.
- Dobbelaere S., Croonenborghs A., Thys A., Vande Broek A. and Vanderleyden J. (1999) Phytostimulatory effect of Azospirillum brasiliense wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil*, 212 , p : 153-162.

**e**

- El-Tarably K. A., Nassar A. H., Hardy G.E.S.J. and Sivasithamparam K. (2009) Plant growth promotion and biological control of Pythium aphanidermatum, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), p : 13-26.
- El-Saadony M.T., Saad A.M., Soliman S.M., Salem H.M., Ahmed A.I., Mahmood M., El-Tahan A.M., Ebrahim A.A.M., Abd El-Mageed T.A., Negm Sh.H., Selim S., Babalghith, A.O., Elrys A.S., El-Tarably Kh.A. and AbuQamar, S.F. (2022) Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases : Mechanisms, challenges and future perspectives. *Frontiers in Plant Science* [en ligne], 13, (page consultée le 04/04/2025).<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.923880>
- Etesami H. et Glick B.R. (2024) Bacterial indole-3-acetic acid : A key regulator for plant growth, plant-microbe interactions, and agricultural adaptive resilience. *Microbiological Research* [en ligne], 281, (page consultée le 16/11/2024). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38228017/>

**f**

- Figueiredo M.V.B., Seldin L., De Araujo F.F. and Mariano R.L.R. (2008) Plant growth promoting rhizobacteria : fundamentals and applications. Plant microbe interactions Springer. p : 21-43.
- Figueiredo M.V.B., Seldin L., de Araújo F.F. and Mariano R.L.R. (2010) Plant growth promoting rhizobacteria : Fundamentals and applications. in : Maheshwari D.K. Plant growth and health promoting bacteria. Berlin : Springer . p : 21-43. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_2)
- Fons F., Morel S. et Rapior S. (2018) L'importance des champignons pour l'Homme : intérêts, dangers et perspectives. *Annales de la société d'horticulture et d'histoire naturelle de l'hérault*, 157, p : 31-51.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Introduction à l'agriculture biologique [en ligne]. (page consultée le 22/03/2025). <https://www.fao.org/family-farming/detail/fr/c/1617571/>.

**g**

- Gaspar T., Bastin M. et Leyh C. (1964) Composés phénoliques, acide  $\beta$ -indolacétique et activité auxines-oxydase. in: Bulletin de la Classe des sciences, p : 799-815.

- **Giri B., Kapoor R., Lata A. and Mukerji K.G.** (2003) Preinoculation with arbuscular mycorrhizae helps *Acacia auriculiformis* in a degraded Indian wasteland soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35(1), p : 193–204.
- **Goodfellow M. and Williams S.T.** (1983) Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37, p : 189-216.
- **Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Sree Vidya, M. and Rathore, A.** (2013) Plant growth-promoting activities of *Streptomyces* spp. in sorghum and rice. *Springer Plus*, 2 , p : 574-581.
- **Goudaa S., Kerryb R.G., Dasc G., Paramithiotis S., Shine H.S. and Patra K. J.** (2018) Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*, 206, p : 131-140.

**H**

- **Harir M.** (2018) Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algéries. Thèse de Doctorat : Intérêt des microorganismes en Agriculture et en Agroalimentaire. Oran : Université d'Oran 1 Ahmed Ben bella.
- **Hopkins W.G.** (2003) Le rôle des hormones dans le développement d'une plante. dans : Rambour S. Physiologie végétale. Belgique : Boeck, p : 311-313.
- **Hernández-Mendoza J.L.** (2022) The Indole acetic acid in bacteria, fungi and plants. *Journal of Plant Science and Phytopathology* [en ligne], 6, (page consultée le 15/11/2024).  
<https://www.plantsciencejournal.com/articles/jpsp-aid1091.php>
- **Henry G., Thonart P., Ongena M.** (2012) PAMPs, MAMPs, DAMPs and others : an update on the diversity of plant immunity elicitors. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16, p : 257–268.
- **Hedde M.** (2018) Indicateurs basés sur la faune des sols : des outils pour l'agriculture innovante ?. *Innovations Agronomiques*, 69, p : 15-26.

**J**

- **Jog R., Pandya M., Nareshkumar G. and Rajkumar S.** (2014) Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology*, 160( 4), p : 778-788.

- Jones D.L. (1998) Organic acids in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 205(1), p: 25-44.

**K**

- Kamal R., Gusain Y.S., Kumar V. (2014) Interaction and symbiosis of fungi, Actinomycetes and plant growth promoting rhizobacteria with plants : strategies for the improvement of plants health and defense system. *International Journal Current Microbiology and applied sciences*, 3, p : 564-585.
- Kaur H., Kaur J. and Gera R. (2016) Plant growth promoting rhizobacteria: A boon to agriculture. *International Journal of Cell Science and Biotechnology*, 5, p : 17-22.
- Khan M.S., Zaidi A., Ahemad M., Oves M. and Wani P.A. (2010) Plant growth promotion by phosphate solubilising fungi - Current perspective. *Archives of agronomy and soil science*, 56(1), p : 73-98.
- Kloepper J. and Schroth M. (1981) Development of a powder formulation of rhizobacteria for inoculation of potato seed species. *Phytopathology*, 71(1), p : 590-592.

**L**

- Loqman S. (2009) La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse de Doctorat : Biologie et Physiologie Végétale. Université de Reims Champagne-Ardenne. p : 216.
- Lugtenberg B. and Kamilova F. (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, p : 541-556.

**M**

- Mallem L., Loukil B. et Boulakoud M. (2015) Effets des engrains sur la santé des travailleurs dans le milieu professionnel. *Ecophysiologie et toxicologie*, 3(1), p : 20-25.
- Munees A. and Mulugeta K. (2013) Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria : Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26, p: 1-20.

**N**

- Narayanasamy P. (2008) Molecular biology in plant pathogenesis and disease management. dans : Narayanasamy P. Disease development. India : Springer, p : 7-195.
- Niranjan Raj S., Shetty H.S. and Reddy M.S. (2005) Plant growth-promoting rhizobacteria : potential green alternative for plant productivity. in : Siddiqui Z, A. PGPR : Biocontrol and Biofertilization. Netherlands. Springer, p : 197-216.

**P**

- Paray J.A., Jan S., Kamili A.N., Qadri R. A., Egamberdieva D., Ahmad P. (2016) Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35, p : 877-902.
- Picard C., Di Cello F., Ventura M., Fani R. and Guckert, A. (2000) Frequency and biodiversity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), p : 948-955.
- Procópio R. E. de L., da Silva I. R., Martins M. K., de Azevedo J. L., and de Araújo J. M. (2012) Antibiotics produced by Streptomyces. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(5), p : 466-471.
- Pujic P., et P. Normand. (2009) La symbiose racinaire entre la bactérie Frankia et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur*, 298, p : 26-29.

**R**

- Rabhi N.E.H. (2019) Effet phytobénéfique de *Pseudomonas knackmussii* MLR6 isolée d'une halophyte *Salsola tetrandra* sur l'amélioration de l'halotolérance d'*Arabidopsis thaliana* et du blé dur. Thèse de doctorat en microbiologie : Université Ferhat Abbas Sétif 1, p : 203.
- Richardson A. E. and Simpson R.J. (2011) Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*, 156(3), p : 989-996.

**S**

- Sáenz-Mata J., Palacio-Rodríguez R., Sánchez-Galván H. and Balagurusamy N. (2016) Plant growth-promoting rhizobacteria associated to halophytes : Potential applications in agriculture. in : Khan M,A., Boër B., Öztürk M., Clüsener-Godt M.,

- Gul B. and Breckle S.W. *Sabkha Ecosystems : The Americas*. Dordrecht: Springer, p : 327-337.
- Saharan B,S. and Nehra V. (2011) Plant growth promoting rhizobacteria : a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21, p:1-29.
  - Sall A., Touré A., Kane A. et Niang A. (2019) Contribution à l'étude de la vulnérabilité des terres de cultures de la région de Thiès (Sénégal) à l'aide de la télédétection et des systèmes d'information géographique (SIG). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 41(1), p:6731-6746.
  - Santos F., Melkani S., Oliveira-Paiva Ch., Bini D., Pavuluri K., Gatiboni L., Mahmud A., Torres M., McLamore E. and Bhadha J. H. (2024) Biofertilizer use in the United States : definition, regulation, and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), p : 511.
  - Smith S.E and Read D.J. (2008) Mycorrhizal symbiosis. London : Academic Press. p : 787. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123705266/mycorrhizal-symbiosis>
  - Spaepen S., Vanderleyden J. and Remans R. (2007) Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signalling. *Federation of European Microbiological Societies*, 31(4), p : 425-448.
  - Srivastava L.M. (2002) Auxins. in: Srivastava L.M. *Plant Growth and Development: Hormones and environment*. USA: Elsevier Science, p : 155-169.
  - Subedi P., Gattoni K., Liu W., Lawrence K.S. and Park S. (2020) Current utility of plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents towards plant-parasitic nematodes. *Plants*, 9(9), p : 1167. <https://doi.org/10.3390/plants9091167>

**V**

- Varma N., Harshal W., Rahul S. and Tammineni V.K. (2024) Advancing Sustainable Agriculture : A Comprehensive Review of Organic Farming Practices and Environmental Impact. *Journal of Experimental Agriculture International*, 46(7), p : 695-703.
- Vessey J. K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), p : 571-586.
- Vincent Q., Auclers A. et Leyval C. (2023) La biodiversité des sols [en ligne], Encyclopédie de l'Environnement, (page consultée le 29/03/2025). <https://www.encyclopedie-environnement.org/sol/biodiversite-sols/>

**W**

- **Weyens N., Van der Lelie D., Taghavi S., Newman L. and Vangronsveld J.** (2010) Exploiting plant–microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology*, 27(10), p : 591–598.
- **Willey J. M., Sherwood L.M., et Woolverton C.J.** (2013) Les Actinobactéries : des bactéries Gram-positives à haute teneur en G + C. dans : Willey J. M. Microbiologie de Prescott (5e éd.). Bruxelles : De Boeck Supérieur, p : 554.

**Z**

- **Zuber S., Carruthers F., Keel C., Mattart A., Blumer C., Pessi G., Gigot-Bonnefoy C., Schnider-Keel U., Heeb S., Reimann C. and Haas, D.** (2003) GacS sensor domains pertinent to the regulation of exoproduct formation and to the biocontrol potential of *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(7), p : 634-644.

## **Annexes**

## 7 Annexes

- **Milieu DSMZ 65**

|                   |             |
|-------------------|-------------|
| Glucose           | 4 g         |
| Extrait de levure | 4 g         |
| Extrait de Malt   | 10 g        |
| CaCO <sub>3</sub> | 2 g         |
| Agar              | 12 g        |
| Eau distillée     | QSP 1000 mL |
| pH = 7,2          |             |

- **Milieu GBA**

|                   |             |
|-------------------|-------------|
| Glycérol          | 20 g        |
| Amidon            | 20 g        |
| Peptone           | 10 g        |
| Extrait de viande | 5 g         |
| CaCO <sub>3</sub> | 3 g         |
| NaCl              | 10 g        |
| Eau distillée     | QSP 1000 mL |
| pH = 7,2          |             |

- **Eau physiologique**

|               |           |
|---------------|-----------|
| NaCl          | 0.9 g     |
| Eau distillée | QSP100 mL |

- **Milieu Fâhraeus**

|   |             |
|---|-------------|
| CaCl <sub>2</sub>                                   | 0.100 g     |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O                 | 0.120 g     |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 0.100 g     |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2 H <sub>2</sub> O | 0.150 g     |
| Citrate ferrique                                    | 0.005 g     |
| Solution stock des oligoéléments                    | 1.0 mL      |
| Agar  | 12 g        |
| Eau distillée                                       | QSP 1000 mL |
| pH = 6.8  |             |

- **Solution stock des oligoéléments : (g/L)**

|  |        |
|--|--------|
| H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>                     | 2.86 g |
| MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O                | 2.03 g |
| ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O                | 0.22 g |
| CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O                | 0.08 g |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O | 0.14 g |

- **Réactif de Salkowski**

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| FeCl <sub>3</sub> (0.5 M) | 3 mL  |
| Acide perchlorique        | 75 mL |
| Eau distillée             | 75 mL |

**N.B :** le réactif de Salkowski est conservé dans un flacon fumé et à température ambiante, à l'abri de la lumière, afin de préserver sa stabilité et son efficacité.

- **Solution FeCl<sub>3</sub> (0.5 M)**

|                                     |          |
|-------------------------------------|----------|
| FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O | 1.35 g   |
| Eau distillée                       | QSP10 mL |

- **Bleu coton au lactophénol (BCL)**

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| Bleu de méthyle (=bleu coton C4B) | 0.1 g |
| Eau bidistillés                   | 20 ml |
| Acide lactique (S.G. 1.21)        | 20 g  |
| Glycérol                          | 40 g  |
| Phénol                            | 20g   |

Préparation: dissoudre 0.1g de bleu de méthyle dans 20g d'acide lactique officinal ajouter les 20 mL d'eau, les 40g de glycérol puis les 20 g de phénol (produit très toxique à manipuler avec précaution sous la hotte).

|   |   |                                     |
|---|---|-------------------------------------|
| <b>Année universitaire : 2024-2025</b>  | <b>Présenté par :</b><br>Bellili Bouchra<br>Salmi khadidja<br>Zaabat Maya |                                     |
| <b>Effet phytostimulant d'une souche actinobactérienne sur quelques espèces des <i>Fabaceae</i> et <i>Poaceae</i></b>   |   |                                     |
| <b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie appliquée</b>   |   |                                     |
| <p>Face aux impacts négatifs de l'agriculture conventionnelle sur les sols, l'environnement et l'alimentation, les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) apparaissent comme une solution écologique pour améliorer la productivité végétale. Dans ce travail, nous avons étudié une souche actinomycétaire, isolée d'un sol salin, afin d'évaluer son potentiel PGPR à travers la production d'acide indole-3-acétique (AIA) et son effet sur la croissance de six espèces végétales : la lentille (<i>Lens culinaris</i>), le pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>), trois variétés de blé (<i>Triticum durum</i>) HD RA1, SIRTA RN1 et VITRO RA1 et une variété d'orge (<i>Hordeum vulgare</i>) SAYD P.T.O . La souche a été caractérisée morphologiquement en milieu DSMZ 65, montrant un développement progressif de structures mycéliennes et sporales. La capacité de production d'AIA a été confirmée par la méthode colorimétrique de Salkowski, atteignant une concentration maximale de 26,87 µg/mL. Son effet phytostimulant a été évalué à travers des tests de germination <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> en analysant la croissance racinaire, le taux de germination, la biomasse et la teneur en chlorophylle. Les résultats obtenus indiquent une amélioration significative de la croissance des plantules, en particulier chez le pois chiche et le blé VITRO RA1. L'arrosage à l'eau de pluie a favorisé la croissance, contrairement au jus de fermentation ou au milieu GBA. Enfin, une augmentation modérée de la chlorophylle a été observée chez VITRO RA1 inoculé. Ces résultats suggèrent que la souche actinomycétaire possède un potentiel phytostimulant partiel, avec des effets positifs spécifiques à certaines espèces, ce qui en fait une candidate prometteuse pour des applications biofertilisantes ciblées dans le cadre de systèmes agricoles adaptés.</p> |   |                                     |
| <b>Mots-clés</b> Agriculture biologique – PGPR – Actinomycètes – Acide indole-3-acétique (AIA).   |   |                                     |
| <b>Laboratoires de recherche :</b> laboratoire de Génie microbiologique et applications   |   |                                     |
| Faculté des sciences de la Nature et de la Vie U Constantine 1 Frères Mentouri  |   |                                     |
| Président du jury :   | CHABBI Rabah  | MAA U Constantine 1 Frères Mentouri |
| Encadrant :   | OULMI Lamia   | MCB U Constantine 1 Frères Mentouri |
| Examinateur(s) :  | Lifa Maroua   | MCB U Constantine 1 Frères Mentouri |