

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

Activité antimicrobienne des bactéries rhizosphériques
associées à la plante médicinale *Artemisia herba alba*

Présenté par LAABASSI Ismahene

SALDI Sabrina

Soutenu le 12 / 06 / 2024

Devant le Jury :

Présidente:	M^{me} TAMINE M.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrante:	M^{me} ZERROUG A.	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur:	M^{me} CHENOUF N. S.	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

{ وَنَاؤُتِيْمٌ مِّنَ الْعِلْمِ اِلَّا قَلِيْلًا }

سورالاسراء من الآية 85

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Nous aimerions exprimer nos plus sincères remerciements à notre encadrante, Mme. ZERROUG Amína, pour la qualité de son encadrement, ses conseils et ses remarques constructives qui ont contribué à nourrir notre réflexion.

Nos remerciements vont également aux membres du jury qui ont accepté de valoriser ce modeste travail : Mme. TAMINE Milouda, présidente de ce jury, trouve ici nos grands remerciements et sincères affections, ainsi que Mme. CHENOUF Nadia Safia, qui nous fait le grand plaisir d'examiner notre document ; soyez assurée de notre profond respect.

Nous remercions particulièrement Mr. SADRATI Nouari.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous les enseignants qui nous ont formés durant ces 5 années.

Enfin, toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

*Je dédie ce travail de fin d'études à l'âme pure de mes parents
À mon mari *Hamza* et mon frère *Hamza*, mes
Sœurs *Malika* et *Fouzia* qui m'ont encouragé
Et soutenu dans mes moments les plus difficiles.*

*À ma chère fille, ma princesse *Rodaina Ranim*
Tu es la source de mon bonheur et mon énergie tu es
simplement mon monde
Mes belles *Khadija*, *Zainab*, et *Djarir*, *Othmane* et *Ayoub**

*A mon encadrante *Dr. Zerroug Amina*, et *Dr.*
Sadrati Nouari Merci pour vos conseils, formations et vos
efforts*

*A mes collègues de spécialité
Tous ceux qui connaissent et aiment
Ma chérie binôme *Ismahene* avec qui j'ai eu le plaisir de
partager avec elle ce travail modeste
Une pensée toute particulière pour mes amies proches : *Hadjer*,
Kanza, *Lilya*, *Hadil*.*

Sabrina

الملخص

بعض البكتيريا والفطريات الموجودة في منطقة الجذور (الجذور النباتية) يمكن أن تؤثر على التحكم في مسببات الأمراض ونمو النباتات. في إطار هذه الدراسة التي أجريت على الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور لنبات الشبوح (*Artemisia herba alba*)، تم عزل 50 عينة ميكروبية (49 بكتيريا و 1 اكتينوبكتيريا) بهدف تقييم قدرتها على إنتاج مركبات حيوية نشطة مفيدة لصحة الإنسان والزراعة. تم فحص النشاط المضاد للفطريات لهذه العينات ضد ثلاث فطريات *Fusarium oxysporum*، *Ulocladium botrytis* و *Alternaria alternata* والتي عزلت من القمح والطماطم على التوالي. بينت النتائج أن 17 عينة أظهرت نشاط مثبط ضد الفطريات الممرضة للنبات لوحظ مع العينة B32 تثبيط قوي بنسبة 63.63% ضد *Alternaria alternata*. بعد ذلك، تم إختيار تسعة من العينات الأكثر نشاطاً لتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus*، مما أظهر نشاطاً ملحوظاً ضد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، حيث بلغ متوسط قطر التثبيط 62.50 مم و 56.00 مم على التوالي. مستخلصات العينة B32 التي تم الحصول عليها بعد التخمر وإستخلاصها بواسطة مذيبات مختلفة، أظهرت نشاطاً كبيراً ضد الفطريات من مستخلص n-hexane، الذي كان نشطاً ضد الفطريات الممرضة الثلاثة حيث بلغ قطر التثبيط 21.5 مم و 22 مم و 24 مم ضد *Ulocladium botrytis*، *Fusarium oxysporum* و *Alternaria alternata* على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، كشفت الإختبارات الإنزيمية أن العينة B32 أظهرت نشاطاً لتحليل السليلوز والبروتينات مع مؤشرات إنزيمية بلغت 2.13 و 1.67 على التوالي، ولكن لم يظهر أي نشاط لتحليل النشا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الجذرية، الطبقة الجذرية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط الإنزيمي، التنافسية.

Résumé

Certaines bactéries et champignons de la rhizosphère peuvent influencer le contrôle des agents pathogènes et la croissance des plantes. Dans le cadre de cette étude menée sur les microorganismes rhizosphériques de *Artemisia herba alba*, un total de 50 isolats microbiens (49 bactéries et 1 actinobactérie) a été isolés dans le but d'évaluer leur potentiel de production de composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine et l'agriculture. L'activité antifongiques de ces isolats a été criblé contre trois champignons phytopathogènes, *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata*, isolés respectivement du blé et de la tomate. Les résultats ont montré que 17 des isolats ont présenté une activité inhibitrice significative contre les champignons phytopathogènes, notamment une forte inhibition de 63,63% contre *Alternaria alternata*, observée avec l'isolat B32. Par la suite, neuf des isolats les plus actifs ont été sélectionnés pour évaluer leur activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*, démontrant une activité notable contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition moyennes respectives de 62,50 mm et 56,00 mm. Les extraits de l'isolat B32 obtenu après fermentation et l'extraction avec différents solvants a montré une activité antifongique prometteuse de l'extrait de n- hexane qui était actif contre les trois champignons phytopathogènes avec des zones d'inhibition de 21,5 mm, 22 mm et 24 mm observée contre *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*, respectivement. De plus, les tests enzymatiques ont révélé que l'isolat B32 présentait une activité cellulolytique et protéolytique avec des indices enzymatiques respectivement de 2.13 et 1.67 mais pas d'activité amylolytique.

Mots clés : Rhizosphère, PGPR, Antagonisme, activité antimicrobienne, activité enzymatique.

Abstract

Some bacteria and fungi in the rhizosphere can influence pathogen control and plant growth. In this study conducted on rhizospheric microorganisms of *Artemisia herba alba*, a total of 50 microbial isolates (49 bacteria and 1 actinobactérie) were isolated to evaluate their potential for producing bioactive compounds beneficial for human health and agriculture. The antifungal activity of these isolates was screened against three phytopathogenic fungi, *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis*, and *Alternaria alternata*, isolated respectively from wheat and tomato. Results showed that 17 isolates exhibited significant inhibitory activity against phytopathogenic fungi, notably a strong inhibition of 63.63% against *Alternaria alternata*, observed with isolate B32. Subsequently, nine of the most active isolates were selected to evaluate their antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, and *Staphylococcus aureus*, demonstrating notable activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with respective average inhibition zones of 62.50 mm and 56.00 mm. Extracts from isolate B32 obtained after fermentation and extraction with different solvents showed promising antifungal activity of the n-hexane extract, which was active against all three phytopathogenic fungi with inhibition zones of 21.5 mm, 22 mm, and 24 mm observed against *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum*, and *Alternaria alternata*, respectively. Furthermore, enzymatic tests revealed that isolate B32 exhibited cellulolytic and proteolytic activity with enzymatic indices of 2.13 and 1.67 respectively but no amylolytic activity.

Keywords: Rhizosphere, PGPR, Antagonism, antimicrobial activity, enzymatic activity.

Liste des tableaux

Tableau I	Les différentes souches microbiennes pathogènes utilisées.....	11
Tableau II	Indices enzymatiques obtenus par l'isolat B32.	31

Liste des figures

Figure 1	Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère.....	4
Figure 2	Présentation générale des deux modes d'action directs et indirects des PGPR	5
Figure 3	Photographie de la plante <i>Artemisia herba alba</i>	10
Figure 4	Site d'échantillonnage.....	10
Figure 5	Méthode d'isolement des bactéries rhizosphériques.....	12
Figure 6	Protocole d'isolement des champignons phytopathogènes à partir des tomates et des grains de blé	13
Figure 7	Présentation schématique de la confrontation directe entre les bactéries rhizosphériques et les champignons phytopathogènes.....	15
Figure 8	Quelques images des aspects morphologiques des colonies obtenues sur PCA.....	19
Figure 9	Morphologie de l'isolat fongique A.....	21
Figure10	Morphologie de l'isolat fongique B.....	21
Figure11	Morphologie de l'isolat fongique C.....	22
Figure12	Résultats du criblage préliminaire contre <i>Fusarium oxysporum</i> . Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.....	23
Figure13	Résultats du criblage préliminaire contre <i>Ulocladium botrytis</i> . Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.....	24
Figure14	Résultats du criblage préliminaire contre <i>Alternaria alternata</i>	24
Figure15	Photos montrant l'effet antagonisme de quelques isolats rhizosphériques contre les trois champignons phytopathogènes.....	25
Figure16	Résultats du criblage préliminaire contre les trois bactéries pathogènes.....	27
Figure17	Photos montrant l'effet antagonisme de quelques isolats rhizosphériques contre les trois bactéries pathogènes.....	28
Figure18	Activité antibactérienne des différents extraits de l'isolat B32 contre les microorganismes pathogènes.....	29
Figure19	Photos montrant l'activité antifongique de l'extrait de n-hexane de l'isolat B32.....	29
Figure20	Résultat de l'activité cellulolytique de l'isolat B32, après 5 jours d'incubation.....	31
Figure21	Résultat de l'activité protéolytique de l'isolat B32 après 5 jours d'incubation.....	32
Figure22	Résultat de l'activité amylolytique de l'isolat B32, après 5 jours d'incubation.....	32

Liste des abréviations

B.B.A. : Bordj Bou Arreridj

BN : Bouillon Nutritif

°C : Degré Celsius

CMC : Carboxyméthylcellulose

DMSO : Diméthylsulfoxyde

GN : Gélose Nutritive

HCN: Cyanure d'Hydrogène

ISP: International *Streptomyces* Project.

PCA: Plate Count Agar

PDA: Potato Dextrose Agar

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PH : Potentiel Hydrogène

SD : Standard Deviation

Sp. : Espèce

Spp. : Plusieurs espèces

UFC : Unité Formant Colonie

Table des matières

الملخص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur la rhizosphère 3

I.1.1. La rhizosphère 3

I.1.2. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes 4

I.1.3. Mode d'action des PGPR 5

I.1.3.1. Mécanismes directs 5

I.1.3.1.1. Fixation de l'azote 5

I.1.3.1.2. Solubilisation du phosphore insoluble 6

I.1.3.1.3. Production de sidérophore 6

I.1.3.1.4. Bio fertilisation 7

I.1.3.1.5. Production des phytohormones 7

I.1.3.2. Mécanismes indirects 8

I.1.3.2.1. Production d'antibiotiques 8

I.1.3.2.2. Production d'enzymes lytiques 8

I.1.3.2.3. Résistance systémique induite (ISR) 8

I.1.3.2.4. Compétition pour les nutriments 9

I.1.3.2.5. Production du cyanure d'hydrogène (HCN) 9

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal 10

II.2. Matériel microbien 11

II.3. Echantillonnage 11

II.4. Isolement des bactéries rhizosphériques à partir de sol 11

II.5. Purification et conservation des isolats bactéries rhizosphériques 12

II.6. Désinfection des surfaces et isolement des champignons phytopathogènes	12
II.7. Identification des champignons phytopathogènes	14
II.7.1. Étude macroscopique	14
II.7.2. Étude microscopique	14
II.8. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne	14
II.8.1. Dépistage de l'activité antifongique	15
II.8.2. Dépistage de l'activité antibactérienne	15
II.9. Fermentation et extraction des molécules bioactives	16
II.10. Activité antifongique des extraits de l'isolat d'actinomycète	17
II.11. Mise en évidence de l'activité enzymatique	17
III. Résultats et discussion	
III.1. Isolement, purification et conservation des isolats rhizosphériques	19
III.2. Isolement et identification des champignons phytopathogènes.....	20
III.3. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne.....	23
III.3.1. Dépistage préliminaire de l'activité antifongique	23
III.3.2. Dépistage préliminaire de l'activité antibactérienne	27
III.4. Activité antifongique des extraits de l'isolat d'actinomycète.....	28
III.5. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche B32	30
Conclusion et perspectives	34
Références bibliographiques.....	36

Introduction

Introduction

La production agricole mondiale a considérablement augmenté tant en termes quantitatifs que qualitatifs, ainsi qu'en diversification des produits, afin de répondre aux besoins alimentaires d'une population humaine en constante croissance (FAO, 2010). Cependant, cette croissance est entravée par les maladies des plantes, qui réduisent la production agricole mondiale de 12 à 14%, selon la FAO (1999). De plus, 70% de ces dommages sont causés par des agents fongiques, entraînant ainsi d'énormes pertes économiques. Les organismes phytopathogènes, tels que les bactéries, les champignons, les insectes, les nématodes, les virus et les protozoaires, constituent donc l'un des principaux défis en agriculture. En effet, les estimations montrent que 50% des cultures végétales sont perdues avant ou après la récolte (Choudhary et al., 2009), et les champignons phytopathogènes jouent un rôle prépondérant dans ces pertes, menaçant ainsi sérieusement la santé des plantes et la production agricole.

D'un autre côté, les agents pathogènes humains sont rapidement résistants aux antibiotiques, ce qui constitue une menace importante pour la santé. Les infections causées par des agents pathogènes résistants aux antibiotiques devraient atteindre plus de dix millions de cas d'ici 2050, ce qui entraînera une augmentation des frais de traitement et des hospitalisations plus longues (Amer et al., 2021).

Tous ces problèmes ont incité la communauté scientifique à rechercher des alternatives naturelles, l'une d'elle est l'utilisation des microorganismes et leurs molécules bioactives. Parmi ces microorganismes ceux établissant une symbiose bénéfique avec les plantes, telles que Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR). Ces bactéries sont réputées pour leurs effets stimulants sur la croissance des plantes qu'elles colonisent. Elles se situent dans la rhizosphère, l'interface entre la plante et le sol (Qureshi et al., 2012). Les PGPR, qu'elles soient libres ou associées, colonisent les racines des plantes, favorisant ainsi leur croissance et augmentant leur rendement. De plus, ces bactéries sont connues pour leur capacité à induire une résistance contre divers microorganismes phytopathogènes (De Salamone et al., 2005). Les rhizobactéries offrent une voie prometteuse pour améliorer la santé des plantes et favoriser leur croissance tout en préservant l'environnement (Vejan et al., 2016). Leur action repose sur divers mécanismes, notamment la solubilisation des nutriments minéraux, la stimulation de la croissance des racines et la prévention des maladies racinaires. Depuis les premières études sur les PGPR dans les années 1950, certaines des souches candidates ont été examinées *in vitro* et *in vivo* à l'échelle

mondiale. Actuellement, les PGPR sont largement utilisés dans les pays développés, avec des inoculants appliqués sur des millions d'hectares de cultures variées (**Martínez et al., 2010**). Les PGPR présentent un grand intérêt dans le domaine de l'agriculture en tant que biofertilisants, biopesticides et dans la phytoremédiation (**Berg, 2009**) ainsi que dans le domaine médical.

L'objectif de ce travail est d'étudier les bactéries rhizosphériques isolées à partir du sol rhizosphérique de la plante *Artemisia herba alba* de la Wilaya de Bordj Bou Arreridj, vis-à-vis de trois champignons phytopathogènes, à savoir : *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata*, ainsi que trois bactéries pathogènes pour l'homme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* dans le but de mettre en évidence les caractéristiques de production des molécules antimicrobiennes.

- ❖ Pour atteindre cet objectif, nous avons divisé ce travail en trois grandes parties la première partie est consacrée à la synthèse bibliographique relative au sujet.
- ❖ La deuxième partie est réservée à la présentation de l'ensemble des tests effectués *in vitro*.
- ❖ Ensuite, la troisième partie représente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.
- ❖ Enfin, le mémoire se clôturera en explorant quelques perspectives issues de ce travail.

Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur la rhizosphère

I.1.1. La rhizosphère

En 1904, Lorenz Hiltner a introduit le terme "rhizosphère". Ce mot est formé du préfixe "rhizo", dérivé du grec "rhiza" signifiant "racine", et du suffixe "sphère" venant du latin "sphaera", ayant le même sens et provenant du grec ancien "sfaira" signifiant "balle", "ballon" ou "globe" (Anton *et al.*, 2008). La rhizosphère correspond à la zone du sol qui entoure les racines des plantes et qui est directement influencée par elles. Selon **Séverine Lopez (2018)**, la rhizosphère renferme 10 à 100 fois plus de microorganismes par g de sol que le sol non rhizosphérique en raison de sa richesse en nutriments.

La rhizosphère est perçue comme un système complexe, hétérogène, dynamique et interactif, dépassant la simple notion d'interface entre le monde végétal et minéral. Un processus clé dans la rhizosphère est la rhizodéposition, qui implique la libération par les racines de divers composés organiques. Ce processus englobe la formation des cellules de la coiffe racinaire, la sécrétion de mucilage, ainsi que la diffusion passive et contrôlée de composés solubles tels que les exsudats racinaires (sucres, acides aminés et organiques, facteurs de croissance, etc.). Ces composés fournissent une source d'énergie vitale pour les microorganismes du sol et jouent un rôle crucial dans l'écologie microbienne des sols, en stimulant les activités microbiennes et les chaînes trophiques qui en découlent (**Hinsinger, 2010**).

Selon **Huang et ses collègues (2014)**, la rhizosphère est divisée en trois zones distinctes : l'endorhizosphère, le rhizoplan et l'ectorhizosphère (**Figure 1**).

- Le rhizoplan est la région de la surface des racines où les micro-organismes se fixent en utilisant des structures de surface comme les flagelles, les fimbriaes ou les polysaccharides présents sur la surface cellulaire (**Mwajita et al., 2013**).
- L'endorhizosphère regroupe des zones du cortex et de l'endoderme où les microbes et les cations peuvent occuper l'espace entre les cellules. Par conséquent, le contacte entre la plante et les microorganismes aura lieu à l'intérieur des racines.
- L'ectorhizosphère correspond à la partie externe qui suit directement le rhizoplan (**David et McNear, 2013**).

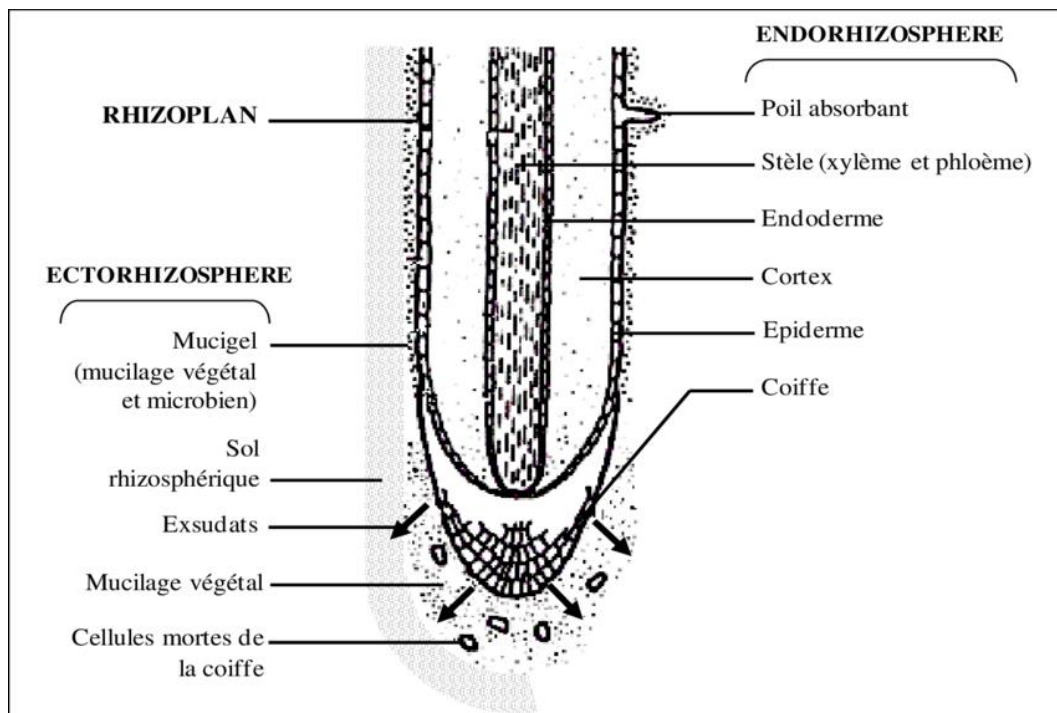


Figure 1. Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère (Lepinay, 2013).

I.1.2. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

Les PGPR, ou "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria", sont des bactéries présentes dans la rhizosphère, elles ont un effet bénéfique sur les plantes et sont considérées comme des rhizobactéries favorisant leur croissance. Le terme "PGPR" a été introduit par **Kloepper et ses équipes (2007)**, pour décrire cette population microbienne dans la rhizosphère (**Benmati, 2014**). Ces PGPR forment un ensemble varié des bactéries, parmi lesquelles les genres les plus étudiés incluent *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium*. Elles favorisent la croissance des plantes par divers mécanismes, directs et/ou indirects. En général, ces souches sont hautement compétitives, capables de coloniser le système racinaire des plantes en profitant de leur richesse en éléments nutritifs. Leur abondance dans le sol s'explique par leur capacité de multiplication rapide et leur aptitude à utiliser une variété de substrats comme sources d'énergie et d'éléments nutritifs (**Naidji et Djekoun, 2017**). En plus de leur contribution à l'augmentation des rendements agricoles, les souches de PGPR peuvent également influencer les champignons pathogènes en réduisant leurs densités de population (**Manoharachary et Mukerji, 2006**).

I.1.3. Mode d'action des PGPR

Les PGPR agissent de deux manières : directe et indirecte. Les mécanismes directs agissent à l'intérieur des plantes et influencent directement leur nutrition, leur métabolisme et leur développement. En revanche, les mécanismes indirects interviennent en dehors des plantes et ont principalement un impact sur le biocontrôle. Parmi les mécanismes directs, on trouve la biofertilisation (fourniture de nutriments à la plante) et la biostimulation (production de phytohormones de croissance) (Wenli et Shahrajabian, 2024). Les mécanismes de contrôle biologique (production des métabolites antifongiques, émission de composés volatils, etc.) sont considérés comme des mécanismes indirects, car ils favorisent un environnement sain à la croissance de la plante (Figure 2).

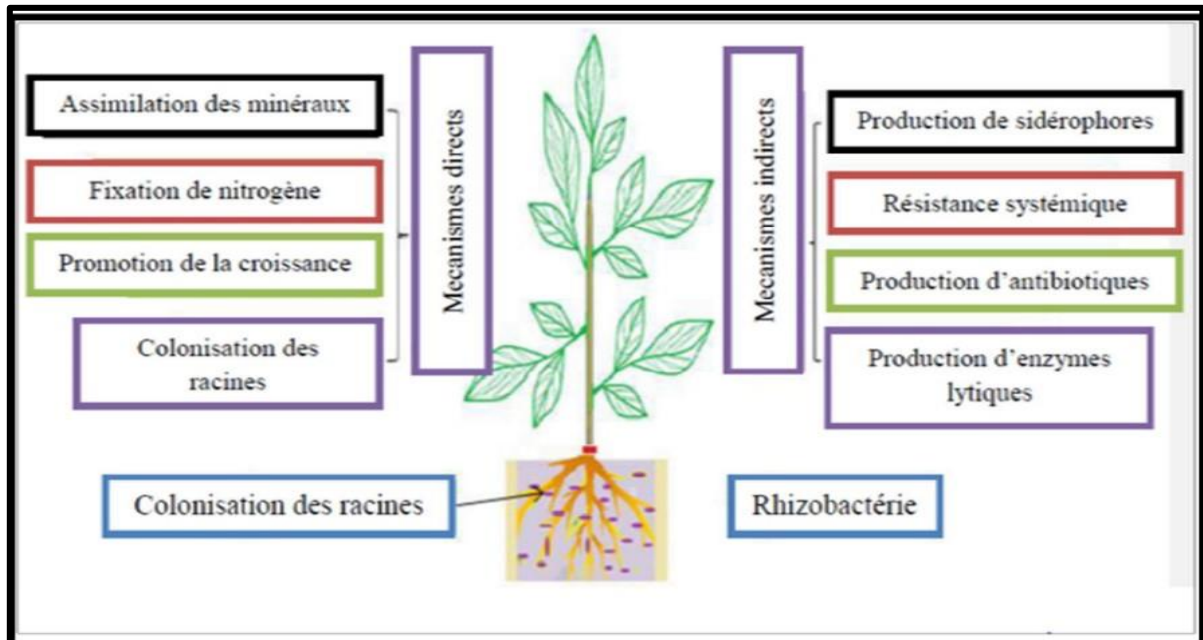


Figure 2. Présentation générale des deux modes d'action directs et indirects des PGPR (Basu et al., 2021).

I.1.3.1. Mécanismes directs

I.1.3.1.1. Fixation de l'azote

L'azote (N) est un élément essentiel à la croissance des plantes, représentant environ 2 % de leur matière sèche totale. Il est nécessaire à la production d'acides nucléiques, de protéines et d'enzymes (Bano et Iqbal, 2016). Les principales PGPR connues pour leur aptitude à favoriser la croissance des plantes en accumulant l'azote atmosphérique sont *Azoarcus* sp, *Burkholderia* sp,

Gluconacetobacter diazotrophicus, *Herbaspirillum*, *Azotobacter*, *Paenibacillus* et des endophytes telles que les cyanobactéries. Des enzymes spécifiques sont utilisées par ces organismes pour convertir l'azote atmosphérique en ammoniac. De plus, *Rhizobium*, un ensemble varié des rhizobactéries, interviennent dans des interactions symbiotiques en créant des nodules racinaires où l'azote est conservé et transformé en ammoniac, puis en nitrate, pour être utilisé par l'hôte. D'abord, la bactérie entre dans la racine, puis elle colonise les nodules où se produit la fixation de l'azote (Munes et Mulugeta ,2013 ; Hu et al., 2018).

I.1.3.1.2. Solubilisation du phosphore insoluble

La présence de phosphore (P) dans le sol est cruciale pour la croissance des plantes. Naturellement, il se présente sous forme organique (Po) et inorganique (Pi) dans le sol, mais ces formes sont peu solubles et donc pas directement absorbables par les racines des plantes. C'est là que les bactéries du sol interviennent, ces dernières jouent un rôle essentiel en favorisant la solubilisation et la minéralisation des éléments comme le phosphore. Leur activité permet de rendre disponible pour les plantes des formes absorbables de phosphore (Alori et al., 2017).

Certaines études ont montré que les bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB), telles que celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Rhizobium*, sont particulièrement efficaces dans ce processus (Rodriguez et Fraga, 1999 ; Arcand et Schneider, 2006). Parmi les espèces de *Bacillus*, *Bacillus megaterium*, *B. polymyxa*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. subtilis* et *B. sircalmous* sont reconnues comme étant parmi les plus performantes dans la solubilisation des phosphates (Podile et Kishore, 2006). Ainsi, en favorisant l'activité de ces bactéries solubilisatrices de phosphate dans le sol, il est possible de réduire de manière significative la dépendance aux engrais chimiques, comme l'ont souligné (Vocciante et al., 2022).

I.1.3.1.3. Production de sidérophore

Étant donné que le fer (Fe) se trouve souvent dans le sol sous forme d'hydroxyde trivalent Fe_3^+ insoluble, il est difficilement assimilable par les plantes. Pour faciliter l'absorption du fer dans les cellules végétales, des petites molécules appelées sidérophores sont produites et sécrétées par les bactéries, les champignons et même les plantes elles-mêmes (Vocciante et al., 2022). Ces sidérophores agissent en solubilisant le fer en se liant au Fe_3^+ présent sur les membranes bactériennes, puis en le réduisant en Fe_2^+ , ce qui rend le fer plus accessible pour l'absorption par les plantes (Richardson et Simpson, 2011). Parmi les exemples des bactéries productrices de

sidérophores, on trouve *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* (Zahir et al., 2003).

I.1.3.1.4. Bio fertilisation

L'application d'inoculant microbiens contenant des PGPR sur le sol, les surfaces des plantes ou les semences est appelée bio fertilisation, dans le but d'augmenter la production agricole. Il est crucial de mettre en place cette pratique afin de stimuler la croissance des plantes et d'accroître les rendements dans différentes cultures. Les inoculants microbiens s'installent dans la rhizosphère et offrent aux plantes les nutriments indispensables à leur développement. Le développement des plantes est considérablement amélioré par ce processus. En outre, l'utilisation d'inoculant microbiens peut avoir des effets positifs sur la texture du sol, en améliorant des éléments tels que la porosité et la structure des agrégats du sol (Wan et al., 2020).

I.1.3.1.5. Production des phytohormones

Les hormones végétales, également appelées phytohormones, agissent comme des messages chimiques naturels essentiels pour permettre aux plantes de s'adapter à leur environnement. Elles opèrent à des concentrations très faibles et sont synthétisées dans certaines parties de la plante avant d'être transportées vers d'autres sites, où elles exercent leur effet sur divers processus physiologiques tels que la croissance, la différenciation et le développement (Vejan et al., 2016). Les phytohormones se classent généralement en cinq groupes principaux : les auxines, les cytokines, les gibbérellines, l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène (Vessey, 2003). Les auxines, comprenant l'acide indole acétique (AIA), jouent un rôle crucial dans la régulation de la croissance et du développement des plantes. L'AIA influence divers processus tels que la division, l'élongation et la différenciation cellulaire (Asgher et al., 2015). Les cytokines et les gibbérellines, selon Van Loon (2007), participent à la modulation de la morphologie des plantes et stimulent la croissance de la partie aérienne. L'acide abscissique est une phytohormone clé impliquée dans la régulation de la croissance et joue un rôle crucial dans l'amélioration de la réponse au stress et de l'adaptation des plantes (Wilkinson et al., 2012). L'éthylène, une autre hormone végétale, est impliquée dans divers processus tels que la maturation des fruits, l'abscission des feuilles et la maturation des fruits (Vejan et al., 2016).

Plusieurs PGPR ainsi que certaines espèces de rhizobactéries symbiotiques et libres ont été signalés comme pouvant moduler les niveaux d'hormones végétales par la production d'auxines

(l'acide indole 3- acétique AIA, particulièrement), de gibbérellines et de cytokines dans le sol rhizosphérique (**Han et al., 2005**)

I.1.3.2. Mécanismes indirects

I.1.3.2.1. Production d'antibiotiques

Les souches rhizobactériennes sont le moyen d'action le plus étudié et le plus efficace pour produire des antibiotiques contre les microbes pathogènes. La production d'antibiotiques par les rhizobactéries est extrêmement efficace pour prévenir les infections pathogènes dans la rhizosphère des plantes (**Hakim et al., 2021**). Les antibiotiques produits par les PGPR ont récemment été employés afin de neutraliser les effets néfastes des agents pathogènes présents dans le milieu racinaire des plantes (**Ju et al., 2020**).

I.1.3.2.2. Production d'enzymes lytiques

Les PGPR produisent des enzymes lytiques qui sont sécrétées à l'extérieur de la cellule et qui ont la capacité de dégrader les parois cellulaires. Ces enzymes ciblent divers composés polymériques tels que les protéines, la cellulose, la chitine et l'hémicellulose, représentant ainsi une forme cruciale de biocontrôle (**Mukhtar et al., 2019**). En dégradant ces composés, les enzymes lytiques des PGPR suppriment directement la croissance des phytopathogènes dans le sol. Par ailleurs, les PGPR produisent et activent également d'autres enzymes bénéfiques telles que les lipases, les chitinases, les protéases et les glucanases. Ces enzymes participent à la décomposition de la paroi cellulaire, contribuant ainsi à la dégradation des résidus végétaux et de la matière organique morte pour libérer des nutriments à base de carbone (**Kumari et al., 2019**).

I.1.3.2.3. Résistance systémique induite (ISR)

L'induction de la résistance systémique (ISR) représente une forme active de résistance dans laquelle la plante hôte déploie des barrières chimiques ou physiques stimulées par les PGPR. Distinguer l'ISR de la résistance systémique acquise (SAR) n'est pas simple, car les deux mécanismes impliquent l'utilisation des composés similaires pour contrôler les pathogènes. Cependant, la SAR est déclenchée par les pathogènes eux-mêmes pour combattre d'autres agents pathogènes (**Tabassum et al., 2017**). L'ISR, quant à elle, est induite par une variété de microorganismes, notamment des rhizobactéries. Ces bactéries, qu'elles que soient à Gram-positif ou à Gram-négatif, génèrent un signal lorsqu'elles sont stimulées, signal qui se propage de manière

systémique à l'intérieur de la plante. Cette réponse renforce la défense des tissus et leur capacité à repousser les infections causées par les pathogènes (**Jourdan et al., 2008**).

I.1.3.2.4. Compétition pour les nutriments

Dans la rhizosphère, les pathogènes interagissent de manière indirecte par le biais de la concurrence pour les ressources, notamment l'espace et les nutriments. Ce territoire est souvent caractérisé par une disponibilité limitée en nutriments, ce qui pousse les microbes à se fixer sur des sites où l'eau et les éléments nutritifs sont accessibles. Pour prospérer dans un tel environnement, les microbes déploient des stratégies, telles que la production des sidérophores hautement spécifiques pour le fer, afin de restreindre sa disponibilité aux pathogènes et de limiter ainsi leur croissance dans la rhizosphère (**Tabassum et al., 2017**).

I.1.3.2.5. Production du cyanure d'hydrogène (HCN)

Le HCN est une substance volatile antimicrobienne à large spectre qui joue un rôle dans la lutte biologique contre les phytopathogènes liées aux *Pseudomonas* fluorescentes, qui produisent le HCN et jouent un rôle dans l'élimination des agents pathogènes transmis par le sol. Le HCN est produit par de nombreux PGPR dans un processus connu sous le nom de cyanogènes. Pour stimuler la production de HCN, il est possible d'inoculer certains de ces PGPR dans le sol. Le HCN empêche le déplacement des électrons vers les cellules ciblées et perturbe l'énergie, ce qui entraîne la mort des organismes. Dans ce contexte, le cyanure produit par les bactéries est à la fois un stimulateur de croissance et un inhibiteur de croissance (**Wenli et Shahrajabian, 2024**).

Matériel et méthodes

II.2. Matériel microbien

Les souches pathogènes utilisées dans ce travail comportent des souches bactériennes pathogènes pour l'homme provenant de la collection du laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimi (BBA) ainsi que des souches fongiques phytopathogènes isolées et identifiées dans ce présent travail.

Tableau. I. Les différentes souches bactériennes pathogènes utilisées.

Nom de la souche	Abréviation	Type de Gram
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i>	Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2856	<i>S. aureus</i>	Gram positif
<i>Micrococcus luteus</i> NRLL-4375	<i>M. luteus</i>	Gram positif

II.3. Echantillonnage

La collecte du sol rhizosphérique a été effectuée en suivant un protocole spécifique pour garantir les conditions optimales de prélèvement, pour cela et après avoir creusé à une profondeur de 15 à 20 cm, les échantillons comprenant la plante ainsi que son sol rhizosphérique ont été collectés et conservés dans des sacs en plastiques scellés pour être acheminés au laboratoire le jour même, puis conservé à 4 °C. L'isolement a été réalisé dans les 24 heures suivant la collecte (Messaoudi et al., 2020).

II.4. Isolement des bactéries rhizosphériques à partir de sol

Afin d'isoler les bactéries rhizosphériques, 1 g d'échantillon de sol a été mélangé à 9 ml d'eau physiologique stérile. A partir de cette suspension mère, une série de dilutions décimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8}) a été réalisée en transférant à chaque fois 1 ml de tube en tube. A partir de chaque dilution, 100 µl ont ensuite été étalés sur la surface du milieu Plate Count Agar (PCA) en triplicata. Les boîtes ont été incubées pendant 24 à 72 heures à 30 ° C (Figure 5) (Amri et al., 2023).

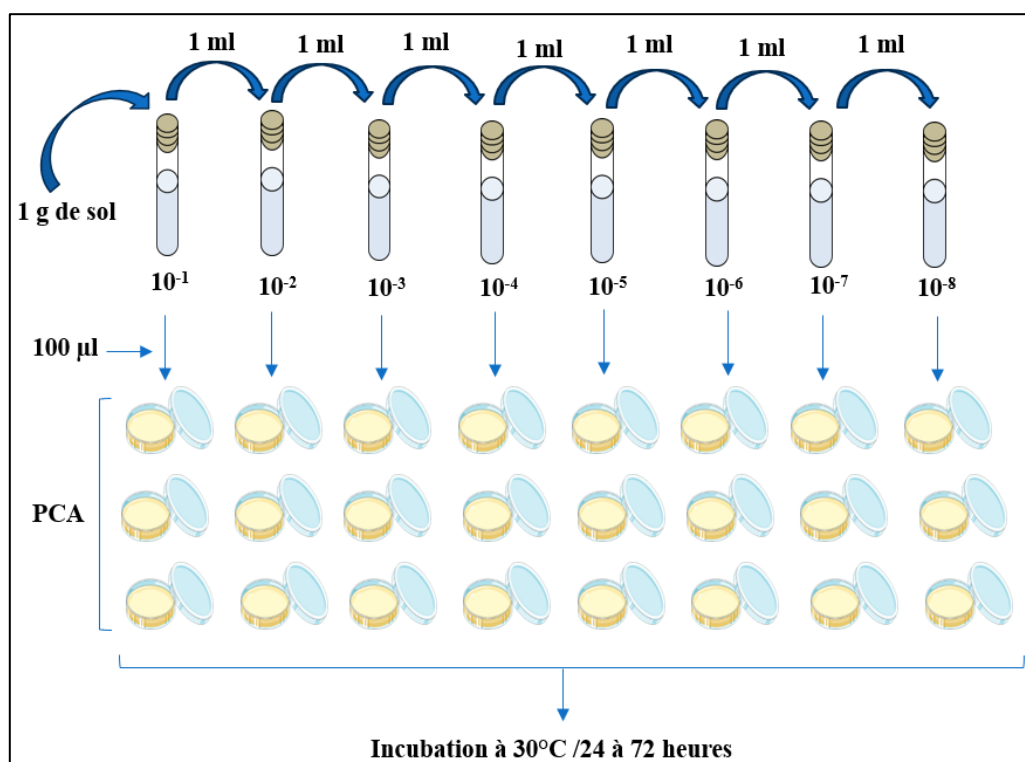


Figure 5. Méthode d'isolement des bactéries rhizosphériques (Amri *et al.*, 2023).

II.5. Purification et conservation des isolats bactéries rhizosphériques

Après la période d'incubation, plusieurs isolats bactériens ont poussé sur les boîtes de Petri. Les colonies bactériennes ont été ensuite purifiées en fonction de leurs différences phénotypiques (aspect, couleur, pigmentation. etc.) par repiquage en utilisant la méthode des stries serrées afin d'obtenir des isolats bactériens purs. Les isolats purs ont été conservés dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif (BN) ou d'International Streptomyces Project (ISP2). Après une période d'incubation de 24 heures à 30 °C, les tubes ayant présenté un trouble ont été placés au réfrigérateur à une température de 4°C (Dif *et al.*, 2023).

II.6. Désinfection des surfaces et isolement des champignons phytopathogènes

Les isolats fongiques ont été isolés à partir des tomates et de grains de blé présentant des symptômes des maladies (Figure 6). Pour cela et dans un premier temps un lavage minutieux des tomates et des grains de blé a été réalisé à l'eau du robinet pendant 10 minutes pour éliminer toutes les saletés et débris. Pour les tomates, les zones de prélèvement (zones noires) ont été découpées à l'aide d'un ciseau stérilisé à la flamme du bec bunsen. Une désinfection de surface a ensuite été réalisée afin d'éliminer les microorganismes présents à la surface en immergeant les fragments de tomate ainsi que les grains de blé dans des solutions d'hypochlorite de sodium à 1% et 2% pendant

1 et 5 minutes respectivement. Les fragments de tomates ainsi que les grains de blé ont ensuite été rincés trois fois à l'eau distillée stérile et séchés sur du papier filtre stérile. Les échantillons ont été placés dans des boîtes de Petri contenant du Potato Dextrose Agar (PDA) (**Annexe**) additionné de 40 mg/ml de gentamicine et de 120 mg/ml de pénicilline afin d'inhiber la prolifération des bactéries. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 28°C pendant une période de 4 à 7 jours (**Pacin et al., 2002 ; Ghiasian et al., 2004 ; Atrassi et al., 2005**). Chaque champignon emmergeant des fragments de tomates ou des grains de blé a été repiqué sur du PDA dépourvu d'antibiotique afin d'être purifié. Les isolats fongiques ont ensuite été regroupés selon leur morphologie, et un seul isolat a été sélectionné de chaque groupe et conservé par repiquage dans des tubes contenant du PDA incliné qui ont été incubés pendant 5 à 7 jours pour permettre une croissance maximale. Les tubes ont ensuite, été stockés à une température de 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les risques de variation (**Botton et al., 1990**).

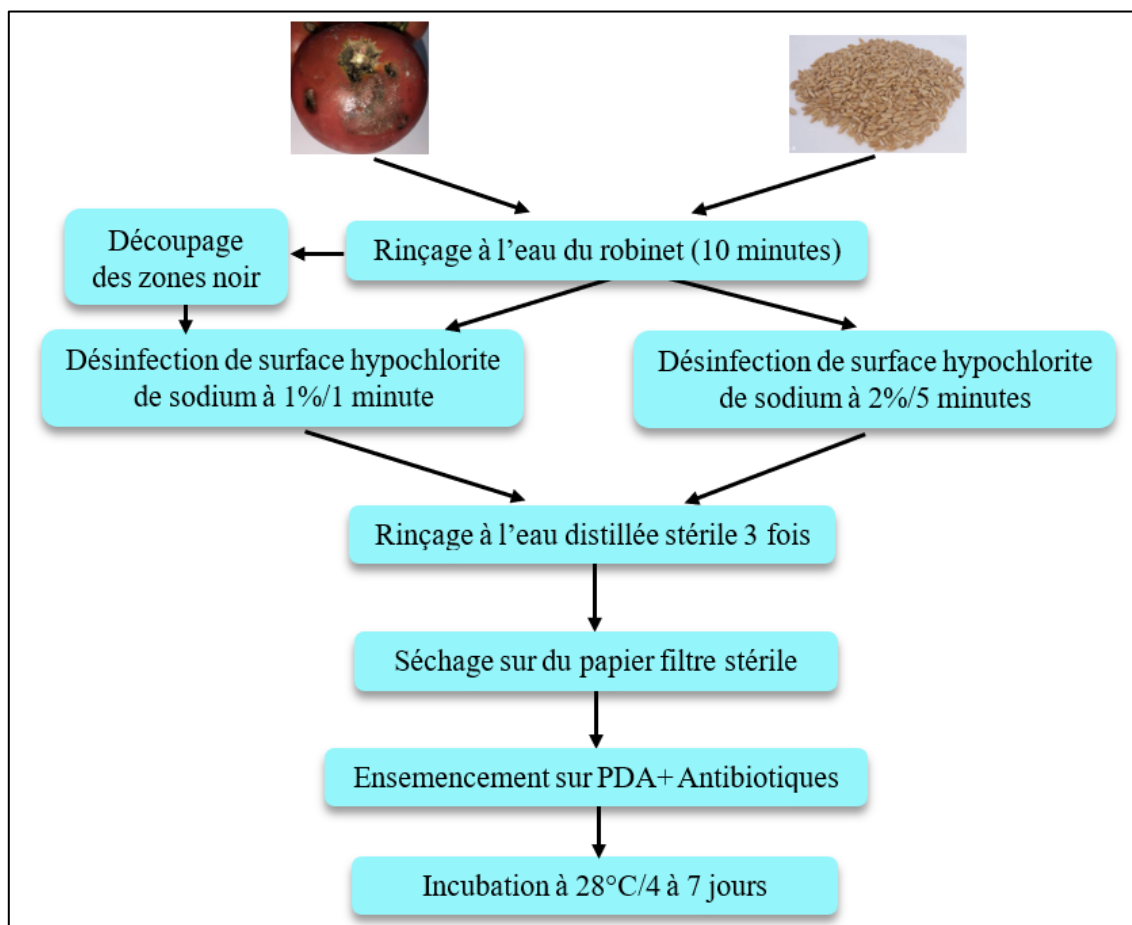


Figure 6. Protocole d'isolement des champignons phytopathogènes à partir des tomates et des grains de blé (**Pacin et al., 2002 ; Ghiasian et al., 2004 ; Atrassi et al., 2005**).

II.7. Identification des champignons phytopathogènes

Les caractéristiques visibles des souches fongiques ont été étudiées à l'œil nu et au microscope, et leur identification a été faite en comparant ces caractéristiques aux clés de classification utilisées dans la littérature (**Chabasse et al., 2002**).

II.7.1. Étude macroscopique

Afin de déterminer les caractéristiques macroscopiques des colonies des isolats fongiques sélectionnés, ces derniers ont été repiqué sur milieu de PDA, et incubé à 28°C pendant 7 jours, après cette période d'incubation les colonies ont été observé à l'œil nu et à la loupe binoculaire. Les caractéristiques ayant été observées sont entre autres la taille, le relief, l'aspect des colonies (cotonneuse, poudreuse, laineuses, floconneuses, velouté... etc.), leur couleur recto et verso, la vitesse de croissance, l'aspect des contours et la production des pigments (**Toffa, 2015**).

II.7.2. Étude Microscopique

La méthode d'identification microscopique a consisté à examiner au microscope optique les caractéristiques morphologiques des hyphes, comme la présence des cloisons et de structures spécifiques, ainsi que les structures de reproduction, telles que la disposition des spores, la forme, cloisons et taille en utilisant la méthode suivante : Prélever un petit morceau de culture fongique suffisamment développée, avec des spores et des hyphes mycéliens et le déposé sur une lame contenant une goutte de bleu coton. Le fragment est ensuite recouvert par une lamelle. L'observation est effectuée au microscope optique en utilisant les objectifs x40 et x100 (**Chabasse, 2002**).

II.8. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne

En microbiologie, le test d'antagonisme entre les isolats rhizosphériques et les microorganismes pathogènes est employé afin d'évaluer la capacité de ces isolats à entraver la croissance ou le développement de ces microorganismes pathogènes.

Pour cela, les isolats bactériens rhizosphériques ont été réactivés dans 9 ml de BN, puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures. Selon **Andriambololona (2010)**, la turbidité du milieu de culture reflète le développement des souches cultivées, tandis que l'absence de turbidité indique l'absence de développement des bactéries.

II.8.1. Dépistage de l'activité antifongique

Les bactéries rhizosphériques isolées ont été soumises au test d'antagonisme contre trois champignons phytopathogènes préalablement isolés en utilisant la méthode décrite par (Bönisch et al., 2014). Elle implique le placement d'un disque de 6 mm de diamètre d'un champignon phytopathogène âgé de 7 à 10 jours au centre d'une boîte contenant du milieu PDA, suivie de l'inoculation par spots de deux bactéries en duplicata (culture jeune) à une distance de 4 cm du champignon, tout en maintenant la même distance entre les disques fongiques et les bactéries (Figure 7). L'incubation est ensuite effectuée à 28°C pendant 7 jours.

Des boîtes témoins ne contenant que l'agent phytopathogène sont également incubées dans des conditions identiques. Les rayons des colonies fongiques aussi bien dans les boîtes de double culture que celle des témoins sont mesurés (Hassan et al., 2014).

Le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est estimé selon la formule suivante (Orole et Adejumo, 2009 ; Srividya et al., 2012).

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(R1 - R2)/R1] \times 100$$

R1 : étant la croissance radiale de l'agent phytopathogène dans le contrôle.

R2 : étant la croissance radiale de l'agent phytopathogène dans la double culture.

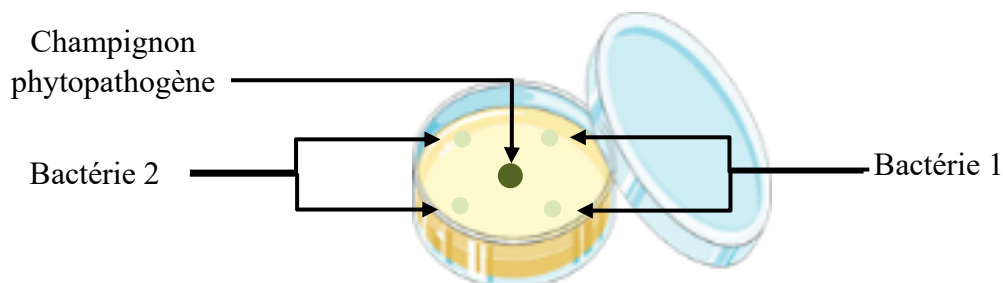


Figure 7. Présentation schématique de la confrontation directe entre les bactéries rhizosphériques et les champignons phytopathogènes (Personnelle, 2024).

II.8.2. Dépistage de l'activité antibactérienne

Les isolats rhizosphériques ayant démontré une inhibition d'au moins l'un des trois champignons phytopathogènes utilisés ont été soumis à des tests d'antagonismes contre trois bactéries pathogènes *E. coli*, *S. aureus* et *M. luteus* afin de déterminer leurs spectres d'action. Ces bactéries pathogènes ont été réactivées dans du BN et incubé à 37°C pendant 24 heures. La turbidité

de ces cultures jeunes a été ensuite ajustée à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm correspondante à 0.5 McFarland, soit environ 10^8 UFC/ml (**Hellal, 2011**).

Pour les bactéries rhizosphériques, le test de leur activité antibactérienne a été réalisé en utilisant la méthode de double couche d'écrite par (**Bastide et al.,1986**), avec quelques ajustements. Pour cela deux spots à partir des suspensions bactériennes rhizosphériques sont déposées à la surface des boites de Pétri contenant du PCA. Une deuxième couche du milieu BN semi-solide (7 g/l d'agar-agar) préalablementensemencé avec 1 ml des suspensions des bactéries pathogènes a été coulée. Après l'incubation des boites à 37° C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibitions observés autours des spots bactériens ont été mesurés.

Pour l'actinomycète, son pouvoir antibactérien a été dépisté en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide, basée sur le protocole de (**Sahani et al.,2017**) avec quelques ajustements. Pour ce faire, une culture pure d'actinomycète a été repiquée sur un milieu ISP2 et incubée 28°C pendant 14 jours. A partir de cette dernière, des disques de 6 mm de diamètre ont été prélevés et placés sur des boites de Pétri contenant du PCA préalablementensemencées avec les bactéries pathogènes. Un disque du milieu ISP2 sans actinomycète a été utilisé comme témoin négatif. Les boîtes de Pétri ont été réfrigérées à 4°C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des composés antibactériens, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant les zones d'inhibition formées autours des disques d'actinomycète (**Reghioua et al., 2006**).

II.9. Fermentation et extraction des molécules bioactives

Vue le fait que les actinomycètes sont reconnus par leur production des métabolites antifongiques puissant, l'isolat d'actinomycète a été sélectionné afin d'extraire ces métabolites secondaires. Pour cela, l'actinomycète a étéensemencée sur 15 boites de Pétri contenant du milieu de culture ISP2. Après une incubation à 28 °C pendant 21 jours, la gélose a été fragmentée et mélangée successivement à différents solvants organiques de polarité différente comme suit : 100 ml de n-hexane (apolaire), 100 ml d'acétate d'éthyle (de polarité moyenne) et finalement 100 ml de méthanol (polaire) ; à chaque fois le flacon a été agiter pendant 2 heures. Après 24 heures à température ambiante, les phases organiques ont été récupérées, filtrées à travers du papier filtre et les solvants évaporés sous la hotte chimique. Les résultats de l'évaporation de l'éthyle acétate et le mélange de n-hexane ont été redissous dans un diméthylsulfoxyde (DMSO), alors que celui du

méthanol a été remis en solution en utilisant de l'eau distillée. Enfin, les trois extraits ont été stérilisés à travers des filtres millipores stériles (**Khamna et al., 2009**).

II.10. Activité antifongique des extraits de l'isolat d'actinomycète

L'activité antifongique des extraits d'actinomycète a été testée en utilisant la méthode des puits décrite par (**Hwanhlem et al.,2011**). Pour cela, des suspensions sporales des champignons phytopathogènes ont été ensemencés par écouvillonnage sur milieu PDA. Trois puits ont été ensuite formés dans la gélose puis 50 µL de gélose molle sont ajoutés dans chaque puits. Une fois cette dernière s'est solidifiée, 50 µL de l'extrait sont ajoutés dans deux puits, tandis que le troisième puits reçoit 50 µL de DMSO en tant que témoin négatif. Les boîtes de Petri sont placées à 4°C pendant 4 heures pour permettre la diffusion des substances actives, puis incubées à 28°C pendant 3 à 5 jours. Les diamètres des zones d'inhibition observés autour des puits sont mesurés.

II.11. Mise en évidence de l'activité enzymatique

La mise en évidence de la production de trois enzymes, amylase, protéase et cellulase par l'isolat d'actinomycète a été réalisée en utilisant pour l'activité amylolytique, une gélose contenant de l'amidon (2 % d'amidon soluble). Pour l'activité protéolytique, le milieu de culture utilisé était le PDA, auquel 100 ml d'une solution de lait écrémé à 0,5 % ont été ajoutés après stérilisation du milieu. L'activité cellulolytique a été quant à elle testée sur une gélose additionnée de carboxyméthylcellulose (CMC) (**Annexe**). Après la préparation des milieux et avant la stérilisation, un double ensemencement a été réalisé en utilisant la méthode des spots. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 28 °C pendant une période de trois à cinq jours (**Carrim et al., 2006**).

Après la période d'incubation, afin d'évaluer l'activité amylolytique et cellulolytique, une solution de lugol a été répartie sur toute la surface du milieu. Après quelques minutes de contact, l'excès a été éliminé et les boîtes ont été lavées à l'eau distillée. La lecture a été effectuée comme suit : La présence d'amidon dans le milieu se traduirait par une couleur bleue-noirâtre, indiquant une absence d'activité amylolytique. En revanche, si l'amidon est hydrolysé, une zone claire apparaîtrait autour des colonies, indiquant une activité amylolytique chez les isolats (**Raj et al., 2009**). La présence d'une cellulase extracellulaire se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Carrim et al., 2006**). De même, l'activité protéolytique se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Bach et Munch, 2000**). Les diamètres des halos ainsi que ceux des

colonies ont été ensuite mesurés et les indices enzymatiques calculés pour toutes les activités en utilisant la formule suivante :

$$\text{IE} = \text{Diamètre du halo} / \text{Diamètre de la colonie} \text{ (Carrim et al., 2006)}$$

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Isolement, purification et conservation des isolats rhizosphériques

L'observation de l'apparence des colonies sur le milieu solide a révélé une grande variété en termes de taille, de couleur et de forme. L'isolement nous a permis d'isoler et de purifier 50 isolats différents. Parmi ces isolats, 49 présentent des caractéristiques typiques des bactéries, telles qu'une surface lisse et brillante, formant des colonies de petite à moyenne taille. Cependant, un isolat se distinguait des autres par ses caractéristiques différentes, notamment des colonies de couleurs graduées et une texture poudreuse, au microscope il présentait un mycélium long, très arborescent, fragmenté et portant des longues chaînes des spores non mobiles, il a donc été considéré comme appartenant au groupe des actinomycètes. (Figure8).

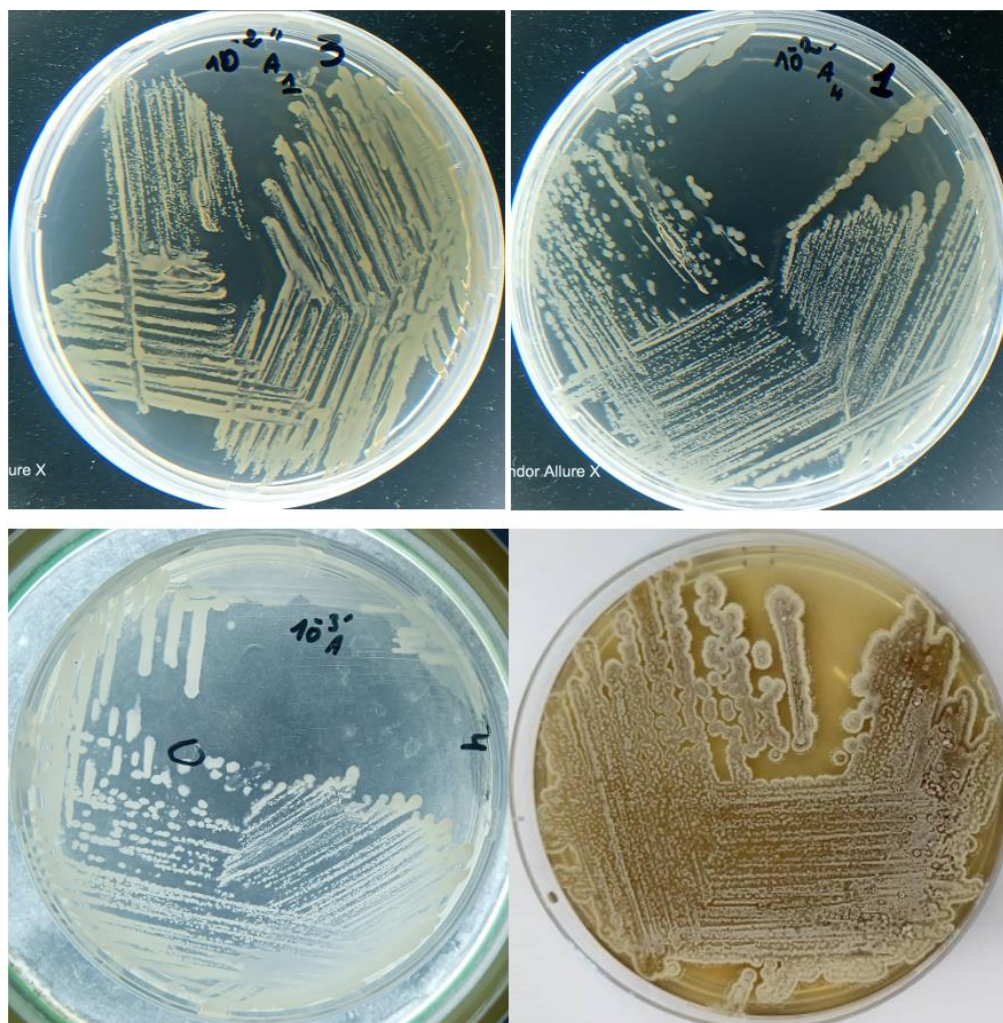


Figure 8. Quelques images montrant les différents aspects morphologiques des colonies obtenues sur PCA.

En comparant nos résultats à ceux d'une autre étude menée par (Novello et al.,2023), parmi les 288 isolats bactériens obtenus à partir des sols rhizosphériques de différentes plantes médicinales, 21 isolats bactériens ont été isolés à partir de celui de *Artemisia herba alba*. Une autre étude a permis l'isolement d'un isolat actinomycète BTS40, à partir du sol rhizosphérique de *Artemisia herba alba* (Djemouai et al., 2022).

Les recherches menées par Aurélie (2013), ont mis en lumière que les communautés bactériennes varient d'un sol à un autre en raison de leurs propriétés physico-chimiques, qui favorisent le développement de taxons bactériens spécifiques. Des facteurs tels que l'humidité du sol, le pH, la température, la conductivité, ainsi que des facteurs physiologiques comme l'âge de la plante et d'autres éléments, ont été identifiés comme des déterminants de la variabilité de la densité bactérienne (Manoharachary, 2006). Selon Mouafek (2010), les sols rhizosphériques présentant une meilleure texture, une plus grande richesse en éléments nutritifs et des conditions plus favorables abritent une diversité plus importante des bactéries rhizosphériques. Il semblerait donc que ces caractéristiques aient joué un rôle crucial dans notre capacité à isoler un nombre significatif des bactéries rhizosphériques dans notre étude.

III.2. Isolement et identification des champignons phytopathogènes

L'isolement des agents phytopathogènes à partir des fruits de tomate et des grains de blé présentant des symptômes a permis l'obtention de 22 isolats fongiques de couleur, aspect et forme différentes. Ces derniers ont d'abord été regroupés en trois morphotypes et un isolat de chaque groupe a été sélectionné (le premier à partir de l'échantillon de blé, et les 2 autres à partir des tomates). Leur identification a été ensuite renforcée et validée à travers une analyse microscopique.

La description des trois isolats fongiques sélectionnés est comme suit :

❖ **Isolat fongique A**

L'aspect macroscopique de cet isolat se présente sous forme des colonies floconneuses de couleur blanche avec un halo crème, tandis que le revers, des colonies présentent une couleur marron foncé au centre et un couleur crème à saumon pâle à la périphérie. Absence de production de pigments diffusibles. La vitesse de croissance est rapide, avec un diamètre de 43 mm après 7 jours d'incubation. Au microscope, on observe un mycélium cloisonné avec des macroconidies en forme de croissant, septées avec 3 à 4 cloisons, libres et abondantes. Les microconidies sont ovales petites et abondantes (**Figure 9**).

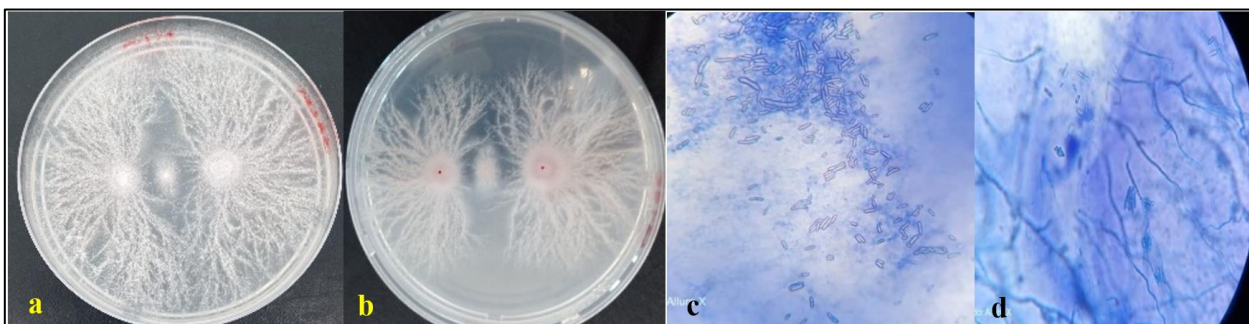


Figure 9. Morphologie de l'isolat fongique A, (a) : Colonie sur PDA, (b) : Verso de la colonie sur PDA, (c) et (d) : Aspect microscopique au microscope optique (Grossissement x100).

❖ Isolat fongique B

Lors de l'étude macroscopique de cet isolat, on observe des colonies veloutées, initialement de couleur blanchâtre à grisâtre, mais qui peuvent s'assombrir avec le temps, prenant souvent des nuances noires ou vertes. Elles présentent un aspect cotonneux et une croissance dense, avec un diamètre pouvant atteindre les 15 mm après 7 jours d'incubation. Les propriétés microscopiques incluent, des conidies sombres globuleuses et réticulées, des conidiophores sombres ; flexueux et ramifiés (**Figure 10**).

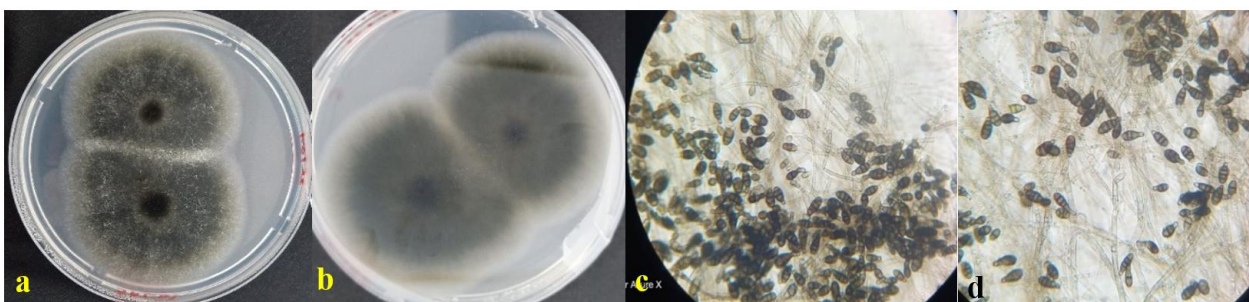


Figure 10. Morphologie de l'isolat fongique B, (a) : Colonie sur PDA, (b) : Verso de la colonie sur PDA, (c) et (d) : Aspect microscopique au microscope optique (Grossissement x100).

❖ Isolat fongique C

D'après les observations macroscopiques, les colonies de cet isolat sont de couleur verdâtre à une teinte foncée, pouvant aller du vert au noir, avec une texture duveteuse et épaisse, une croissance lente et un diamètre de 26 mm après 7 jours d'incubation. Ses propriétés microscopiques comprennent des hyphes septés, certains pigmentés en brun, avec des filaments simples ou ramifiés. Les conidies sont de forme elliptique ou ovoïde, avec une base arrondie et une extrémité

apicale allongée en bec conique à cylindrique, cloisonnées, brunes et de taille relativement courte (Figure 11).

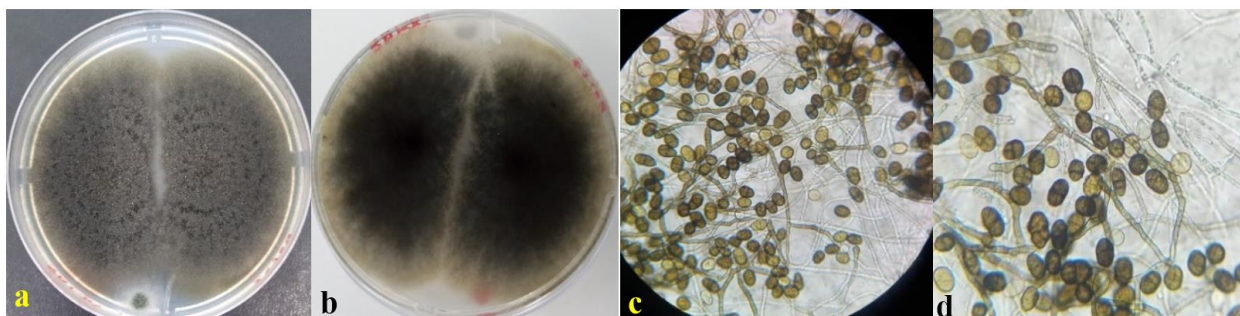


Figure 11. Morphologie de l'isolat fongique C, (a) : Colonie sur PDA, (b) : Verso de la colonie sur PDA, (c) et (d) : Aspect microscopique au microscope optique (Grossissement x100).

D'après la comparaison de ces observations macroscopiques et microscopiques des trois isolats fongiques avec la description fournie par **Dufresne (2021)**, il a été conclu que les trois isolats appartenaient aux espèces *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata* respectivement.

Plusieurs précédentes études, ont permis l'isolement des trois champignons phytopathogènes à partir des grains de blé et des tomates telles que celle de **Gacem (2011)**, qui a montré la présence du genre *Ulocladium* dans les échantillons des grains de blé. Dans deux autres études, huit isolats de *Fusarium* sp et *Alternaria* sp ont été isolés et identifiés à partir des tomates infectées (**Yang et al., 2017 ; Adss et al., 2022**). Nos résultats sont également semblables à ceux de **Rakotoarimanga (2014)**, qui a isolé un champignon phytopathogène du genre *Fusarium*, désigné F-02, à partir de tomates.

Nos résultats concordent avec ceux de **Al askar ses collègues (2014)**, qui ont identifié 57 espèces fongiques colonisant les tomates, parmi lesquelles des souches de *Alternaria* spp.

Dans les régions de production de tomates destinées à la transformation en Californie, 228 isolats ont été recueillis à partir de lésions caractéristiques de moisissure noire sur 228 fruits mûrs collectés entre août et octobre 1992. Parmi ceux-ci, 174 ont été identifiés comme étant de l'espèce *Alternaria alternata* (**Morris et al., 2000**). De plus, (**Jones et al., 2014**) ont isolé des souches d'*Alternaria alternata* à partir de tomate.

Les trois genres de moisissures phytopathogènes ayant été identifiés dans notre étude sont généralement associés à une mauvaise manipulation et conservation des denrées alimentaires, ainsi

qu'à la qualité, la durée et les conditions de stockage en particulier des céréales. Ils sont considérés comme des contaminants courants au cours du stockage (Berthier et Valla, 1998 ; Tabuc, 2007).

Selon (Withlow et al.,2001), les deux genres *Alternaria* et *Fusarium* sont des habitants naturels présents dans les cultures en plein champ et dans le sol. La contamination fongique des céréales, que ce soit sur le champ ou pendant le stockage, est directement influencée par les conditions hydrothermiques (Wilson et al., 2002).

III.3. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne

III.3.1. Dépistage préliminaire de l'activité antifongique

Après avoir été isolés et purifiés, l'activité antifongique à l'égard des trois champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata* des isolats rhizosphériques a été évaluée en utilisant la technique de la double culture. Les pourcentages d'inhibition de la croissance des trois champignons cibles obtenus par les isolats rhizosphériques actifs sont représentés dans les figures 12, 13, 14 et 15 ci-dessous.

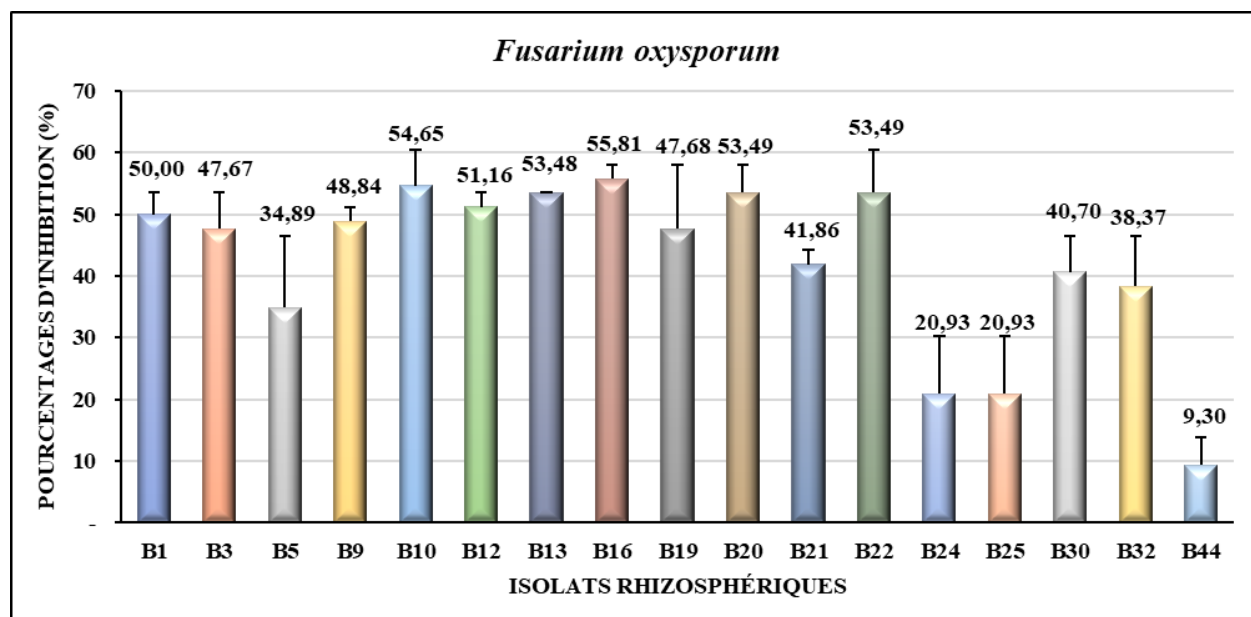


Figure 12. Résultats du criblage préliminaire contre *Fusarium oxysporum*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

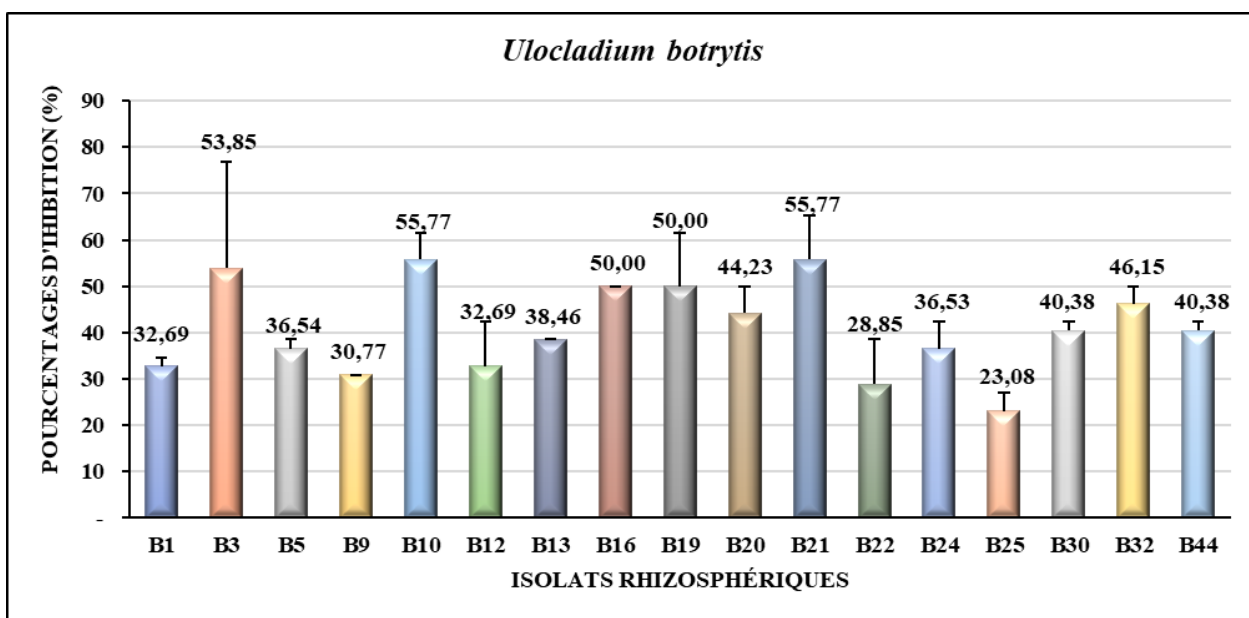


Figure 13. Résultats du criblage préliminaire contre *Ulocladium botrytis*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

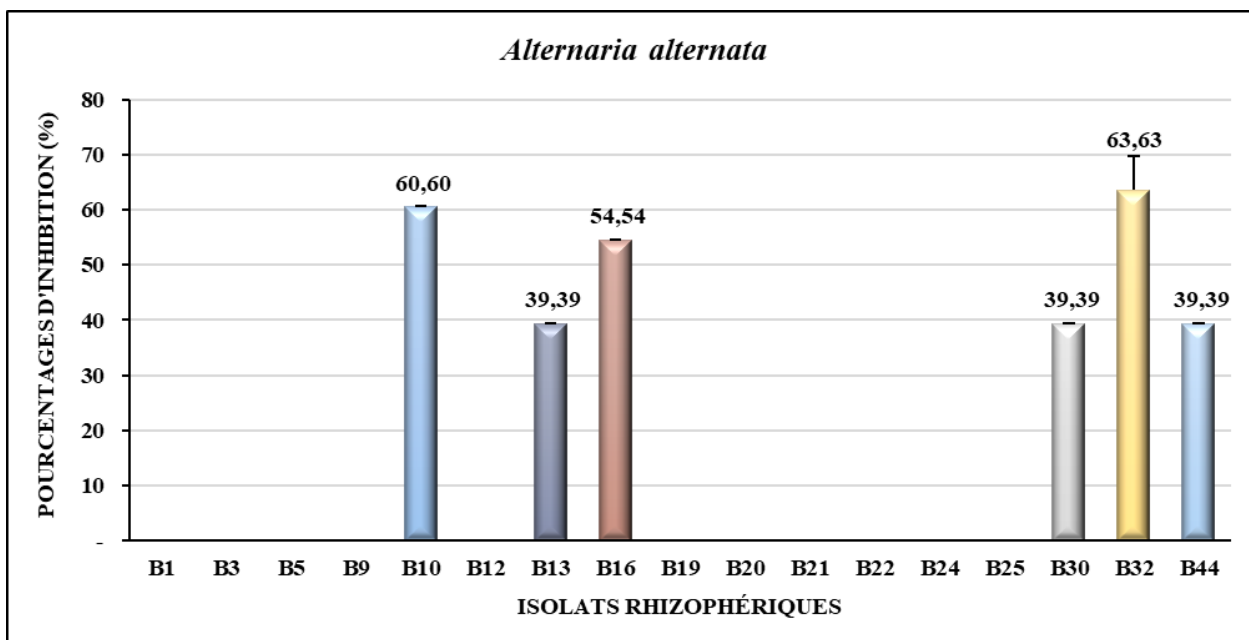


Figure 14. Résultats du criblage préliminaire contre *Alternaria alternata*. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Pour *Fusarium oxysporum*, les pourcentages d'inhibition obtenus variaient entre 9,30 % et 55,81 %. Parmi les 17 isolats rhizosphériques actifs, 7 avaient obtenus de pourcentages d'inhibition supérieurs à 50%, avec le meilleur pourcentage d'inhibition (55, 81%) obtenu par l'isolat B16.

Parmi les isolats actifs, 5 avaient présentés des pourcentages supérieurs à 50% vis-à-vis d'*Ulocladium botrytis*. Le meilleur pourcentage d'inhibition était de 55,77 % obtenu par les isolats B10 et B21. En ce qui concerne *Alternaria alternata*, uniquement 6 isolats rhizosphériques étaient actifs, avec des pourcentages d'inhibitions atteignant les 63,63% obtenu par l'isolat B32.

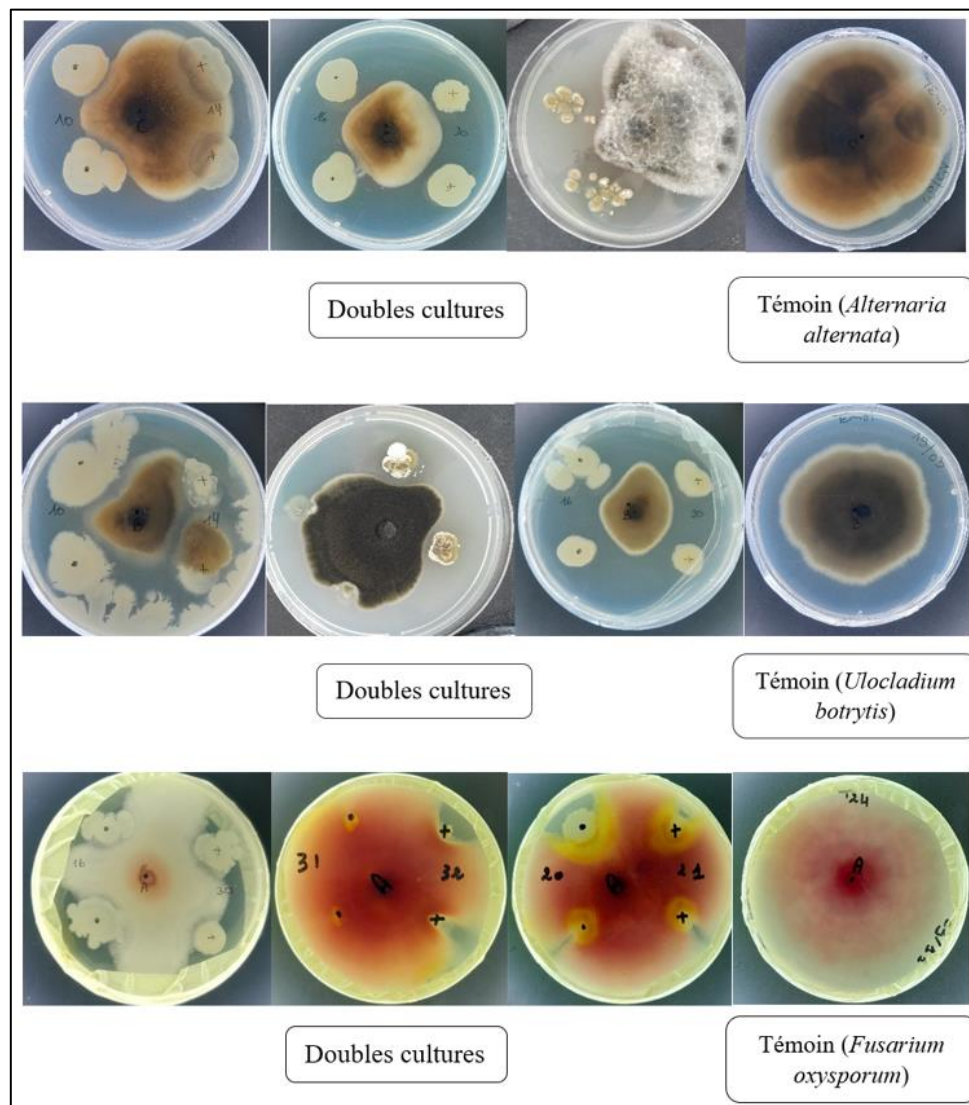


Figure 15. Photos montrant l'effet antagonisme de quelques isolats rhizosphériques contre les trois champignons phytopathogènes.

Selon **Williams et Asher (1996)**, les différences entre les pourcentages d'inhibition observées lorsque différents isolats rhizosphériques sont confrontés à un même champignon phytopathogène, est due à la différence des modes d'action et/ou du type de métabolites produits par les bactéries. De plus, cela indique que ces bactéries sont taxonomiquement différentes.

Plusieurs études ont montré l'activité antifongique des bactéries rhizosphériques. **Mezaache (2012)** a isolé des bactériens de la rhizosphère de la pomme de terre ayant un pouvoir inhibiteur contre l'agent *Fusarium oxysporum* par la production de substances volatiles cyanure d'hydrogène (HCN). D'autres auteurs ont démontré que l'espèce rhizosphérique *Pseudomonas fluorescens* possède une activité inhibitrice contre *Alternaria alternata* (**Renga ramanujam et Kulothungan, 2011**), et à l'égard de *Fusarium oxysporium* et de *Alternaria alternata*, avec un pourcentage d'inhibition atteignant les 36% (**Rabhin, 2011**).

L'étude menée par **Benamrane et Maouchi (2017)**, a identifié un isolat en tant que *Bacillus safansis* capable de dégrader la chitine colloïdale et le β -1.3-glucane. Cette espèce a été démontrée comme étant un antagoniste efficace contre *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum* grâce à l'action de substances volatiles. Des études menées par (**Sadfi-Zouaoui et al., 2008**) ont également mis en lumière des souches bactériennes prometteuses pour le contrôle de l'activité des champignons phytopathogènes. Ces souches ont été recherchées pour leur capacité à produire des substances antifongiques, qu'elles soient volatiles ou diffusibles.

L'antibiose représente probablement le mécanisme le plus reconnu et potentiellement le plus crucial utilisé par les PGPR (Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes) pour contrôler l'invasion des pathogènes dans les tissus de la plante hôte (**Mezzache, 2012**). Les microorganismes antagonistes inhibent la croissance du mycélium de l'agent phytopathogène en produisant des substances inhibitrices d'origine chimique. Ces substances peuvent inclure des antibiotiques, des enzymes, des métabolites secondaires ou des composés volatils. En outre, la compétition entre les microorganismes peut également entraîner un ralentissement significatif de la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène. Cette compétition entre les bactéries et les phytopathogènes a depuis longtemps été reconnue comme un mécanisme crucial dans la lutte contre les maladies des plantes (**Montealegre et al., 2003 ; Islam et Hossain, 2012**).

D'autres rhizobactéries stimulatrices de la croissance possèdent la capacité de synthétiser des métabolites jouant un rôle crucial dans l'activation des facteurs de germination du pathogène ou dans la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité, tels que les toxines. Par exemple, certaines bactéries peuvent parasiter et dégrader les spores des pathogènes en produisant des enzymes qui détruisent la barrière cellulaire (**Whips, 2001**).

III.3.2. Dépistage préliminaire de l'activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien des isolats rhizosphériques sélectionnés selon leur pouvoir antifongique a été déterminé en mesurant les diamètres des zones d'inhibition des trois bactéries pathogènes formées autour des spots bactériens et des disques d'actinomycètes après 24 heures d'incubation (Figure 16 et 17).

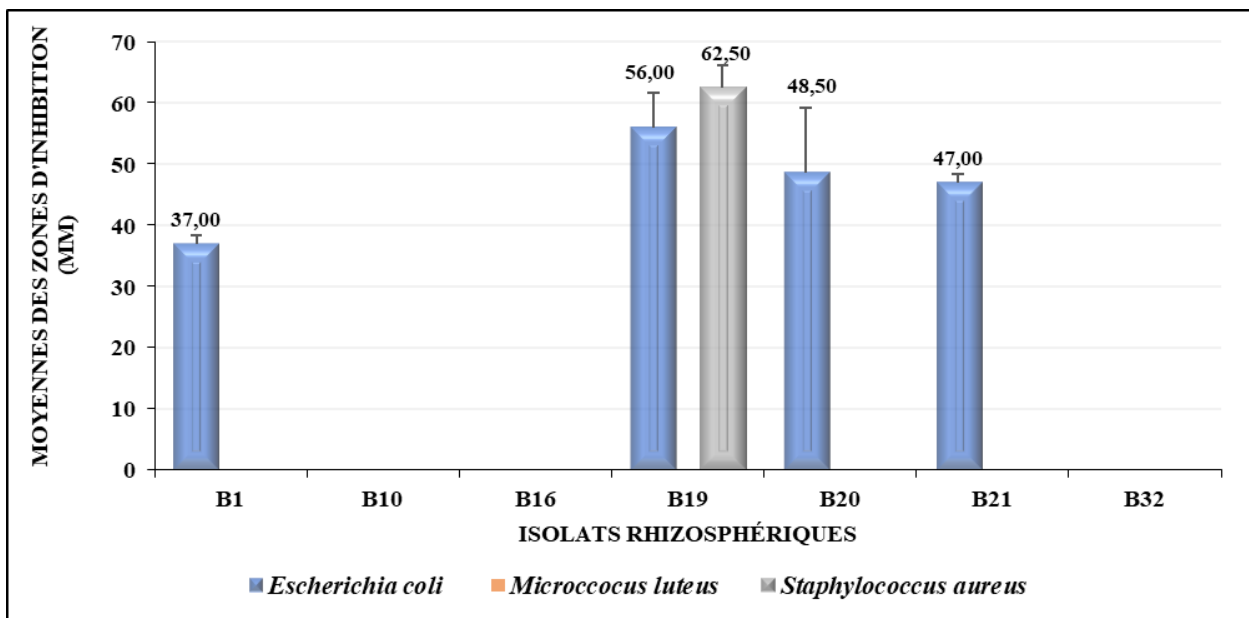


Figure 16. Résultats du criblage préliminaire contre les trois bactéries pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

Les résultats ont montré que seuls les isolats B1, B19, B20 et B21 avaient une activité antibactérienne. Les 4 isolats étaient actifs contre *Escherichia coli* avec des moyennes des zones d'inhibition atteignant les 56 mm obtenus par l'isolat B19, *Staphylococcus aureus* était uniquement sensible à l'isolat B 19 avec une moyenne des zones d'inhibition de 62.5 mm. La bactérie *Micrococcus luteus* quant à elle était résistante à tous les isolats rhizosphériques.

Plusieurs études telles que celles de (Tistechok et al., 2021) et celle de Singh et Singh en (2021), ont révélé l'efficacité des *Streptomyces* rhizosphériques à inhiber différentes bactéries pathogènes. Selon (Fikri et al., 2018), Parmi les 25 bactéries isolées à partir des différentes feuilles de plusieurs plantes, 8 isolats avaient des caractéristiques antibactériennes, dont 1 isolat B30b avait démontré une activité inhibitrice contre toutes les bactéries pathogènes, avec la plus grande zone d'inhibition (26 mm) observée contre *S. aureus*, les 7 autres isolats B2c, B9a, B17b, B11a, B2a, B7a et B7b ont démontré une activité contre *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et d'autres bactéries. Selon

d'autres études, il a été démontré que les bactéries à Gram positive sont les plus sensibles aux molécules que les bactéries à Gram négatives.

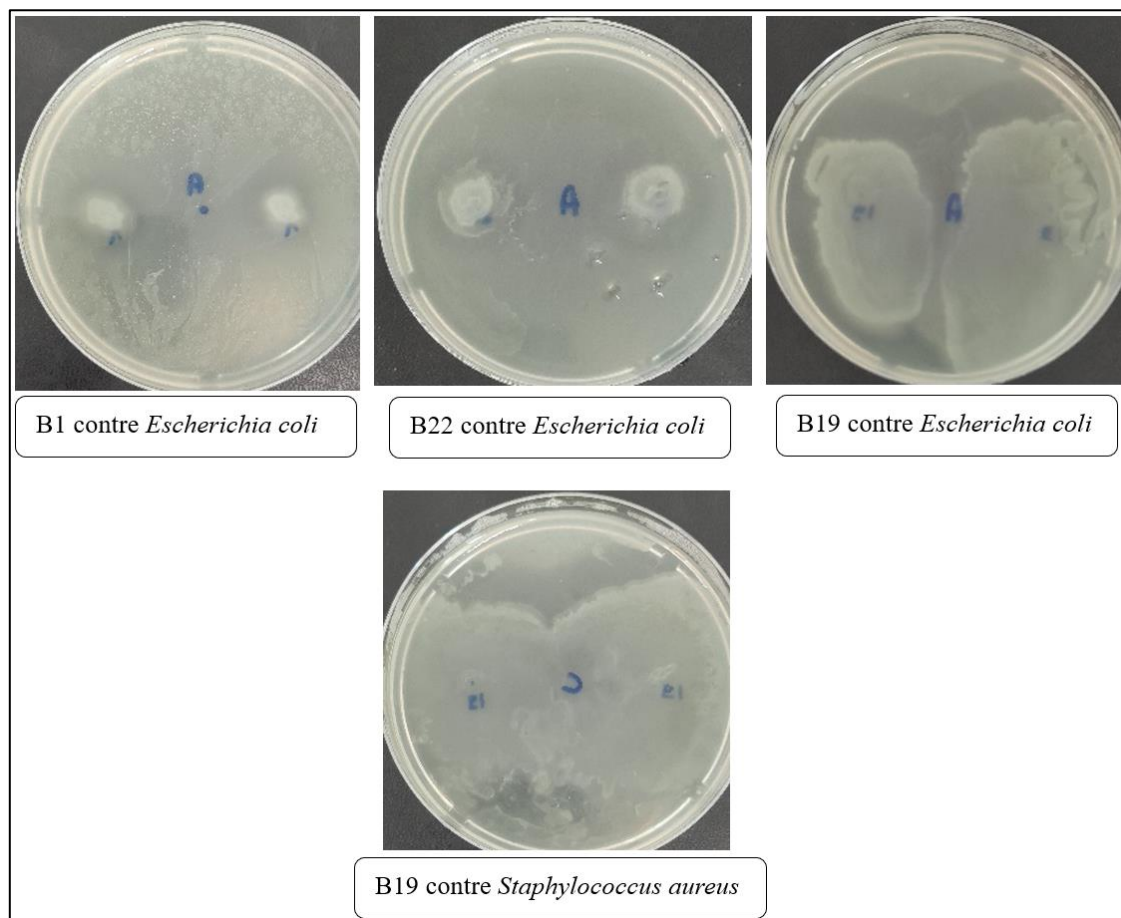


Figure 17. Photos montrant l'effet antagonisme de quelques isolats rhizosphériques contre les trois bactéries pathogènes.

Selon **Srivibool et Sukchotiratana (2006)**, l'absence d'activité antibiotique contre certaines bactéries ne signifie pas nécessairement une absence ou une faible activité de la substance, mais peut être due à une diffusion inefficace dans le milieu de la molécule actif. Elle peut également être due à ce que le pouvoir de production de certaines molécules bioactives dépend de la composition et de la concentration des composants du milieu de culture (**Reghioua et al., 2006**).

III.4. Activité antifongique des extraits de l'isolat d'actinomycète

Selon les résultats présentés dans la **figure 18** que l'extrait obtenu après extraction à l'n-hexane était actif contre les 3 champignons phytopathogènes. Le plus grand effet a été observé contre *Alternaria alternata* avec une moyenne des zones d'inhibition de 24 mm, suivi de *Fusarium*

oxysporum et *Ulocladium botrytis* avec des moyennes de 22 mm et 21,5 mm respectivement. L'extrait obtenu après extraction au méthanol était actif uniquement contre un seul champignon *Fusarium oxysporum* avec une moyenne des zones d'inhibition de 15 mm. En revanche l'extrait d'acétate d'éthyle n'a montré aucune activité inhibitrice contre les trois champignons testés.

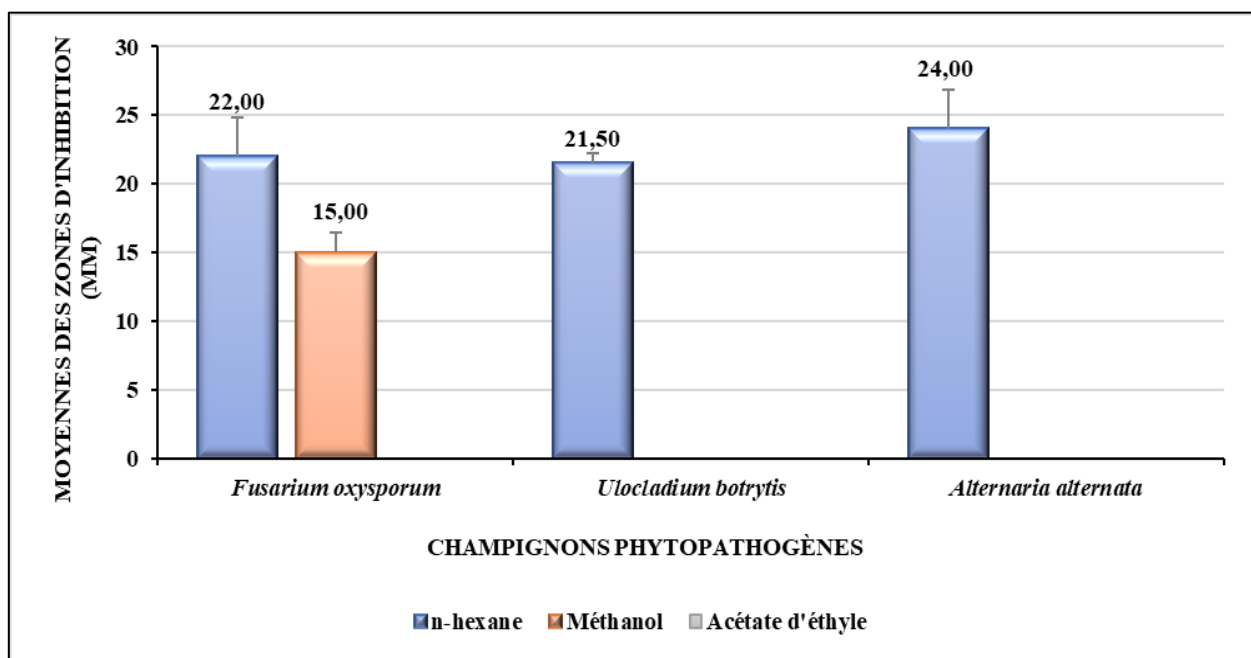


Figure 18. Activité antibactérienne des différents extraits de l'isolat B32 contre les microorganismes pathogènes. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD.

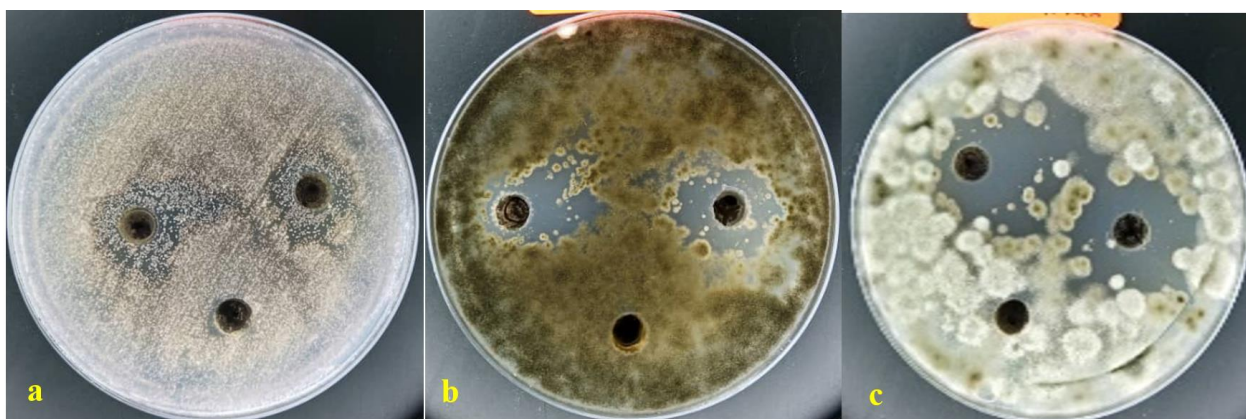


Figure 19. Photos montrant l'activité antifongique de l'extrait de n-hexane de l'isolat B32.

(a): *Fusarium oxysporum*, (b): *Ulocladium botrytis*, (c): *Alternaria alternata*.

Les résultats obtenus sont variables, ils montrent un effet inhibiteur important contre certains champignons, alors que d'autres sont restés résistants, ceci se traduit par une variété dans

les zones d'inhibitions et s'explique par la différence entre les champignons phytopathogènes utilisés ainsi que le solvant utilisé (**Lemriss et al., 2003**).

Des résultats proches des nôtres ont été obtenus avec différentes autres études telles que celle de (**Arasu et al., 2014**), où l'extrait de n-hexane d'un actinomycète isolé des sols forestiers a montré une activité efficace contre les champignons phytopathogènes testés. Parmi les microorganismes testés par (**Niyason et al., 2015**), les extraits méthanoïques des différentes espèces d'actinomycètes ayant été isolés à partir des échantillons de sol tourbeux en Thaïlande ont montré une bonne activité contre les différents champignons testés avec un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp de 50%. Cependant aucune activité antifongique n'a été obtenue avec les extraits d'acétate d'éthyle.

D'autres études ont révélé que les extraits d'acétate d'éthyle de 15 espèces de *Streptomyces* spp, isolées à partir des sols de tomates en Égypte (**Abdel-Aziz et al., 2021**), et de 12 souches d'actinomycètes isolées de la rhizosphère de *Mikania micrantha* (**Han et al., 2018**) possédaient une activité contre certains champignons phytopathogènes. Ils ont considéré l'éthyle acétate comme étant le meilleur extracteur de molécules antifongiques.

L'une des caractéristiques essentielles des actinomycètes est leur capacité à fabriquer une multitude de substances intéressantes, y compris les molécules antifongiques. Elles sont responsables de la production des deux tiers des molécules bioactives (**Madigan et Martinko, 2007**). Plusieurs chercheurs ont employé des solvants organiques de diverses polarités afin d'extraire ces composés bioactifs (**Niyasom et al., 2015**). Par ailleurs, selon (**Williams et Asher, 1996**), les différences entre les taux d'inhibition des champignons phytopathogènes testés suggèrent que le mode d'action et/ou le type des métabolites peuvent varier même si les mêmes solvants sont utilisés.

III.5. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche B32

Afin d'explorer l'activité enzymatique de la souche B32, divers milieux contenant différents substrats ont été évalués (**tableau II**).

Tableau II. Indices enzymatiques obtenus par l'isolat B32. Chaque valeur représente la moyenne des deux essais \pm SD

	Protease	Cellulase	Amylase
Indices enzymatiques	1,67 \pm 0,07	2,13 \pm 0,65	00

L'observation après 5 jours d'incubation confirme une activité cellulolytique sur une gélose contenant uniquement du CMC comme seule source de carbone et d'énergie. L'ajout de Lugol révèle un halo clair autour de la colonie d'actinomycète, indiquant la dégradation de la cellulose et confirmant la présence de cellulases, avec un indice de 2.13 (**Figure 20**). Pour l'activité protéolytique, l'apparition d'une zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine, avec un indice de 1.67 (**Figure 21**). En revanche, l'absence d'activité amylolytique est soulignée par l'absence de zone claire autour des colonies, indiquant que l'isolat B32 ne secrète pas d'amylase à l'extérieur de ses cellules (**Figure 22**).

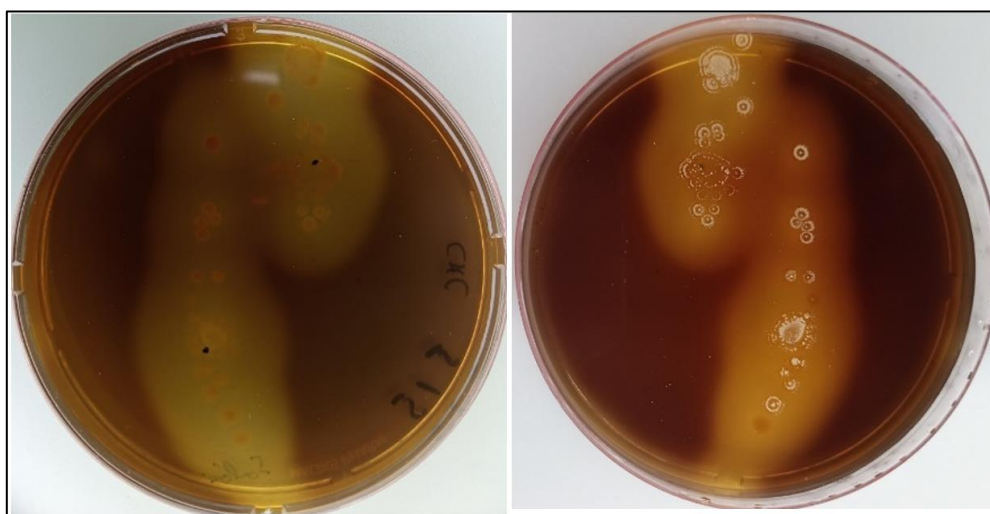


Figure 20. Résultat de l'activité cellulolytique de l'isolat B32, après 5 jours d'incubation.

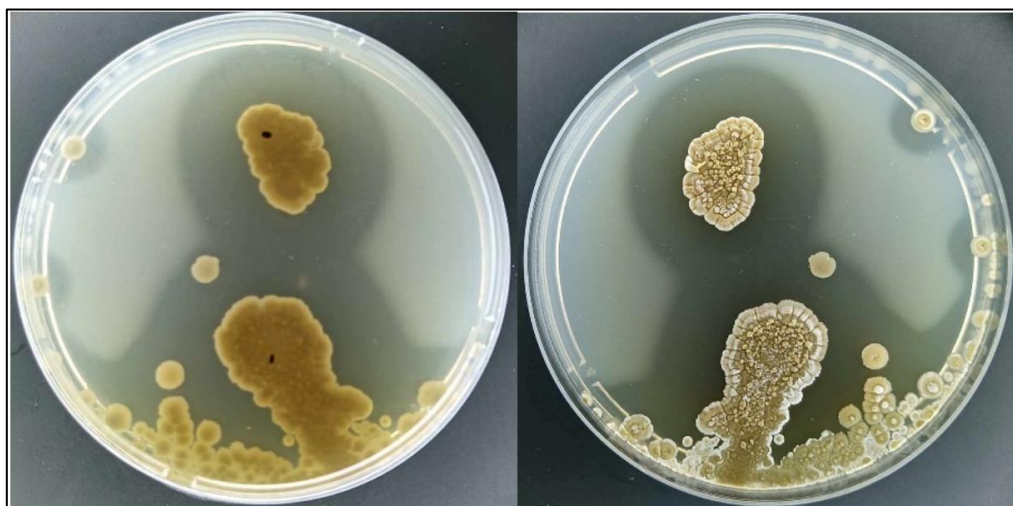


Figure 21. Résultat de l'activité protéolytique de l'isolat B32 après 5 jours d'incubation.

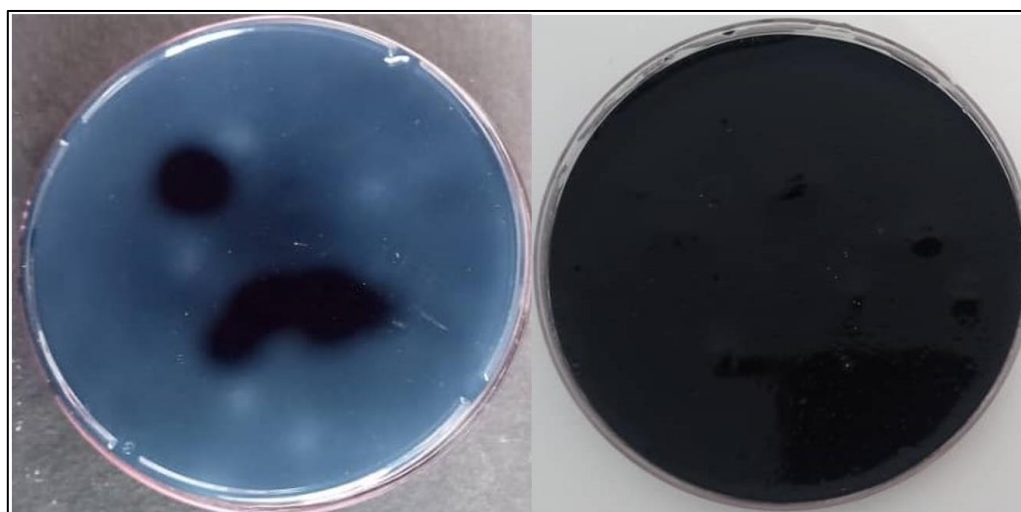


Figure 22. Résultat de l'activité amylolytique de l'isolat B32, après 5 jours d'incubation.

Nos résultats concordent avec ceux de **Gulve et Deshmukh (2011)**, qui ont démontré que des isolats appartenant aux genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Saccharopolyspora* produisent des enzymes protéolytiques sur des milieux à base de lait écrémé. La même chose pour **(Gontia-Mishra et al.,2016)**, ayant indiqué une absence totale d'activité amyliolytique chez une autre souche d'actinomycète. Une production maximale de cellulase chez *Streptomyces drozdowiczii* a également été observé sur un milieu contenant 10% de CMC par **(de Lima et al.,2005)**.

Nos résultats diffèrent des conclusions de **Rodrigues (2006)**, concernant les activités enzymatiques des actinobactéries. En effet, **Rodrigues** a mis en évidence que l'activité amylasique prédomine parmi les 188 souches étudiées, contrairement à nos observations où cette activité était

absente. Ils divergent également de ceux rapportés par **(Dinesh et al.,2015)** observé une activité amylasique chez 25% et 27% des souches d'actinomycètes. En contraste, **(Tabli et al.,2014)**, ainsi que **(Nabti et al.,2014)**, ont noté une activité positive pour ce test chez 100% des actinomycètes examinés.

Les enzymes, produites par les souches de bio-contrôle de PGPR agissent comme des agents de défense biologique en ciblant spécifiquement les pathogènes et en dégradant leurs parois cellulaires. Ces enzymes incluent la déshydrogénase, les chitinases, la β -glucanase, les protéases, les phosphatases et les lipases. Leur action contribue à protéger les plantes contre divers pathogènes tels que *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora sp* et *Rhizoctonia solani* **(Raafat et Sahl, 2009 ; Hakim et al., 2021)**. De plus, des espèces comme *Bacillus cereus* et *Bacillus cepacia* produisent des enzymes telles que l'amylase, la β -1,3-glucanase, la cellulase, la protéase, la xylanase et la lipase, qui ciblent et dégradent les parois cellulaires de divers microorganismes pathogènes présents dans le sol **(Hakim et al., 2021)**. La protéase est reconnue pour son rôle dans la dégradation de la paroi cellulaire des champignons. Cette observation est en accord avec les conclusions de **Naik et Sakyhivel (2006)**, qui ont démontré que la souche PUP6 produit des protéases dotées d'une activité CWDE (cell wall degrading enzymes).

Conclusion et perspectives

Conclusion

Le but de ce travail était dans un premier temps d'isoler les bactéries rhizosphériques à partir du sol rhizosphérique de la plante *Artemisia herba alba*. En deuxième lieu testé leur pouvoir antimicrobien contre des champignons phytopathogènes isolés à partir des tomates et des grains de blé ainsi que contre des bactéries pathogènes pour l'homme, car et dans une approche de recherche de nouvelles molécules naturellement bioactives, l'utilisation des bactéries rhizosphériques s'avère prometteuse.

A partir du sol rhizosphérique, un total de 50 isolats microbiens ont été isolés, 49 étaient des bactéries, alors que le dernier et selon les observations macroscopiques et microscopiques il s'est avéré que c'est un actinomycète. Pour le deuxième isolement concernant les champignons phytopathogènes, après stérilisation de surface des grains de blé et des tomates, trois représentants des morphotypes isolés ont été sélectionnés. Les observations macroscopiques et microscopiques nous a permis de les identifier en tant que *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* et *Ulocladium Botrytis*.

Le dépistage de l'activité antifongique des 50 isolats a été réalisé contre les trois champignons phytopathogènes. 17 isolats étaient actifs contre au moins l'un des phytopathogènes. Les isolats B10 et B21 ont obtenu les meilleurs résultats contre *Ulocladium botrytis*, tandis que contre *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum*, l'isolat B32 et B16 étaient les plus actifs respectivement. Contre les bactéries pathogènes, seuls les isolats B1, B19, B20 et B21 ont présenté les résultats les plus prometteurs. Suite à l'observation de l'activité antagoniste contre les champignons phytopathogènes, nos recherches se sont focalisées ensuite sur l'isolat d'actinomycète B32. Après fermentation et extraction avec trois solvants de polarité différentes, le test a révélé que l'extrait de n-hexane était celui qui a donné la meilleure activité car il a présenté le spectre d'action le plus large et été actif contre les trois phytopathogènes.

La production des enzymes amylase, cellulase et protéase par l'isolat B32 a été dépisté. Cet isolat s'est distingué par sa production d'une cellulase et une protéase. Par contre, elle n'a présenté aucune activité détectable concernant la dégradation de l'amidon.

Les perspectives de ce présent travail sont multiples et les principales peuvent être résumées comme suit :

- ❖ Identifier les isolats rhizosphériques moléculairement.

- ❖ Explorer d'autres activités enzymatiques de l'isolat B32.
- ❖ Identifier les molécules extraites par des techniques telles que la CCM et la HPLC.
- ❖ Élargir notre champ d'étude en évaluant l'effet antagoniste sur d'autres champignons phytopathogènes et d'autres bactéries pathogènes.

Références bibliographiques

Références et bibliographiques

- Abdel-Aziz, M. S., Ghareeb, M. A., Hamed, A. A., Rashad, E. M., El-Sawy, E. R., Saad, I. M., & Ghoneem, K. M. (2021). Ethyl acetate extract of *Streptomyces* spp. isolated from Egyptian soil for management of *Fusarium oxysporum*: The causing agent of wilt disease of tomato. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102185.
- Adss, I. A., El-Shahmy, S. S., & Amer, G. M. (2022). Differentiation between Tomato *Fusarium* Wilt Isolates by ISSR Markers and Virulence Analysis. *Journal of the Advances in Agricultural Researches*, 27(4), 723-731.
- Al-Askar, A. A., Ghoneem, K. M., Rashad, Y. M., Abdulkhair, W. M., Hafez, E. E., Shabana, Y. M., & Baka, Z. A. (2014). Occurrence and distribution of tomato seed-borne mycoflora in Saudi Arabia and its correlation with the climatic variables. *Microbial biotechnology*, 7(6), 556-569.
- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in microbiology*, 8, 971.
- Amer, A., Hamdy, B., Mahmoud, D., Elanany, M., Rady, M., Alahmadi, T., & AlAshaal, S. (2021). Antagonistic activity of bacteria isolated from the *Periplaneta americana* L. gut against some multidrug-resistant human pathogens. *Antibiotics*, 10(3), 294.
- Amri, M., Rjeibi, M. R., Gatrouni, M., Mateus, D. M., Asses, N., Pinho, H. J., & Abbes, C. (2023). Isolation, identification, and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from Tunisian soils. *Microorganisms*, 11(3), 783.
- Andriambololona, T. (2010). Etude biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe. P5-10.
- Arasu, M. V., Rejiniemon, T. S., Al-Dhabi, N. A., Durairandiyar, V., Agastian, P., Huxley, V. A. J., ... & Choi, K. C. (2014). In vitro antimicrobial potential of organic solvent extracts of novel actinomycetes isolated from forest soil. *African Journal of Biotechnology*, 13(18).
- Arcand, M. M., & Schneider, K. D. (2006). Plant-and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 78, 791-807.
- Asgher, M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252, 399-413.
- Attrassi, K., Selmaoui, K., Touhami, A. O., Badoc, A., & Douira, A. (2005). Biologie ET physiologie des principaux agents fongiques de la pourriture des pommes en conservation et lutte chimique par l'azoxystrobine. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 144(1-2), 47-62.
- Aurélié, L. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. *MéDIAN-Biophotonique et Technologies pour la santé, université de Reims champagne-Ardenne, FRE CNRS, 3481*, 16-19.
- Bach, H. J., & Munch, J. C. (2000). Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biology and Fertility of Soils*, 31, 219-224.
- Bano, S. A., & Iqbal, S. M. (2016). Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 4, 2319-1473.
- Bastide, A., De Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., & Duménil, G. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology*, 2, 453-466.

- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, *13*(3), 1140.
- Benamrane, Z., & Maouchi, Y. (2017).** Isolement de bactéries halophiles à activité antagoniste et essai dans le biocontrôle de *Botrytis cinerea* sur la courgette (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Benmati M. (2014).** PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 185p.k.
- Berg, G. (2009).** Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, *84*(1), 11-18.
- Berthier, J., & Valla, G. (1998).** Moisissures-mycotoxines et aliments : du risque à la prévention. *Université Claude Bernard, Lyon*, 05-20.
- Bönisch, D., Hunziker, L., & Weisskopf, L. (2014).** Les bactéries de la rhizosphère freinent la croissance de l'agent du mildiou. *Recherche agronomique suisse*, 430.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpen J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y and Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. *Collection Biotechnologies* : 34-428.
- Carrim, A. J. I., Barbosa E.C. and Gonçalves V. J.D. (2006).** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49: 353-35
- Chabasse D., Bouchara J.P, De Gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation biologie médicale*. Éd. Bioforma. No 25. Paris.160p.
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009).** Interactions of *Bacillus* spp. And plants–with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological research*, *164*(5), 493- 513.
- David, H. and McNear, J. R. (2013).** The rhizosphere - roots. Soil and everything in between. *Nature education knowledge* 4 (3): 1.
- De Lima, A. L. G., do Nascimento, R. P., da Silva Bon, E. P., & Coelho, R. R. R. (2005).** Streptomyces drozdowiczii cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme and Microbial Technology*, *37*(2), 272-277.
- De Salamone, I. G., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. (2005).** Role of cytokinins in plant growth promotion by rhizosphere bacteria. PGPR: biocontrol and biofertilization. Springer, *the Netherlands*, 173-195.
- Dif, M. M., & Fatima zohra, D. (2023).** Antimicrobial Properties and Physical Characteristics of Essential Oil Extracted from *Artemisia herba alba* Collected in El Bayadh, Algeria. *bioRxiv*, 2023-04.
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Bini, Y. K., Subila, K. P., & Aravind, R. (2015).** Isolation, characterization, and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects on ginger. *Microbiological research*, *173*, 34-43.
- Djemouai, N., Meklat, A., Gaceb-Terrak, R., Yocef, K. O. H., Nacer, A., Mokrane, S., & Verheecke-Vaessen, C. (2022).** Biological activities of *Streptomyces* sp. BTS40 isolated from the rhizosphere of *Artemisia herba-alba* Asso. *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, *29*(1), 7-14.

Dufresne, P. (2021). Identification des champignons d'importance médicale-Stage de laboratoire Philippe Dufresne.

FAOSTAT ,2010. L'alimentation et l'agriculture (FAO). FAOSTAT. Disponible en ligne à : <http://fao.org/default.aspx>.

FAOSTAT ,1999 L'alimentation et l'agriculture (FAO). FAOSTAT. Disponible en ligne à : <http://fao.org/default.aspx>.

Fikri, A. S. I., Rahman, I. A., Nor, N. S. M., & Hamzah, A. (2018, April). Isolation and identification of local bacteria endophyte and screening of its antimicrobial property against pathogenic bacteria and fungi. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1940, No. 1). AIP Publishing.

Gacem, M. A. (2011). *Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de Citrullus colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké* (Doctoral dissertation).

Ghiasian S.A., Bacheh P. K., Rezayat S. M., Maghsoud A. H., Taherkhani H. (2004). Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*158: 113–121.

Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A., & Tiwari, S. (2016). Alleviation of mercury toxicity in wheat by the interaction of mercury-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35, 1000-1012.

Gulve R.M. and Deshmukh A.M. (2011). Enzymatic activity of actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Reserch in Science and technology*.3 (5), 80-83.

Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., & Imran, A. (2021). Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 617157.

Han, D., Wang, L., & Luo, Y. (2018). Isolation, identification, and the growth promoting effects of two antagonistic actinomycete strains from the rhizosphere of Mikania micrantha Kunth. *Microbiological research*, 208, 1-11.

Han, J., Sun, L., Dong, X., CAI, Z., Sun, X., Yang, H. ... & Song, W. (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain Delftia tsuruhatensis HR4 as both a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Systematic and applied microbiology*, 28(1), 66-76.

Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and soil*, 312, 7-14.

Hassan, W., Bano, R., Bashir, F., & David, J. (2014). Comparative effectiveness of ACC-deaminase and/or nitrogen-fixing rhizobacteria in promotion of maize (*Zea mays* L.) growth under lead pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 10983-10996.

Hellal, Z. (2011). *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus)* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Hinsinger, P. (2010). Les racines au cœur du fonctionnement de la rhizosphère, Des connaissances pointues issues de la recherche aux applications possibles en AB (Montpellier SUPAGRO - CIRAD - INRA - IRD), Alter Agri 101 : 8-20.

Hu, L., Robert, C. A., Cadot, S., Zhang, X. I., Ye, M., Li, B., ... & Erb, M. (2018). Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature communications*, 9(1), 2738.

- Huang, X. F., Chaparro, J. M., Reardon, K. F., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. (2014).** Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany*, 92(4), 267-275.
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2011).** Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22(3-4), 401-407.
- Islam, M. T., & Hossain, M. M. (2012).** Biological control of peronosporomycete phytopathogen by bacterial antagonist. *Bacteria in agrobiolology: disease management*, 167-218.
- Jones J. J., Zitter T. A., Momol T. M. & Miller S. A. (2014).** Early Blight. Dans *Compendium of Tomato Diseases and Pests*. 2e éd. APS Press. *The American Phytopathological Society Press*, St-Paul, Minnesota. p. 23-25.
- Jourdan, E., Ongena, M., & Thonart, P. (2008).** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *BASE*.
- Ju, W., Jin, X., Liu, L., Shen, G., Zhao, W., Duan, C., & Fang, L. (2020).** Rhizobacteria inoculation benefits nutrient availability for phytostabilization in copper contaminated soil: drivers from bacterial community structures in rhizosphere. *Applied soil ecology*, 150, and 103450.
- Khamna, S., Yokota, A., & Lumyong, S. (2009).** Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 649-655.
- Kloepper, J. W., Gutierrez-Estrada, A., & McInroy, J. A. (2007).** Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(2), 159-167.
- Kumari, B., Mallick, M. A., Solanki, M. K., Solanki, A. C., Hora, A., & Guo, W. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): modern prospects for sustainable agriculture. *Plant Health under Biotic Stress: Volume 2: Microbial Interactions*, 109-127.
- Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., ... & Boiron, P. (2003).** Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian journal of microbiology*, 49(11), 669-674. actino plus importante.
- Lepinay, C. (2013).** *Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).
- Madigan, M., & Martinko, J. (2007).** Brock. Biologie des micro-organismes. 11 e édition. *Person Education France*, 599-60.
- Manoharachary, C. (2006).** *Microbial activity in the Rhizosphere* (Vol. 7). Gulf Professional Publishing.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. M. L. M., & Mora, M. L. (2010).** Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.
- Messaoudi, O., Wink, J., & Bendahou, M. (2020).** Diversity of actinobacteria isolated from date palms rhizosphere and saline environments: Isolation, identification and biological activity evaluation. *Microorganisms*, 8(12), 1853.
- Mezaache S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre, Thèse, Université Ferhat Abbas, Sétif.

- Montealegre, J. R., Reyes, R., Pérez, L. M., Herrera, R., Silva, P., & Besoain, X. (2003).** Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6(2), 115-127.
- Morris, P. F., Connolly, M. S., & St Clair, D. A. (2000).** Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPDs. *Mycological Research*, 104(3), 286-292.
- Mouafek, A. (2010).** *La symbiose à rhizobia chez la fève (Vicia faba L.) et La luzerne (Medicago sativa L.) dans la région de Biskra* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- Mukhtar, S., Mehnaz, S., Mirza, M. S., & Malik, K. A. (2019).** Isolation and characterization of bacteria associated with the rhizosphere of halophytes (*Salsola stocksii* and *Atriplex amnicola*) for production of hydrolytic enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50, 85-97.
- Munees A, Mulugetakibret. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University-Science*, January Volume 26, Issue 1, p 1-20.
- Mwajita, M. R., Murage, H., Tani, A., & Kahangi, E. M. (2013).** Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *SpringerPlus*, 2, 1-9.
- Nabti, E., Bensidhoum, L., Tabli, N., Dahel, D., Weiss, A., Rothballer, M., & Hartmann, A. (2014).** Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *European Journal of Soil Biology*, 61, 20-26.
- Nadji, W., Djekoun, A. (2017).** *Effet de l'inoculation des céréales par les PGPR et les mycorhizes en condition de déficit hydrique* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Naik, P. R., & Sakthivel, N. (2006).** Functional characterization of a novel hydrocarbonoclastic *Pseudomonas* sp. strain PUP6 with plant-growth-promoting traits and antifungal potential. *Research in Microbiology*, 157(6), 538-546.
- Niyasom, C., Boonmak, S., & Meesri, N. (2015).** Antimicrobial activity of acidophilic actinomycetes isolated from acidic soil. *KTMITL Science Technology J*, 15, 62-69.
- Novello, G., Bona, E., Toumatia, O., Vuolo, F., Bouras, N., Titouah, H., & Gamalero, E. (2023).** Rhizosphere Bacterial Isolation from Indigenous Plants in Arid and Semi-Arid Algerian Soils: Implications for Plant Growth Enhancement. *Processes*, 11(10), 2907.
- Orole, O. O., & Adejumo, T. O. (2009).** Activity of fungal endophytes against four maize wilt pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 3(12), 969-973.
- Pacin A.M., González H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S. (2002).** Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87–92.
- Podile, A., & Kishore, G. (2006).** Plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant-associated bacteria*, 195-230.
- Qureshi, M. A., Ahmad, Z. A., Akhtar, N., Iqbal, A., Mujeeb, F., & Shakir, M. A. (2012).** Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1), 204-210.
- Raafat, D., & Sahl, H. G. (2009).** Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *Microbial biotechnology*, 2(2), 186-201.
- Rabhin.H. (2011).** Isolement de *Pseudomonas* spp. Fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels, Magistère, Université Ferhat Abbas, Setif.

Raj, S. V., Raja, A. K., Vimalanathan, A. B., Tyagi, M. G., Shah, N. H., Justin, N. J. A., ... & Sathiyaseelan, K. (2009). Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. *Recent Research in Science and Technology*, 1(1).

rajam Srividya, A., Sangai Palanisamy Dhanabal, V., & Vishnuvarthan, J. (2012). Mutagenicity/antimutagenicity of plant extracts used in traditional medicine: a review. *World J Pharma Res*, 2, 236-59.

Rakotoarimanga, N., Zananirina, J., Ramamonjisoa, D., & Ramanankierana, H. (2014). Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(3).

Ramanujam, J. R., & Kulothungan, S. (2011). A Novel Approach to Intrude Secondary Metabolites of *Pseudomonas fluorescens* as a Biocontrol Substance against *Alternaria alternata*. *IUP Journal of Biotechnology*, 5(4).

Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Oulmi, L., Kitouni, M., Boudemagh, A., & Boulahrouf, A. (2006). Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien. *Antibiotiques*, 8(3), 147–152. [https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(06\)70814-7](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(06)70814-7).

Richardson, A. E., & Simpson, R. J. (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant physiology*, 156(3), 989-996.

Rodrigues K. (2006). Identificação, produção de antimicrobianos e complexos enzimáticos de isolados d'actinomicetos. MSc Dissertation. Agricultural and Environmental Microbiology Post-Graduation. Universidade Federal Rio Grande do Sul, Brazil. p. 129.

Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319-339.

Sadfi-Zouaoui, N., Essghaier, B., Hajlaoui, M. R., Fardeau, M. L., Cayaol, J. L., Ollivier, B., & Boudabous, A. (2008). Ability of moderately halophilic bacteria to control grey mould disease on tomato fruits. *Journal of Phytopathology*, 156(1), 42-52.

Sahani, K., Thakur, D., Hemalatha, K. P. J., & Ganguly, A. (2017). Antibacterial activity of endophytes from selected medicinal plants. *International Journal of Advanced Research*, 5(3), 2076-86.

Séverine Lopez. (2018). Déterminisme de la diversité bactérienne rhizosphérique des hyper accumulateurs de nickel, Biodiversité et Écologie, Thèse doctorat, Université de Lorraine, 22.

Singh, A., & Singh, P. (2021). Production of bioactive compounds by *Streptomyces* sp. and their antimicrobial potential against selected MDR uropathogens. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 9(6), 71-79.

Srivibool, R., & Sukchotiratana, M. (2006). Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils: A new source of antimicrobial producers. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 28, 493-499.

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M. S. I., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102-117.

Tabli, N., Nabti, E. H., Dahel, D., Mokrane, N., Manyani, H., Dary, M., & Megias, M. G. (2014). Impact of diazotrophic bacteria on germination and growth of tomato, with bio-control effect, isolated from Algerian Soil. *Journal of Ecology of Health & Environment*, 1, 1-7.

Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines (Doctoral dissertation).

- Tistechok, S. I., Tymchuk, I. V., Korniychuk, O. P., Fedorenko, V. O., Luzhetskyy, A. M., & Gromyko, O. M. (2021).** Genetic identification and antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. strain Je 1–6 isolated from rhizosphere soil of *Juniperus excelsa* Bieb. *Cytology and Genetics*, *55*, 28-35.
- Toffa D.D. (2015).** Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la république du Niger les moisissures toxigènes. Thèse de doctorat. Discipline : biologie spécialité : mycologie-environnement. Université mohammed V, Faculté des sciences Rabat.
- Van Loon, L. C. (2007).** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research*, 243-254.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016).** Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. *Molecules*, *21*(5), 573.
- Vessey, J. K. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*, 571-586.
- Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022).** The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied sciences*, *12*(3), 1231.
- Wan, Y., Huang, Q., Wang, Q., Yu, Y., Su, D., Qiao, Y., & Li, H. (2020).** Accumulation and bioavailability of heavy metals in an acid soil and their uptake by paddy rice under continuous application of chicken and swine manure. *Journal of hazardous materials*, *384*, 121293.
- Wenli, S. U. N., & Shahrajabian, M. H. (2024).** Survey on nitrogenase evolution by considering the importance of nitrogenase, its structure, and mechanism of nitrogenase. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *52*(1), 13157-13157.
- Whips,j. M. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere.journal of experimental botany *52*,487 -511.
- Whitlow, L. W., & Hagler, W. M. (2001, October).** Mycotoxin contamination of feedstuffs-An additional stress factor for dairy cattle. In *North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec.*
- Wilkinson, S., Kudoyarova, G. R., Veselov, D. S., Arkhipova, T. N., & Davies, W. J. (2012).** Plant hormone interactions: innovative targets for crop breeding and management. *Journal of experimental botany*, *63*(9), 3499-3509.
- Williams, G. E., & Asher, M. J. C. (1996).** Selection of rhizobacteria for the control of *Pythium ultimum* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings. *Crop Protection*, *15*(5), 479-486.
- Wilson, D. M., Mubatanhema, W., & Jurjevic, Z. (2002).** Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns. *Mycotoxins and food safety*, 3-17.
- Yang, J., Sun, C., Zhang, Y., Fu, D., Zheng, X., & Yu, T. (2017).** Induced resistance in tomato fruit by γ -aminobutyric acid for the control of alternaria rot caused by *Alternaria alternata*. *Food Chemistry*, *221*, 1014-1020.
- Zahir, Z. A., Muhammad Arshad, M. A., & Frankenberger, W. J. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture.

Annexe

Annexe

Milieux de culture

❖ Milieu PDA

Pomme de terre.....	200g
Agar –agar	17g
Glucose	20g
H ₂ O distillé.....	1000ml

❖ Milieu ISP2

Extrait de levure	4g
Extrait de malt.....	10g
Glucose.....	4g
H ₂ O distillé.....	1000ml

❖ La gélose à la cellulose

Cellulose	0.5 g
NaNO ₃	0.1 g
K ₂ HPO ₄	0.1 g
MgSO ₄	0.05 g
Extrait de levure.....	0.05 g
Agar	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

❖ La gélose de Gause

KNO ₃	1.0 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
Amidon	20.0 g
Agar	30.0 g
Eau distillée	1000 ml

❖ **La gélose au lait écrémé**

Peptone	10 g
NaCl	5 g
Extrait de levure	3 g
Agar	20g
Lait écrémé	50ml
Eau distillée	1000 ml

الملخص

بعض البكتيريا والفطريات الموجودة في منطقة الجذور (الجذور النباتية) يمكن أن تؤثر على التحكم في مسببات الأمراض ونمو النباتات. في إطار هذه دراسة التي أجريت على الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور لنبات الشبح (*Artemisia herba alba*)، تم عزل 50 عينة ميكروبية (49 بكتيريا و 1 اكتينوبكتيريا) بهدف تقييم قدرتها على إنتاج مركبات حيوية نشطة مفيدة لصحة الإنسان والزراعة. تم فحص النشاط المضاد للفطريات لهذه العينات ضد ثلاث فطريات *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium* و *Alternaria alternata* والتي عزلت من القمح والطماطم على التوالي. أظهرت النتائج أن 17 عينة أظهرت نشاط مثبط ضد الفطريات الممرضة للنبات لوحظ مع العينة B32 تثبيط قوي بنسبة 63.63% ضد *Alternaria alternata* بعد ذلك، تم اختيار تسعة من العينات الأكثر نشاطاً لتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد *Escherichia coli* و *Micrococcus luteus* و *Staphylococcus aureus*، مما أظهر نشاطاً ملحوظاً ضد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، حيث بلغ متوسط قطر التثبيط 62.50 مم و 56.00 مم على التوالي. مستخلصات العينة B32 التي تم الحصول عليها بعد التخمر وإستخلاصها بواسطة مذيبات مختلفة، أظهرت نشاطاً كبيراً ضد الفطريات من مستخلص n-hexane، الذي كان نشطاً ضد الفطريات الممرضة الثلاثة حيث بلغ قطر التثبيط 21.5 مم و 22 مم و 24 مم ضد *Fusarium oxysporum*، *Ulocladium botrytis* و *Alternaria alternata* على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، كشفت الإختبارات الإنزيمية أن العينة B32 أظهرت نشاطاً لتحليل السليلوز والبروتينات مع مؤشرات إنزيمية بلغت 2.13 و 1.67 على التوالي، ولكن لم يظهر أي نشاط لتحليل النشا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الجذرية، الطبقة الجذرية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط الإنزيمي، التنافسية.

Résumé

Certaines bactéries et champignons de la rhizosphère peuvent influencer le contrôle des agents pathogènes et la croissance des plantes. Dans le cadre d'une cette étude menée sur les microorganismes rhizosphériques de *Artemisia herba alba*, un total de 50 isolats microbiens (49 bactéries et 1 actinobactérie) ont été isolés dans le but d'évaluer leur potentiel de production de composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine et l'agriculture. L'activité antifongiques de ces isolats a été criblé contre trois champignons phytopathogènes, *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata*, isolés respectivement du blé et de la tomate. Les résultats ont montré que 17 des isolats ont présenté une activité inhibitrice significative contre les champignons phytopathogènes, notamment une forte inhibition de 63,63% contre *Alternaria alternata*, observée avec l'isolat B32. Par la suite, neuf des isolats les plus actifs ont été sélectionnés pour évaluer leur activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*, démontrant une activité notable contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition moyennes respectives de 62,50 mm et 56,00 mm. Les extraits de l'isolat B32 obtenu après fermentation et l'extraction avec différents solvants a montré une activité antifongique prometteuse de l'extrait de n-hexane qui était actif contre les trois champignons phytopathogènes avec des zones d'inhibition de 21,5 mm, 22 mm et 24 mm observée contre *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*, respectivement. De plus, les tests enzymatiques ont révélé que l'isolat B32 présentait une activité cellulolytique et protéolytique avec respectivement des indices enzymatiques de 2.13 et 1.67 mais pas d'activité amylolytique.

Mots clés : Rhizosphère, PGPR, Antagonisme, activité antimicrobienne, activité enzymatique.

Abstract

Some bacteria and fungi in the rhizosphere can influence pathogen control and plant growth. In this study conducted on rhizospheric microorganisms of *Artemisia herba alba*, a total of 50 microbial isolates (49 bacteria and 1 actinobactérie) were isolated to evaluate their potential for producing bioactive compounds beneficial for human health and agriculture. The antifungal activity of these isolates was screened against three phytopathogenic fungi, *Fusarium oxysporum*, *Ulocladium botrytis*, and *Alternaria alternata*, isolated respectively from wheat and tomato. Results showed that 17 isolates exhibited significant inhibitory activity against phytopathogenic fungi, notably a strong inhibition of 63.63% against *Alternaria alternata*, observed with isolate B32. Subsequently, nine of the most active isolates were selected to evaluate their antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, and *Staphylococcus aureus*, demonstrating notable activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with respective average inhibition zones of 62.50 mm and 56.00 mm. Extracts from isolate B32 obtained after fermentation and extraction with different solvents showed promising antifungal activity of the n-hexane extract, which was active against all three phytopathogenic fungi with inhibition zones of 21.5 mm, 22 mm, and 24 mm observed against *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum*, and *Alternaria alternata*, respectively. Furthermore, enzymatic tests revealed that isolate B32 exhibited cellulolytic and proteolytic activity with enzymatic indices of 2.13 and 1.67 respectively but no amylolytic activity.

Keywords: Rhizosphere, PGPR, Antagonism, antimicrobial activity, enzymatic activity.