



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 بوعرييرج

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 :

**Evaluation de l'activité antimicrobienne des bactéries
associées à la partie rhizosphérique d'une plante médicinale**

Présenté par :

MHAMDIA KAOUTHAR & ZOUAOU ZAHRA

Soutenu le __ / __ / 2024, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Présidente :	M ^{me} . TAMINE Milouda	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mr. SADRATI Nouari	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice :	M ^{me} . IRATNI Nadjat	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Allah le Tout-Puissant de nous avoir donné la force et la patience.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur **SADRATI Nouari** pour son encadrement, ses conseils et ses encouragements. Nous vous sommes infiniment reconnaissantes.*

*Nous exprimons notre gratitude aux membres du jury, en particulier à Madame **TAMINE Milouda** pour avoir accepté de présider ce jury, et à Madame **IRATNI Nadjat** pour avoir accepté d'examiner ce document.*

Nous adressons également nos sincères remerciements aux dames

*- **ZERROUG Amina***

*- **GAHFIF Wahiba***

pour leur précieuse assistance dans la réalisation pratique de ce travail.

N'oublions pas de remercier toutes les personnes qui nous ont soutenues et encouragées tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude envers nos familles, et particulièrement envers nos parents, pour leur soutien indéfectible tout au long de notre parcours.

Zahra et Kawthar

Dédicace

*À la plus belle créature que dieu ait créé sur terre, ma chère mère, **Aida Labachi**, ta présence à mes cotes a toujours été ma source de force pour affronter les différentes obstacles. Merci pour l'amour que tu m'as donné.*

*À la chose la plus précieuse que j'aie, celle m'a donné la vie, mon cher père, **Zouaou Rabah**, que a été mon ombre tout au long de mes années d'études, et que s'est sacrifié pour mon*

bonheur et ma réussite, Merci.

À mon pilier constant et à la sécurité de mes jours, et mon soutien, celui que

*Renforcé mon bras, mon frère (**Yacoub**)*

À tous les autres membres de ma chère famille, je suis reconnaissant pour

Chaque moment passé à vos cotes, pour chaque conseil que

Vous m'avez donné

À mon binôme Kawthar j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

Zahra

Dédicace

À mes chers parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et

J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Je dédie ce travail à mes chers sœurs, qui donné l'amour et la joie.

À Mon binôme Zahra j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

Kawthar

SOMMMAIRE

المخلص.....	I
Résumé.....	II
Abstract.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des abréviations.....	VI

Introduction

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I. Synthèse bibliographique

I.1. les champignons phytopathogènes.....	3
I.1.1. <i>Alternaria alternata</i>	3
I.1.1.1. Alternariose.....	3
I.1.1.1.1. Les dégâts causés par l'alternariose.....	4
I.1.1.1.2. Les symptômes.....	4
I.1.2. <i>Fusarium oxysporum</i>	5
I.1.2.1. La fusariose.....	5
I.1.2.1.1. Fusariose de collet et brûlure de l'épi de blé.....	5
I.1.2.1.2. Les symptômes.....	6
I.1.3. <i>Ulocladium botrytis</i>	6
I.2. La Lutte biologique.....	7
I.3. Sol et rhizosphère.....	7
I.3.1. Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....	7
I.3.1.1. Mécanismes d'action des PGPR.....	8
I.3.1.1.1. Mécanismes directs.....	9
I.3.1.1.1.1. Fixation biologique d'azote.....	9
I.3.1.1.1.2. La solubilisation du phosphate.....	9
I.3.1.1.1.3. Solubilisation du potassium.....	9
I.3.1.1.1.4. Production d'hormones de la croissance.....	10
I.3.1.1.1.5. Production des sidérophores.....	10
I.3.1.1.2. Mécanismes indirects.....	10
I.3.1.1.2.1. Compétition.....	10
I.3.1.1.2.2. Antibiose.....	11
I.3.1.1.2.3. Production des enzymes lytiques.....	11
I.3.1.1.2.4. Résistance systématiques induite (ISR).....	11
I.3.1.2. Caractéristiques d'un PGPR idéal.....	12
I.4. La plante médicinale.....	12
I.4.1. <i>Rosmarinus officinalis</i>	13
I.4.1.1. Répartition géographique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	13
I.4.1.2. Utilisations traditionnelles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	13

Partie II. Matériel et Méthodes

II.1. Produits chimiques et milieu de culture.....	15
II.2. Matériel biologique.....	15
II.2.1. Souches bactériennes.....	15

II.2.2. Souches fongiques.....	15
II.2.3. Matériel végétal.....	15
II.3. Echantillonnage.....	16
II.4. Isolement, purification et conservation des bactéries.....	16
II.4.1. Isolement des bactéries.....	16
II.4.2. Purification et conservation des isolats bactériens.....	17
II.5. Isolement et purification des champignons phytopathogènes.....	17
II.6. Identification de champignons phytopathogènes.....	18
II.7. Dépistage préliminaire d'activité antimicrobienne.....	19
II.7.1. Criblage d'isolats bactériens contre les champignons phytopathogènes (méthode de double couche).....	19
II.7.2. Criblage de l'activité antibactérienne.....	19
II.7.2.1. Méthode de double couche.....	20
II.7.2.2. Méthode de diffusion par cylindres d'agar.....	20
II.8. Fermentation et extraction sur milieu solide.....	20
II.9. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle contre les bactéries et champignons pathogènes.....	21

Partie III. Résultats et discussion

III. Résultats et discussion.....	22
III.1. Isolement et purification des bactéries.....	22
III.2. Isolement et identification des champignons phytopathogènes.....	24
III.2.1. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des champignons phytopathogènes.....	24
III.2.1.1. <i>A. alternata</i>	24
III.2.1.1.1. Identification macroscopique.....	24
III.2.1.1.2. Identification microscopique.....	25
III.2.1.2. <i>F. oxysporum</i>	25
III.2.1.2.1. Identification macroscopique.....	25
III.2.1.2.2. Identification microscopique.....	25
III.2.1.3. <i>U. botrytis</i>	25
III.2.1.3.1. Identification macroscopique.....	25
III.2.1.3.1. Identification microscopique.....	25
III.3. Test antagoniste contre les champignons phytopathogènes.....	27
III.4. Dépistage de l'activité antimicrobienne.....	30
III.4.1. Technique des cylindres d'agar.....	30
III.4.2. Technique de la double couche.....	32
III.5. Activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle.....	33
III.5.1. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle.....	33
III.5.2. Activité antifongique des extraits d'acétate d'éthyle.....	36
Conclusion.....	40
Références bibliographiques.....	42

المخلص

الغرض من هذه الدراسة هو عزل البكتيريا الجذرية من نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* من أجل تقييم نشاطها البيولوجي كبديل للمضادات الحيوية و مضادات الفطريات التقليدية. بعد إجراء فحص أولي يعتمد علي شدة التثبيط، نطاق النشاط و النمط الشكلي، تم إختيار ستة عزلات لمواصلة الدراسة. أظهرت العزلتين B24 و B50 نشاطاً مضاداً للفطريات هو الابرز ، حيث أظهرت العزلة B24 نسب تثبيط بلغت 48,81% ضد *Ulocladium botrytis*، و 49,08% ضد *Alternaria alternata*، بينما أظهرت العزلة B50 نسب تثبيط بلغت 47,37%، و 54,92%، و 73,19% علي التوالي ضد *Ulocladium botrytis*، *Fusarium oxysporum*، و *Alternaria alternata*. في المقابل، أظهرت العزلات B19، B05، B26، و B37 نشاطاً أقل فعالية. أظهرت الفحوصات الأولية للنشاط المضاد للبكتيريا أن العزلات B41، B26، B24، و B41 كانت نشطة ضد بكتيريا واحدة علي الأقل من البكتيريا المختبرة، و أظهرت العزلة B24 نشاطاً بارزاً ضد البكتيريا الثلاثة. بعد الاستخلاص، تم تقييم النشاطية المضادة للمكروبات لمستخلصات الأسيتات الإيثيلي بواسطة طريقة الحفر . كان مستخلص العزلة B26 نشطاً ضد البكتيريا الثلاثة مع مناطق تثبيط تتراوح بين 23 و 24,5 mm التي تم الحصول عليها بواسطة العزلة B24 ضد *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* علي التوالي، ولم يُلاحظ أي نشاط للعزل B50. بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، تم الحصول علي أعلى الانشطة بواسطة مستخلص العزل B50 (mm24) ضد *Alternaria alternata* و مستخلص العزل B24 الذي أظهر مناطق تثبيط بلغت 20,25 و 21,5 mm ضد *Alternaria alternata* و *Ulocladium botrytis* علي التوالي، بينما كان *Fusarium oxysporum* هو الأكثر مقاومة . لم يُظهر مستخلص العزل B26 أي نشاط مضاد للفطريات . تُظهر نتائج هذه الدراسة أن العزلات الجذرية المدروسة قادرة علي أن تكون مصدرًا واعدًا للمستقلبات الثانوية النشطة بيولوجيا.

الكلمات المفتاحية : الفطريات النباتية الممرضة ، PGPR ، *Rosmarinus officinalis*، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للفطريات.

Résumé

Le but de cette étude est d'isoler les bactéries rhizosphériques de *Rosmarinus officinalis* afin d'évaluer leurs activités biologiques comme alternative aux antibiotiques et antifongiques traditionnels. Après un criblage préliminaire basé sur l'intensité de l'inhibition, le spectre d'activité et le morphotype, six isolats ont été sélectionnés pour poursuivre l'étude. Les isolats B24 et B50 ont montré une activité antifongique la plus significative ; l'isolat B24 a montré des taux d'inhibition de 48,81 % contre *Ulocladium botrytis*, 42,86 % contre *Fusarium oxysporum* et 49,08 % contre *Alternaria alternata*, tandis que l'isolat B50 a montré des taux d'inhibition de 47,37 %, 54,92 % et 73,19 % respectivement contre *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. En revanche, les isolats B5, B19, B26 et B37 ont montré une activité moins efficace. L'examen préliminaire de l'activité antibactérienne a montré que les isolats B24, B26, B41 et B41 étaient actifs contre au moins une bactérie testée ; et l'isolat B24 a montré une activité remarquable contre les trois bactéries. Après extraction, l'activité antimicrobienne des extraits de l'acétate d'éthyle a été évaluée par la méthode du puits. L'extrait de l'isolat B26 était actif contre les trois bactéries avec des zones d'inhibition comprises entre 23 et 24,5 mm, tandis que les isolats B24 et B41 présentaient une forte activité antibactérienne uniquement contre les bactéries à Gram-positifs, où les meilleures zones d'inhibition étaient de 25,25 et 28 mm obtenues par l'isolat B24 contre *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* respectivement, et aucune activité n'a été observée pour l'isolat B50. Pour l'activité antifongique, les activités les plus élevées ont été obtenues par l'extrait de l'isolat B50 (24 mm) contre *Alternaria alternata*, et l'extrait de l'isolat B24 qui a montré des zones d'inhibition de 20,25 et 21,5 mm contre *Alternaria alternata* et *Ulocladium botrytis* respectivement, tandis que *Fusarium oxysporum* était le plus résistants. L'extrait de l'isolat B26 n'a montré aucune activité antifongique. Les résultats de ces travaux montrent que les isolats rhizosphériques étudiés sont capables d'être une source prometteuse de métabolites secondaires bioactifs.

Mots-clés : Champignons phytopathogènes, PGPR, *Rosmarinus officinalis*, activité antimicrobienne, activité antifongique.

Abstract

The purpose of this study is to isolate rhizospheric bacteria from *Rosmarinus officinalis* to evaluate their biological activities as alternatives to traditional antibiotics and antifungals. After a preliminary screening based on the intensity of inhibition, spectrum of activity, and morphotype, six isolates were selected for further study. Isolates B24 and B50 showed the most significant antifungal activity, the isolate B24 was showed inhibition rates of 48.81% against *Ulocladium botrytis*, 42.86% against *Fusarium oxysporum*, and 49.08% against *Alternaria alternata*, while the isolate B50 was showed inhibition rates of 47.37%, 54.92%, and 73.19% respectively against *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum*, and *Alternaria alternata*. In contrast, the isolates B5, B19, B26, and B37 showed less effective activity. The preliminary examination of antibacterial activity showed that isolates B24, B26, B41, and B41 were active against at least one tested bacterium, and isolate B24 showed remarkable activity against all three bacteria. After extraction, the antimicrobial activity of ethyl acetate extracts was evaluated by the well diffusion method. The extract of isolate B26 was active against all three bacteria with inhibition zones ranging from 23 to 24.5 mm, while isolates B24 and B41 exhibited strong antibacterial activity only against Gram-positive bacteria, with the best inhibition zones being 25.25 and 28 mm obtained by isolate B24 against *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus* respectively, and no activity was observed for isolate B50. For antifungal activity, the highest activities were obtained by the extract of isolate B50 (24 mm) against *Alternaria alternata*, and the extract of isolate B24 which showed inhibition zones of 20.25 and 21.5 mm against *Alternaria alternata* and *Ulocladium botrytis* respectively, while *Fusarium oxysporum* was the most resistant. The extract of isolate B26 showed no antifungal activity. The results of this work indicate that the studied rhizospheric isolates are capable of being a promising source of bioactive secondary metabolites.

Keywords: Phytopathogenic fungi, PGPR, *Rosmarinus officinalis*, antimicrobial activity, antifungal activity.

Liste des figures

Figure 1. Différentes actions des PGPR sur les plantes.....	8
Figure 2. Présentation générale des deux modes directs et indirects des PGPR.....	8
Figure 3. Isolement des bactéries par la méthode de dilution décimale.....	17
Figure 4. Méthode d'isolement des champignons phytopathogènes à partir de grains de blé et de fruits de tomates.....	18
Figure 5. Aspect macroscopique des colonies bactériennes après purification.....	22
Figure 6. Isolement des champignons phytopathogènes à partir des grains de blé (a) et des fruits de Tomate (b).....	24
Figure 7. Aspects macroscopique et microscopique des champignons phytopathogènes. A: <i>Fusarium oxysporum</i> , B: <i>Alternaria alternata</i> , C: <i>Ulocladium botrytis</i>	26
Figure 8. Pourcentages d'inhibition des phytopathogènes par les isolats bactériens.....	27
Figure 9. Activité antagoniste obtenue par les isolats bactériens B24 et B50.....	29
Figure 10. Criblage préliminaire de l'activité antibactérienne.....	30
Figure 11. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.....	31
Figure 12. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode de double couche.....	32
Figure 13. Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits.....	33
Figure14. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des puits.....	34
Figure 15. Activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits.....	37
Figure 16. Quelques photos représentent l'activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits.....	38

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

BN : bouillon Nutritif

CCLS : Coopération céréales et légumes sec

CMI : Concentration Minimal inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

FCR : *Fusarium* Crown Rot

FHB : *Fusarium* Head Blight

FOSC: *Fusarium oxysporum* species complexes

GN: Gélose nutritive

ISP2: International *Streptomyces* Project.

AIA: Acide indole 3-acétique

PDA: Potato Dextrose Agar

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

RAS : Résistances acquises systématiques

RSI : Résistances systématiques induite

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes font constamment face à une diversité de microorganismes pathogènes présents dans leur environnement, tels que les bactéries, les champignons et les virus, qui causent des maladies contribuant significativement à la diminution globale des rendements agricoles à travers le monde (Cáceres et *al.*, 2017 ; Peng et *al.*, 2021). Parmi ces agents pathogènes, les champignons représentent les menaces biologiques les plus sévères, entraînant des effets néfastes sur la qualité et la quantité des cultures, et causant ainsi d'importants dommages aux cultures agricoles. En réponse à une infection fongique, on observe une diminution significative de l'activité physiologique des plantes et de la concentration en chlorophylle. De plus, cette infection entraîne un déséquilibre dans la circulation de l'eau et des nutriments dans les organes de la plante, perturbant ainsi les processus de croissance et conduisant à une maladie généralisée dans la plante. *Alternaria* et *Fusarium* sont parmi les pathogènes fongiques les plus notoires (Soliman et *al.*, 2023) ; ces champignons sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques appelés les mycotoxines (Leyva Salas et *al.*, 2017). Bien que l'application de fongicides chimiques soit la méthode la plus répandue pour prévenir les maladies fongiques, ces produits présentent plusieurs inconvénients, notamment des coûts élevés et des impacts potentiels sur l'environnement et la santé humaine. De plus, l'utilisation continue de ces pesticides a conduit à la résistance des phytopathogènes.

L'émergence des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques représente un défi croissant pour la santé publique. Cette résistance est souvent due à l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques chez les humains et les animaux, ainsi qu'à la transmission de gènes de résistance entre différentes souches bactériennes. Ces bactéries résistantes rendent les traitements antibiotiques moins efficaces, entraînant des complications médicales graves et augmentant les taux de morbidité et de mortalité. Il est essentiel de mettre en œuvre des stratégies de prévention et de contrôle de la résistance aux antibiotiques, telles que la promotion de l'utilisation responsable des antibiotiques, le développement de nouveaux antibiotiques et la mise en place de mesures d'hygiène rigoureuses pour limiter la propagation des bactéries résistantes (Larsson et *al.*, 2022).

L'utilisation d'antagonistes microbiens pour le contrôle biologique offre une alternative fiable, efficace et respectueuse de l'environnement pour la gestion des maladies fongiques. Avec la préoccupation croissante des consommateurs concernant les risques pour la santé associés aux

produits chimiques, tels que l'indigestibilité ou les allergies, il y a une demande accrue pour une réduction de l'utilisation de ces substances dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (Soliman et *al.*, 2023).

Les PGPR, ou rhizobactéries promoteurs de la croissance des plantes, jouent un rôle crucial dans la stimulation de la croissance des plantes et la lutte contre les champignons phytopathogènes. Ces microorganismes bénéfiques colonisent les racines des plantes et interagissent avec leur hôte de manière symbiotique. Ils favorisent la croissance des plantes en fournissant des nutriments essentiels, en augmentant l'absorption des nutriments du sol et en produisant des hormones de croissance végétale telles que les auxines. De plus, les PGPR produisent des métabolites antimicrobiens qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes, réduisant ainsi le risque de maladies. Leur utilisation en tant qu'agent de lutte biologique offre une alternative écologique et durable aux pesticides chimiques, contribuant ainsi à la santé des plantes et à une agriculture plus durable (Leyva Salas et *al.*, 2017 ; Cáceres et *al.*, 2017).

Afin de répondre à cette problématique, notre étude actuelle se base sur l'hypothèse selon laquelle les microorganismes présents dans les effluents du sol rhizosphérique des plantes médicinales pourraient manifester un pouvoir antagoniste à l'encontre des champignons phytopathogènes et des bactéries pathogènes. Par conséquent, notre objectif principal de recherche est d'évaluer l'activité antimicrobienne des PGPR contre ces organismes, offrant ainsi une alternative aux produits chimiques. Ces isolats bactériens ont été obtenus à partir de la plante *Rosmarinus officinalis*, collectée dans la région de Zamora, Bordj Bou Arreridj.

Partie I. Synthèse bibliographique

I.1. Les champignons phytopathogènes

Les champignons sont largement répandus dans les écosystèmes et jouent un rôle crucial. On estime qu'il existe entre 2,2 et 3,8 millions d'espèces de champignons dans le monde (Crous et *al.*, 2018). Les champignons phytopathogènes sont des organismes eucaryotes dépourvus de chlorophylle, et leurs structures somatiques ramifiées, appelées hyphes, leur permettent de se reproduire à la fois de manière sexuée et asexuée en produisant des spores et d'autres structures. La dispersion des spores par l'air et l'eau peut se faire sur de longues distances, de même qu'elles peuvent se propager par le sol. Ils sont responsables de graves maladies végétales pouvant avoir un impact négatif sur la productivité des cultures. Certains de ces champignons sont également documentés en tant que pathogènes opportunistes chez l'homme, pouvant causer des infections chez les individus immunodéprimés (Sharma, 2021 ; Salvatore et Andolfi, 2021). Ils utilisent toute une gamme de stratégies biochimiques et mécaniques pour infecter leur hôte afin d'accéder aux nutriments et produisent des mycotoxines sur la culture, ce qui représente un risque considérable pour la santé humaine et animale.

I.1.1. *Alternaria alternata*

Ce champignon pathogène, responsable de taches sur les feuilles de tomate ainsi que de pourritures et de flétrissures sur différentes parties des plantes, affecte plus de 380 espèces végétales. Ses effets ont conduit à d'importantes pertes de rendement (Tozlu et *al.*, 2018) . Il s'agit d'un champignon filamentaire saprophyte cosmopolite, largement répandu et présent dans l'eau ainsi que dans différents substrats tels que le sol, les plantes, la matière organique, les textiles, le plâtre ou le bois (Wang et *al.*, 2021)

I.1.1.1. Alternariose

L'alternariose est une maladie cryptogamique répandue chez la tomate à l'échelle mondiale, causant d'importantes pertes économiques en réduisant les rendements. Elle est principalement provoquée par les espèces *Alternaria solani* et *Alternaria alternata* (Milet et Kacem Chaouche, 2017) . Les symptômes de l'alternariose sont facilement reconnaissables, se manifestant par des lésions nécrotiques sur les feuilles, principalement concentriques et souvent entourées de tissu chlorotique jaune (Belosokhov et *al.*, 2017).

I.1.1.1.1. Les dégâts causés par l'alternariose

Les maladies causées par *Alternaria* affectent près de 400 espèces végétales, en particulier *A. Alternata*, qui infecte près de 100 plantes, y compris les fruits, les légumes et les herbes. Il est bien établi que dans les régions où la rosée, les pluies et l'humidité relative sont élevées, les maladies causées par *Alternaria* sont plus fréquentes et les plus destructrices. Cette espèce est particulièrement associée à des maladies chez les hôtes solanacées (Ismail et al., 2023). Le brûleur précoce, provoqué par deux espèces ascomycètes étroitement liées (*A. solani* et *A. alternata*), représente l'une des maladies les plus courantes des tomates. Ces maladies détruisent les pigments photosynthétiques, entraînant une réduction significative de la croissance et une diminution de la quantité de chlorophylle dans les feuilles infectées, ce qui affecte la photosynthèse (Nehela et al., 2023). Elles sont également responsables de maladies post-récolte dans diverses cultures, provoquant des taches foliaires et des moisissures sur les plantes hôtes (Zhang et al., 2023).

I.1.1.1.2. Les symptômes

L'apparition de symptômes chlorotiques et nécrotiques sur les parties aériennes de la plante, tels que feuilles flétries, taches foliaires, points noirs, cancers de tronc, pourriture des fruits et moisissures, caractérise les manifestation de l'infection. Les symptômes économiquement importants comprennent des lésions sur les tiges des plantes adultes et la pourriture des fruits, entraînant parfois une réduction du rendement pouvant atteindre jusqu'à 79%. Les lésions sur les tiges peuvent également entraîner des pertes de plantes de l'ordre de 20% à 40%. Une forte infestation par la brûlure alternarienne peut provoquer une défoliation complète et d'importantes pertes de récoltes en peu de temps (Martinko et al., 2022; Al-Nadabi et al., 2018 ; Loganathan et al., 2016). L'attaque de la maladie commence par l'apparition de petites taches foliaires d'environ 1 mm de diamètre sur les tiges et les feuilles, qui deviennent rapidement brunes à noires. Ces taches peuvent être plus ou moins rondes, parfois angulaires le long des nervures, et présentent souvent des motifs concentriques, donnant l'impression d'une cible. Un halo jaune entoure souvent ces taches, et à mesure qu'elles s'étendent, des anneaux concentriques plus foncés peuvent apparaître. Finalement, les taches se nécrosent (Zabouri, 2021).

I.1.2. *Fusarium oxysporum*

Dans le complexe d'espèces de *Fusarium oxysporum* (FOOSC), il existe plus de 106 formes spéciales connues qui infectent plus de 100 hôtes différents, provoquant le flétrissement vasculaire. Ces agents pathogènes sont présents dans le sol, peuvent survivre pendant de longues périodes, résistent souvent aux traitements chimiques et peuvent rapidement évoluer pour surmonter la résistance de l'hôte, entraînant parfois la mort totale et la perte de cultures (Hudson et al., 2021). Toutes les spores produites par le *Fusarium oxysporum*, telles que les macroconides, les microconidies et les chlamydospores, contiennent des noyaux provenant des hyphes sur lesquels elles ont été formées. L'absence de phase sexuelle dans ce champignon semble être une caractéristique inhabituelle. Il s'introduit à travers les parois cellulaires des hôtes via de petites ouvertures, potentiellement assisté par des enzymes de dégradation. Le champignon peut également envahir directement la racine en traversant les cellules épidermiques (Gordon, 2017).

I.1.2.1. La fusariose

I.1.2.1.1. La fusariose de collet (FCR) et brûlure de l'épi de blé (FHB)

La fusariose est l'une des principales maladies du blé, affectant tous les organes de la plante. Ce terme englobe trois types distincts de symptômes : la fusariose des semences, qui entraîne des pertes de levée lors du semis, la fusariose du collet (*Fusarium* Crown Rot - FCR) provoquée par diverses souches de *Fusarium* telles que *F. pseudograminearum* et *F. culmorum*. Elle se manifeste par une nécrose et une pourriture sèche à la base des couronnes de blé et d'orge. Enfin, la fusariose de l'épi (*Fusarium* Head Blight - FHB) est principalement due à des champignons tels que *F. graminearum* groupe II (Bouanaka et al., 2022 ; Mesterhazy, 2024). Entraîner des pertes de rendement considérable dans les champs individuels et réduisent la qualité restante en raison de la présence toxine.

En Algérie, plusieurs affections touchent le blé, entraînant des pertes de rendement ou une dégradation de la qualité des grains. Parmi les plus significatives, on compte la septoriose (causée par *Septoria* spp.), les rouilles (*Puccinia striiformis* et *Puccinia triticina*) et les fusarioses (*Fusarium* spp.). De ces maladies, la pourriture fusarienne du collet (FCR) et la fusariose de l'épi (FHB) sont parmi les plus destructrices et préjudiciables pour le blé (Abdallah-Nekacheet al., 2019 ; Laraba et al., 2017 ; Touati-Hattab et al., 2016)

I.1.2.1.2. Les symptômes

La symptomatologie de l'infection commence avec la germination des spores du champignon sur la plante hôte, formant ainsi un mycélium. Ce dernier parvient à envahir la plante en utilisant des ouvertures naturelles ou des blessures. Initialement invisible, le développement du champignon à l'intérieur de la plante se produit entre les cellules. Dès qu'il atteint les vaisseaux conducteurs, il se propage dans la moelle de la tige et peut se répandre dans toute la plante. Lorsque les hyphes traversent la paroi cellulaire pour pénétrer dans les cellules de l'hôte, cela marque le début des symptômes de la Fusariose de la couronne (FCR). La formation de plaques blanches est plus sévère pendant les saisons humides et dans les climats secs, avec parfois une croissance fongique rose sur les nœuds inférieurs, surtout par temps humide. La FCR peut se manifester de la germination des grains jusqu'à la maturation laiteuse et peut entraîner une diminution du rendement en grains pouvant atteindre jusqu'à 35%. Les signes caractéristiques incluent le brunissement à la base de la tige, ce qui réduit le nombre et la taille des grains, et provoque la mort prématurée de l'inflorescence. Les signes de la Fusariose de l'épi se manifestent dès le stade de la floraison par une décoloration précoce de l'épi. Après avoir pénétré directement ou indirectement, le champignon se propage dans les vaisseaux du rachis, entraînant une forte diminution du rendement et l'accumulation de mycotoxines telles que le déoxynivalénol (DON) et le nivalénol dans les grains (Bouanaka et al.,2022 ; Hu et al.,2022 ; Zheng et al.,2022 ; Matny,2015). Les grains affectés par la Fusariose, tombent au sol. Le blanchiment de certains épillets morts, indirectement infectés, réduit la taille des grains tout en conservant leur couleur normale, ces grains rétrécis et de couleur normale étant situés en haut de la tête (Mesterhazy,2020).

I.1.3. *Ulocladium botrytis*

Ulocladium est un type de champignon appartenant à l'*Ascomycota*, couramment présent dans le sol et les plantes herbacées en décomposition. On le retrouve également sur du papier, des textiles et du bois, où il est souvent considéré comme un contaminant. L'espèce la plus répandue de ce genre est *U. chartarum*, *U. botrytis*, avec une couleur variant du brun olive au noir. Les espèces non endophytes d'*Ulocladium* sont bien connues pour être des agents pathogènes de certaines plantes, notamment des légumes tels que les haricots, la laitue, les pois et les tomates. Certaines de ces espèces causent des maladies de taches foliaires, telles que la brûlure des feuilles qui affecte généralement les extrémités des feuilles d'oignon (Dehghani Bidgoli et al., 2019).

I.2.La lutte biologique

Diverses bactéries de la rhizosphère, également appelées PGPR, représentent des agents de lutte biologique potentiels capables de protéger les plantes contre les maladies tout en améliorant leur santé et leur rendement, ce qui permet de remplacer les engrais et les pesticides/fongicides chimiques. Les genres de bactéries les plus fréquemment étudiés dans le cadre de la lutte biologique comprennent *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Actinobacteria* et *Agrobacterium*. Ces bactéries ont été découvertes pour leur capacité à coloniser les racines et à supprimer de manière significative les agents pathogènes lors de la croissance des plantes (Jiao et al., 2021).

I.3.Sol et rhizosphère

Le sol et la rhizosphère sont des composants essentiels de l'écosystème terrestre, hébergeant une grande diversité et densité de microorganismes. Le sol, bien plus qu'un simple support pour les plantes, constitue un système vivant complexe et un réservoir de nutriments essentiels à leur croissance (Djellout et al., 2019). La rhizosphère, quant à elle, désigne la région du sol située sous les racines des plantes, directement influencée par leur présence. C'est un environnement fertile où les interactions entre les plantes et le substrat minéral sont intenses en raison de sa richesse en éléments nutritifs (Guardiola et al., 2022).

I.3.1. Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les PGPR, ou les bactéries promoteurs de la croissance des plantes, constituent un groupe important de bactéries bénéfiques qui colonisent les racines et se développent dans la rhizosphère et le sol environnant. Elles établissent des interactions complexes et souvent bénéfiques avec le microbiote du sol, contribuant à une variété d'activités écologiquement importantes (Anirban et al., 2021). Ces bactéries sont efficacement en mesure de coloniser la rhizosphère, stimulant les défenses immunitaires des plantes, influant sur l'équilibre hormonal, offrant une protection contre les agents pathogènes et favorisant la mobilisation des nutriments essentiels pour la croissance végétale (Venturi et Keel, 2016) (figure 1).

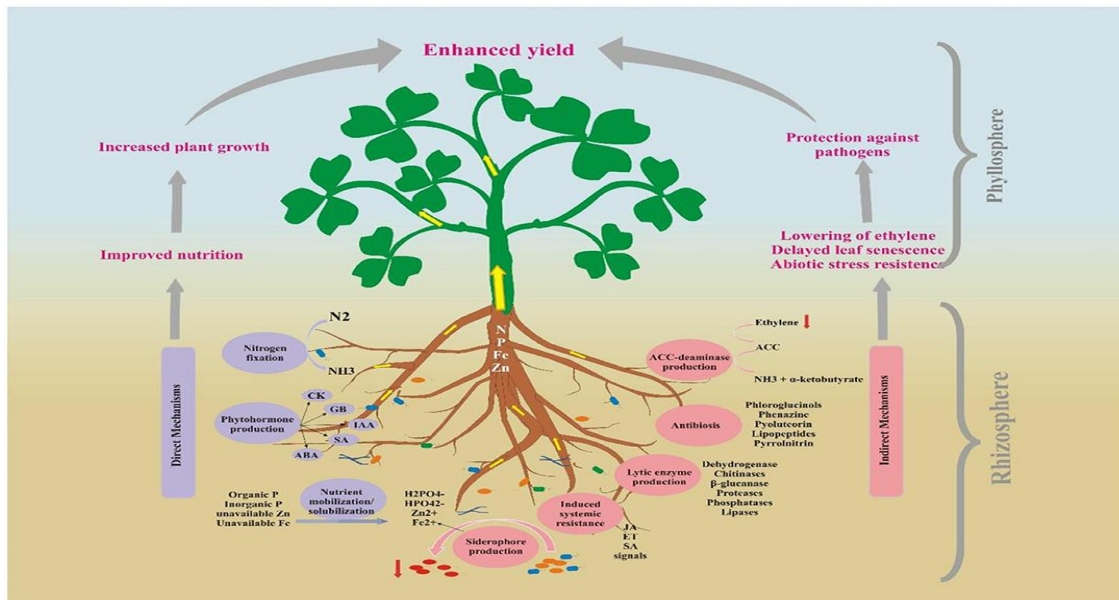


Figure 1. Différentes actions des PGPR sur les plantes (Hakim et *al.*, 2021).

I.3.1.1. Mécanismes d'action des PGPR

Bien que les PGPR constituent la communauté microbienne prédominante dans la rhizosphère, leur implication dans la promotion de la croissance des plantes est active ou passive. Agissant comme des biofertilisants, ils stimulent la croissance et le développement des plantes en facilitant leur tolérance au stress biotique et abiotique, tout en soutenant leur hôte végétal. Les mécanismes par lesquels les PGPR favorisent la croissance des plantes sont généralement classés en modes d'action directs et indirects (figure 2), se produisant respectivement à l'intérieur et à l'extérieur de la plante (Basu et *al.*, 2021).

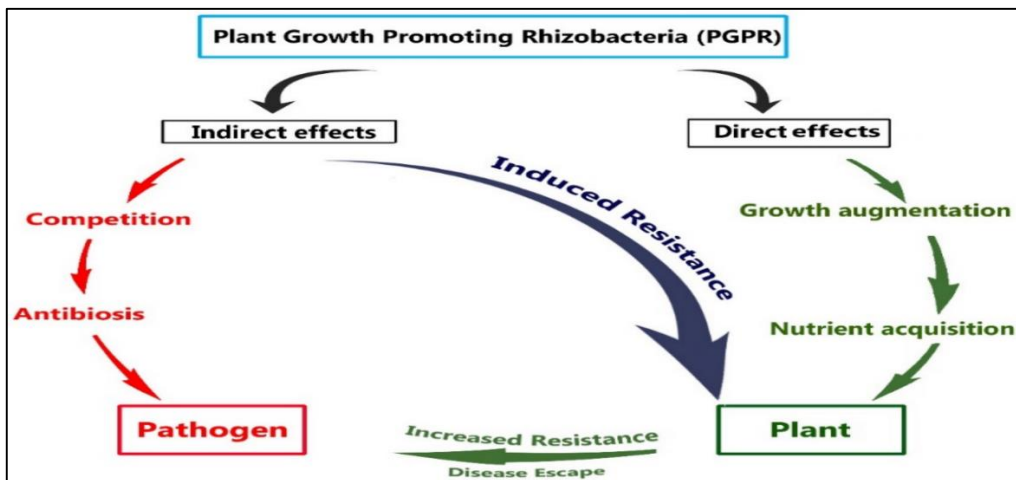


Figure 2. Présentation générale des deux modes directs et indirects des PGPR (Basu et *al.*, 2021).

I.3.1.1.1. Mécanismes directs

Certains PGPR sont capables de stimuler la croissance des plantes même en l'absence d'agents pathogènes. Leurs mécanismes d'action directs comprennent l'amélioration de la nutrition des plantes en fournissant des éléments tels que le phosphore, le potassium, le zinc, le fer et d'autres nutriments minéraux essentiels. De plus, ils stimulent la croissance et le développement des plantes en régulant les niveaux de phytohormones (Kalam et *al.*, 2020 ; Gouda et *al.*, 2018).

I.3.1.1.1.1. Fixation biologique de l'azote

L'azote est un élément nutritif essentiel à la croissance des plantes, jouant un rôle crucial dans leur développement (Tang et *al.*, 2022). Les bactéries fixatrices d'azote ont la capacité d'augmenter la productivité des cultures, offrant ainsi une alternative viable pour réduire la pollution résultant de l'application de produits chimiques, préserver l'environnement et diminuer les coûts de production agricole (Bouras, 2018). Ces micro-organismes fixateurs d'azote peuvent réaliser cette fonction soit de manière autonome, soit en établissant une association symbiotique avec les plantes hôtes (Kawa et Brady, 2022).

I.3.1.1.1.2. La solubilisation du phosphate

Le sol contient une quantité importante de phosphore, environ 1,2 g par kg de sol dans la lithosphère. Cependant, la majorité du phosphate présent dans le sol est insoluble, et les plantes ne peuvent l'assimiler qu'à travers les ions monobasiques (H_2PO_4) et basiques. La solubilisation microbienne du sol est un processus par lequel des micro-organismes produisent des acides organiques qui convertissent les phosphates insolubles en formes solubles, rendant ainsi le phosphore accessible aux plantes (Oleńska et *al.*, 2020).

I.3.1.1.1.3. Solubilisation du potassium

Le potassium constitue le troisième nutriment essentiel à la croissance des plantes, après l'azote et le phosphore (Ding et *al.*, 2021). Parmi les micro-organismes les plus réputés pour leur capacité à solubiliser le potassium, on trouve notamment *Arthrobacter spp.*, *Streptomyces spp* (Etesami et *al.*, 2017). *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Klebsilla*, *Erwinia* (Wang et *al.*, 2020). *Acidotherobacillus spp.*, *Bacillus Edaphicus*, *Ferrooxidans spp.*, *Bacillus mucilaginosus*, *Pseudomonas spp.*, *Burkholderia spp.*, et *Paenibacillus spp* (Dos Santos et *al.*, 2020).

I.3.1.1.1.4. Production d'hormones de croissance (Phytohormones)

Les phytohormones, agissant comme des messagers chimiques, exercent une influence significative sur les fonctions physiologiques des plantes, même à des concentrations minimales. Traditionnellement classées en cinq catégories, comprenant notamment l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines, les acides abscissiques et l'éthylène, ces hormones végétales jouent un rôle crucial dans divers aspects physiologiques (Ole'nska et *al.*, 2020). De plus, d'autres phytohormones telles que les jasmonates, les brassinostéroïdes et les acides salicyliques participent également activement à la croissance et au développement des plantes, notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques (Wong et *al.*, 2015). Par ailleurs, certaines bactéries rhizosphériques sont capables de produire des phytohormones stimulant la croissance des plantes, soulignant ainsi leur rôle crucial dans l'optimisation des processus de croissance végétale. En résumé, les hormones végétales agissent comme des signaux chimiques permettant aux plantes de s'adapter à leur environnement, en réagissant notamment aux divers stress auxquels elles sont confrontées (Maheshwari et *al.*, 2015). Les PGPR sécrètent diverses phytohormones, notamment l'auxine, l'éthylène, les cytokinines, les gibbérellines et l'acide abscissique.

I.3.1.1.1.5. Production des sidérophores

Le fer revêt un rôle essentiel en tant que cofacteur enzymatique dans le métabolisme oxydatif, le transfert d'électrons, la synthèse d'ADN et d'ARN, ainsi que dans la formation des biofilms bactériens (Patel et Minocheherhomji, 2018). Les sidérophores sont synthétisés par certaines bactéries telles qu'*Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Bradyzobium*, *Bacillus*, *Enterbacter* et *Rhizobium*. Leur production confère un avantage compétitif aux PGPR colonisant les racines en excluant d'autres microorganismes de cette niche écologique (Shaikh et Sayyesd, 2015).

I.3.1.1.2. Mécanismes indirects

I.3.1.1.2.1. Compétition

La compétition pour l'espace et les nutriments dans la rhizosphère représente une interaction indirecte où les microorganismes pathogènes rivalisent pour l'accès aux ressources alimentaires et la colonisation physique des sites. Étant donné que la rhizosphère est souvent limitée en nutriments, les microbes parviennent à coloniser et à survivre en occupant les zones où l'eau et les nutriments sont disponibles. Ainsi, pour prospérer dans un tel environnement, les microorganismes sécrètent

des sidérophores, qui ont une forte affinité pour le fer, réduisant ainsi sa disponibilité pour les pathogènes et inhibant leur croissance dans la rhizosphère (Tabassum et *al.*, 2017).

I.3.1.1.2.2. Antibiose

Le mode d'action le plus étudié et le plus puissant contre les microbes pathogènes est généralement la production d'antibiotiques, ce qui représente un mécanisme extrêmement efficace des rhizobactéries pour inhiber les infections pathogènes dans la rhizosphère des plantes (Hakim et *al.*, 2021). Les antibiotiques, produits par les communautés bactériennes, sont des toxines de faible poids moléculaire ayant la capacité de tuer ou de neutraliser d'autres microbes. De plus, plusieurs antibiotiques et toxines ont été identifiés au sein de la population bactérienne résidant dans la rhizosphère (Tabassum et *al.*, 2017).

I.3.1.1.2.3. Production des enzymes lytiques

La sécrétion et la production d'enzymes lytiques constituent des caractéristiques essentielles des agents de lutte biologique contre le développement des microbes pathogènes (Xie et *al.*, 2016; Hakim et *al.*, 2021). Ces enzymes déploient une activité hyperparasitaire en ciblant les agents pathogènes au niveau de leur paroi cellulaire. Par exemple, *Bacillus cereus* et *Bacillus cepacia* produisent une hydrolase qui brise les parois cellulaires de plusieurs microbes pathogènes du sol (Karthika et *al.*, 2020). Grâce à ces enzymes, la plante est protégée contre divers stress biotiques et abiotiques en éliminant les champignons pathogènes tels que *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora* spp. et *Rhizoctonia solani* (Yasmin et *al.*, 2016; Chen et *al.*, 2020).

I.3.1.1.2.4. Résistance systémique induite (ISR)

La résistance systémique induite (RSI) est un mécanisme de défense actif reposant sur les barrières chimiques ou physiques de la plante hôte, stimulé par les PGPR. Distinguer la RSI des résistances acquises systémiques (RAS) n'est pas facile, car les deux utilisent des composés similaires pour combattre les pathogènes. Cependant, afin d'éliminer d'autres agents pathogènes (Tabassum et *al.*, 2017), il est crucial de comprendre leurs différences. Cette immunité est déclenchée lorsque les plantes détectent des molécules appelées « éliciteurs », produites par des microorganismes bénéfiques. Ce processus implique la reconnaissance par la plante des éliciteurs émis par l'organisme inducteur. La RAS se manifeste lorsque la plante est infectée par un agent

pathogène, tandis que la RSI est provoquée par les PGPR pour protéger les plantes contre les maladies (Rehman et *al.*, 2020).

I.3.2. Caractéristiques d'un PGPR idéal

Une souche rhizobactérienne est qualifiée de PGPR potentiel si elle possède des caractéristiques spécifiques favorisant la croissance des plantes. Pour être considérée comme idéale, une PGPR devrait satisfaire aux critères suivants :

- Elle doit être hautement compétente dans la rhizosphère tout en respectant l'environnement.
- Après inoculation, elle devrait coloniser les racines des plantes en nombre significatif.
- Elle devrait activement favoriser la croissance des plantes.
- Elle devrait présenter un large spectre d'action.
- Elle devrait être compatible avec les autres bactéries présentes dans la rhizosphère.
- Elle devrait tolérer les facteurs physico-chimiques tels que la chaleur, la dessiccation, les radiations et les oxydants.
- Elle devrait démontrer une compétitivité supérieure par rapport aux communautés bactériennes rhizosphériques existantes (Basu et *al.*, 2021).

I.4.La plante médicinale

C'est un moyen de soins de santé populaire dans de nombreux pays, en particulier dans les pays sous-développés ou reculés. Les plantes médicinales sont utilisées pour traiter ou soulager diverses maladies (Hu et *al.*, 2023). Et sont intégrées dans diverses cultures et contextes pour maintenir la santé physique, mentale et spirituelle. Certaines de ces plantes produisent des composés thérapeutiques cliniquement établis, utilisés directement ou comme précurseurs pour la synthèse de médicaments (Davis et Choisy, 2024). Ces plantes jouent un rôle significatif en ethnomédecine et en médecine traditionnelle. Leurs diverses applications dans le traitement d'affections telles que les tumeurs, l'inflammation et le stress oxydatif ont attiré une attention considérable. Les plantes médicinales possèdent une capacité unique à produire des produits naturels complexes, ce qui en fait des sources précieuses pour la découverte de médicaments modernes (Chen et *al.*, 2024).

I.4.1. *Rosmarinus officinalis*

Le romarin est un arbuste dense et ramifié, toujours vert, orné de fleurs bleu-blanc, pouvant atteindre environ 1 mètre de hauteur. Ses feuilles, coriaces et linéaires à linéaires-lancéolées, mesurent de 1 à 4 cm de long et de 2 à 4 mm de large, avec des bords incurvés. Elles présentent une face supérieure vert foncé et granuleuse, tandis que leur face inférieure est recouverte de tomentum, avec une nervure médiane proéminente. De plus, le romarin dégage une odeur très caractéristique (Andrade et *al.*,2018).

Rosmarinus officinalis appartient à la famille des Lamiacées. Récemment, lors d'une analyse phylogénétique, le genre *Rosmarinus* a été fusionné avec le genre *Salvia*. Cela implique que *Rosmarinus officinalis* n'est plus le nom correct pour cette espèce. Étant donné que le nom *Salvia officinalis* était déjà utilisé au moment de la fusion, cette plante a reçu une nouvelle épithète spécifique dans le genre *Salvia* et est maintenant connue sous le nom de *Salvia Rosmarinus* (de Macedo et *al.*,2020).

I.4.1.1. Répartition géographique de *Rosmarinus officinalis*

De nos jours, le romarin est cultivé à l'échelle mondiale, mais il s'agit d'un arbuste vivace à feuillage persistant originaire du sud de l'Europe et d'Asie, notamment de la région méditerranéenne (Rahbardar et Hosseinzadeh,2020). Cette plante prospère dans un sol sec à modérément humide et ne tolère pas les sols détrempés. Elle supporte modérément la salinité. Sa floraison a généralement lieu entre mai et juin dans les régions au climat méditerranéen, tandis que la période de fructification se situe entre le printemps et l'été (Borges et *al.*,2019).

I.4.1.2. Utilisations traditionnelles de *Rosmarinus officinalis*

Les feuilles fraîches et séchées de *Rosmarinus officinalis* sont souvent utilisées comme assaisonnement pour rehausser le goût des aliments, dans les infusions à base de plantes, et comme agents conservateurs alimentaires. Les extraits de romarin sont également utilisés comme antioxydants naturels pour prolonger la durée de conservation des aliments. En général, les parties aériennes supérieures fleuries, comprenant les feuilles, les branches et les inflorescences, sont principalement utilisées pour extraire les huiles essentielles (HE) et les extraits (Bendif et *al.*,2017 ; Diniz do Nascimento et *al.*,2022). Les huiles essentielles sont obtenues à partir de matières végétales brutes par distillation à la vapeur, y compris l'hydrodistillation. En raison de son utilisation dans les secteurs pharmaceutique et alimentaire, l'huile essentielle de *Rosmarinus*

officinalis (EORO) revêt une grande importance commerciale. Il s'agit d'un liquide incolore ou jaune pâle avec un arôme sec et épicé intense. Renaissance Herbals recommande l'utilisation du romarin pour différentes raisons : comme digestif et stimulant, pour favoriser la cicatrisation des plaies, traiter les troubles respiratoires, stimuler la mémoire, et d'autres utilisations encore. Traditionnellement et actuellement, il est utilisé pour traiter le stress à long terme, les maladies chroniques, améliorer les problèmes liés à la circulation et soulager les muscles rhumatismaux lorsqu'il est appliqué sous forme de lotion à base d'huile essentielle diluée (Borges et *al.*,2019 ; Gonçalves et *al.*,2022).

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

II.1. Produits chimiques et milieu de culture

II.1.1. Produits chimiques

Les différents produits chimiques utilisés tout au long de cette étude sont répertoriés dans l'annexe 01.

II.1.2. Milieu de culture

Les milieux de culture utilisés pendant l'expérimentation, ainsi que leur composition, sont mentionnés dans l'annexe 02.

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes examinées dans cette étude ont été isolées à partir du sol rhizosphérique de la plante *Rosmarinus officinalis*, poussée dans la région de Zamora, Bordj Bou Arreridj. Alors que les souches bactériennes pathogènes étudiées comprennent les espèces suivantes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Micrococcus luteus*. Provenant du laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arreridj.

II.2.2. Souches fongiques

Les souches fongiques phytopathogènes examinées dans cette étude ont été isolées à partir des fruits de la tomate et de grains de blé et appartiennent au genre *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* et *Ulocladium botrytis*.

II.2.3. Matériel végétal

La plante médicinale dont nous avons prélevé le sol rhizosphérique est le *Rosmarinus officinalis*, qui pousse dans la région de Zamora, au nord de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Les fruits de tomate présentant des symptômes de la maladie de l'alternariose ont été récupérés au marché des fruits et légumes, tandis que les graines de blé (variété Oued El bered.) ont été obtenues auprès du Coopérative Céréales et Légumes Sec (CCLS) de Bordj Bou Arreridj.

II.3. Échantillonnage

Des plantes saines et matures de *Rosmarinus officinalis*, cultivées dans un sol non pollué, ont été sélectionnées. L'échantillonnage du sol rhizosphérique a été réalisé dans la région de Zamora, située au nord de la wilaya de Bordj Bou Arreridj en Algérie, dans la période du 22 février 2024. En utilisant une pelle, le sol de la rhizosphère, directement adjacent aux racines, a été soigneusement prélevé. Des échantillons adéquats de sol rhizosphérique ont été récupérés, en veillant à éviter toute contamination avec du sol non rhizosphérique ou d'autres matériaux. Ces échantillons ont ensuite été placés dans des sachets en plastique stériles et hermétiquement scellés, étiquetés avec la date, l'emplacement et le nom de la plante médicinale. Ils ont été transportés directement au laboratoire. Les échantillons ont été stockés à une température maximale de 4°C pendant au maximum 24 heures, puis utilisés pour l'isolement des bactéries rhizosphérique en suivant les procédures standard (Fan et *al.*, 2016).

II.4. Isolement, purification et conservation des bactéries

II.4.1. Isolement des bactéries

Les bactéries ont été isolées à partir du sol rhizosphérique des plantes de *Rosmarinus officinalis*, en suivant la méthode de dilution décimale et d'ensemencement. À l'aide d'une micropipette de 1000 µl, une série de dilutions a été préparée en prélevant 1 g de sol et en le plaçant dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau physiologique pour obtenir la première dilution de 10⁻¹ (solution mère). Après agitation pendant quelques minutes à l'aide d'un vortex, plusieurs dilutions décimales jusqu'à 10⁻⁷ ont été réalisées à partir de la solution mère. Pour chaque dilution, 1 ml de solution initiale a été prélevé et ajouté à un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau physiologique, jusqu'à obtenir la dernière dilution de 10⁻⁷. Ensuite, 100 µl de chaque dilution décimale, provenant des dilutions 10⁻² à 10⁻⁷, ont été étalés à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur la surface des géloses nutritives (GN). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30°C pendant 24 heures (Akter et *al.*, 2015) (figure 3). La charge bactérienne dans l'échantillon a été évaluée selon l'équation suivante :

$$N/\text{UFC par gramme} = \frac{\sum n}{100} * \frac{1}{d}$$

Où :

Nombre d'UFC/g= nombre de bactéries gramme d'échantillon, n = nombre de colonies, d= facteur de dilution de l'échantillon.

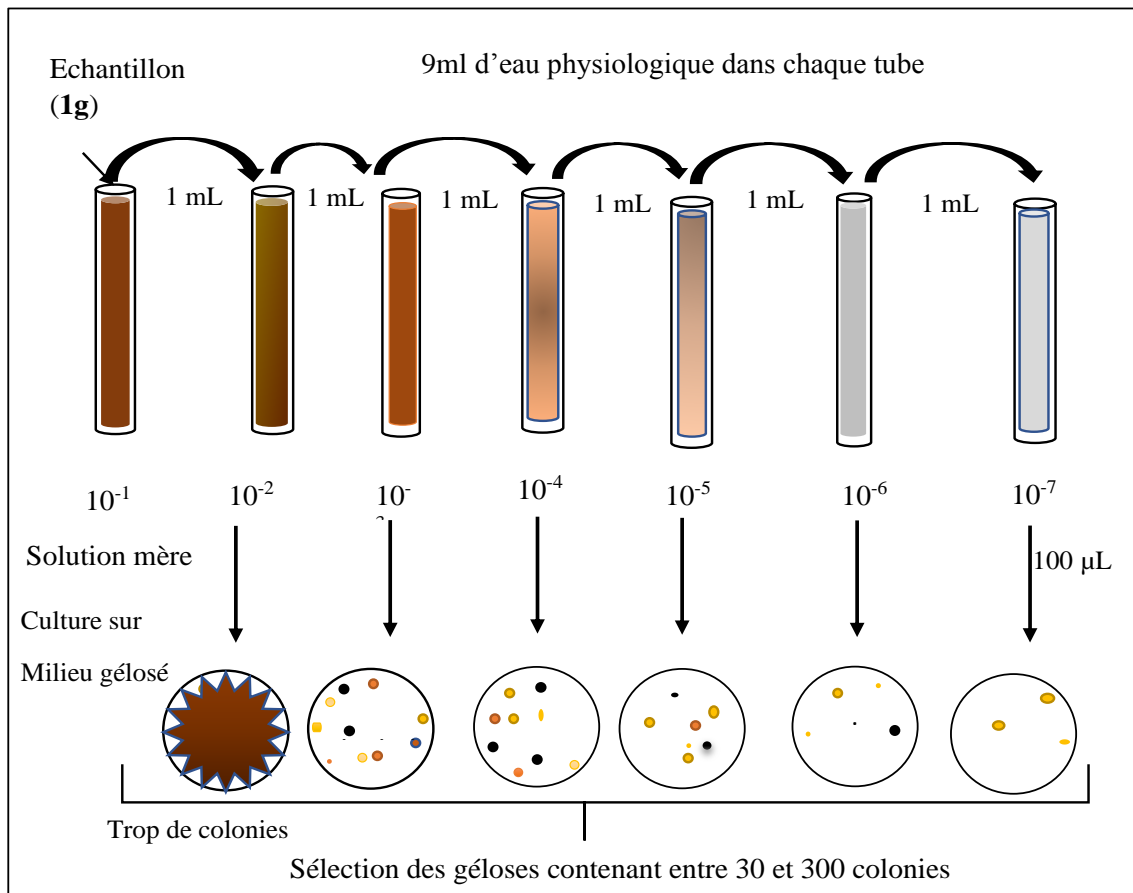


Figure 3. Isolement des bactéries par la méthode de dilution décimale.

II.4.2. Purification et conservation des isolats bactériens

Les colonies présentant un aspect distinct des autres ont été ensemencées en stries par la méthode des quadrants sur de nouvelles boîtes de Pétri contenant le même milieu de culture GN, et des repiquages successifs ont été effectués jusqu'à ce que des colonies bien distinctes soient obtenues. Ce processus de purification nous a permis d'obtenir 47 isolats bactériens. Ces isolats purs ont été conservés temporairement dans des tubes contenant un bouillon nutritif et stockés à une température de -4°C (Bouras, 2018).

II.5. Isolement et purification des champignons phytopathogènes

Les champignons ont été isolés à partir des fruits de tomate et de grains de blé. Les grains de blé infectés avec des taches noires ou roses ont été prélevés, de même que les fruits de tomate présentant des lésions brunes ou noires, qui ont été découpés en morceaux à l'aide d'un ciseau stérile. Les surfaces de ces fragments et des grains de blé ont été stérilisées successivement en les plongeant dans une solution d'eau de Javel (2 %) pendant 2 et 4 minutes respectivement. Ensuite, les échantillons ont été rincés trois fois dans de l'eau distillée stérile pendant 1 minute afin d'éliminer les résidus de l'eau de Javel. Les fragments ont ensuite été séchés sur du papier filtre stérile. Par la suite, les échantillons ont été placés de manière aseptique dans des boîtes de Petri contenant du milieu de culture solide Potato Dextrose Agar (PDA), auquel de la pénicilline et de la gentamicine (30 mg/L) ont été ajoutés pour supprimer la croissance bactérienne. Les boîtes ont été incubées à 28°C jusqu'à ce que la croissance des champignons soit détectée. Les champignons émergents ont été isolés et inoculés sur du PDA frais ne contenant pas d'antibiotiques, puis incubés à 28°C pendant 7 jours. Cette étape a été répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'isolats fongiques purs présentant une colonie uniforme (Sadrati, 2021) (figure 4).

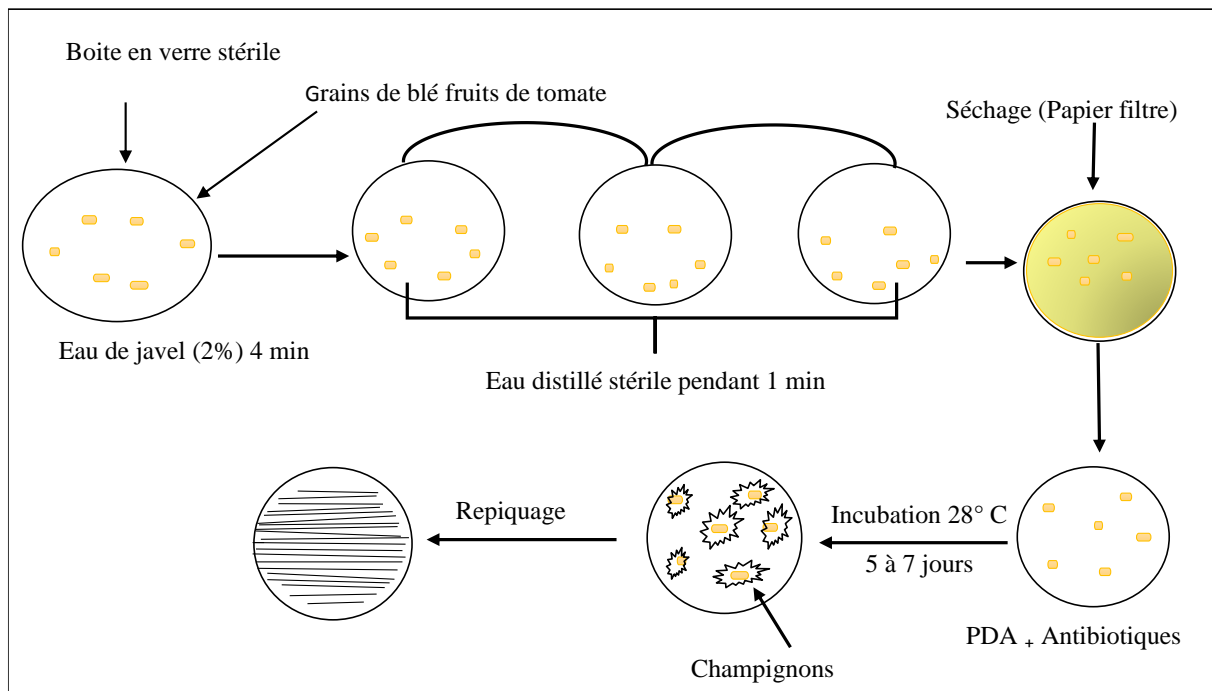


Figure 4. Méthode d'isolement des champignons phytopathogènes à partir de grains de blé et de fruits de tomates.

II.6. Identification des champignons phytopathogènes

Après l'isolement des isolats fongiques, trois d'entre eux ont été sélectionnés pour une identification. Pour ce faire, un disque mycélien de 6 mm de diamètre de chaque isolat a été ensemencé sur milieu de culture PDA, suivi d'une incubation de 7 jours à 28°C. L'identification a été réalisée en se basant sur la détermination des caractères morphologiques, comprenant une étude macroscopique et une étude microscopique. Les critères macroscopiques pour caractériser les champignons phytopathogènes isolés comprennent la forme, le diamètre, la couleur (dessus/revers), et la texture de la surface des colonies. Les critères microscopiques incluent les caractéristiques microscopiques des hyphes, conidies et conidiophores observées au microscope optique, ont été notés et comparés aux clés d'identification pour identifier nos isolats fongiques (Zerroug, 2021).

II.7. Dépistage préliminaire d'Activité antimicrobienne

II.7.1. Criblage d'isolats bactériens contre les champignons phytopathogènes (méthode de double culture)

Les isolats bactériens purifiés ont été criblés en fonction de leur activité antagoniste contre les trois espèces de champignons phytopathogènes. La méthode de double culture sur gélose dextrose de pomme de terre (PDA), telle que décrite par Rafanomezantsoa et *al.* (2022), a été suivie avec quelques modifications mineures. En résumé, un disque de phytopathogène (de 5 mm de diamètre) a été transféré au centre d'une boîte de Pétri (de 90 mm de diamètre) contenant 15 ml de PDA. Les souches bactériennes ont été inoculées en périphérie, à une distance de 25 mm du disque mycélien. Deux souches différentes ont été inoculées en points à deux reprises sur chaque boîte. Les boîtes ne contenant que le disque du phytopathogène ont été utilisées comme contrôles. La durée d'incubation a été de 5 à 7 jours à 28°C. Une inhibition de croissance apparente autour de la colonie a été considérée comme un résultat positif. Pour déterminer le taux d'inhibition, la formule suivante a été utilisée : Pourcentage d'inhibition (%) = $\frac{R1-R2}{R1} * 100$

où : R1 est le diamètre de l'agent pathogène contrôle, R2 est le diamètre de l'agent pathogène en double culture (Rafanomezantsoa et *al.*, 2022).

II.7.2. Criblage de l'activité antibactérienne

Deux techniques ont été employées pour évaluer l'activité antibactériennes.

II.7.2.1. Méthode de double couche

L'activité antagoniste contre les bactéries pathogènes a été évaluée en suivant la méthode des doubles couches. Les bactéries antagonistes isolées de l'échantillon ont été inoculées par spots sur les boîtes d'agar nutritif à l'aide d'une anse de platine stérile et incubées pendant 24 heures à 28°C. L'incubation était de 5 à 7 jours pour le groupe d'actinomycètes. Ensuite, après la préparation des suspensions bactériennes dans de l'eau physiologique à une concentration d'environ 10^8 ml⁻¹, chaque culture de pathogènes humains de test a été mélangée avec 7 ml de gélose nutritive stérile semi-solide (0,6 % d'agar) et refroidie à 40°C. Après un mélange minutieux, le milieu a été superposé sur la couche d'agar nutritif et incubé pendant 24 heures à 37°C. L'activité antagoniste a été mesurée en déterminant la zone d'inhibition (Gislin et *al.*, 2018).

II.7.2.2. Méthode de diffusion par cylindres d'agar

Cette méthode implique l'ensemencement des isolats d'actinobactéries (B24, B26, B41, B50) en stries serrées sur milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project). Après une incubation de 10 à 15 jours à 28°C, des cylindres d'agar d'un diamètre de 6 mm sont prélevés et déposés à la surface du milieu GN, qui a été préalablement ensemencé par écouvillonnage avec les bactéries tests à une concentration de 10^8 cellules/ml. Un cylindre d'agar provenant du milieu ISP2 non ensemencé par les bactéries a été utilisé comme témoin. Les boîtes de Pétri contenant les cylindres d'agar sont placées à 4°C pendant 1 heure pour favoriser la pré-diffusion des substances bioactives produites par les isolats d'actinomycètes, puis sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Barghouthi et *al.*, 2017).

II.8. Fermentation et extraction sur milieu solide

Dans le but de produire et d'extraire les métabolites bioactifs sécrétés par les isolats d'actinomycètes, une fermentation à petite échelle sur milieu solide a été réalisée, suivie d'une extraction par le solvant d'éthyl acétate. Chaque isolat a été inoculé sur 10 boîtes de Petri de 9 cm de diamètre, contenant chacune 20 ml du milieu du milieu solide ISP2. Toutes les cultures ont été incubées pendant 10 jours à une température de 28°C. Ensuite, les géloses de chaque isolat ont été retirées des boîtes et transférées dans des erlenmeyers contenant 100 ml de solvant d'extraction à l'acétate d'éthyle. Le mélange de biomasse bactérienne et de gélose a été broyé et laissé à macérer toute une nuit. Le broyat a ensuite été filtré pour récupérer la phase organique. Les phases

organiques provenant de la fermentation en milieu solide ont été évaporées sous la hotte chimique et les extraits bruts obtenus ont été pesés, dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO), filtrés à travers une membrane de 0,2 µm et conservés à 4°C (Son et *al.*, 2018).

II.9. Activité antimicrobienne de l'extrait d'acétate d'éthyle contre les bactéries et les champignons pathogènes

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos extraits a été réalisée selon la méthode des puits sur GN pour les bactéries et sur le milieu PDA pour les champignons. Les bactéries pathogènes testées comprenaient *E. coli*, *S. aureus*, et *M. luteus*, tandis que les champignons phytopathogènes inclus *A. alternata*, *F. oxysporum* et *U. Botrytis*. Des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés sur des géloses GN et PDA préalablement ensemencées avec des cultures jeunes de bactéries (à une concentration de 10^8 cellules/ml) et de suspensions sporales de champignons (à une concentration de 10^6 spores/ml), respectivement. Chaque puits a été ensuite rempli avec 35 µL de gélose molle, suivis de l'ajout de 50 µL de chaque extrait en duplicata. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Après une période de réfrigération à 4°C pendant 2 heures, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 28°C pendant 3 à 5 jours pour les champignons. Les diamètres des zones d'inhibition ont ensuite été mesurés (Fatima et *al.*, 2016).

Partie III : Résultats et discision

III. Résultats et discussion

II.1. Isolement et purification des bactéries

Les prélèvements rhizosphériques, cultivés sur gélose nutritive et incubés à 37°C pendant 24 heures, ont permis d'isoler 47 souches bactériennes dominantes. Les souches isolées ont été purifiées par repiquages successifs. Le diagnostic macroscopique primaire a montré des colonies irrégulières ou rondes, de couleur jaune et blanchâtre, de taille moyenne à grande, avec des surfaces lisses ou dentelées (figure 5).

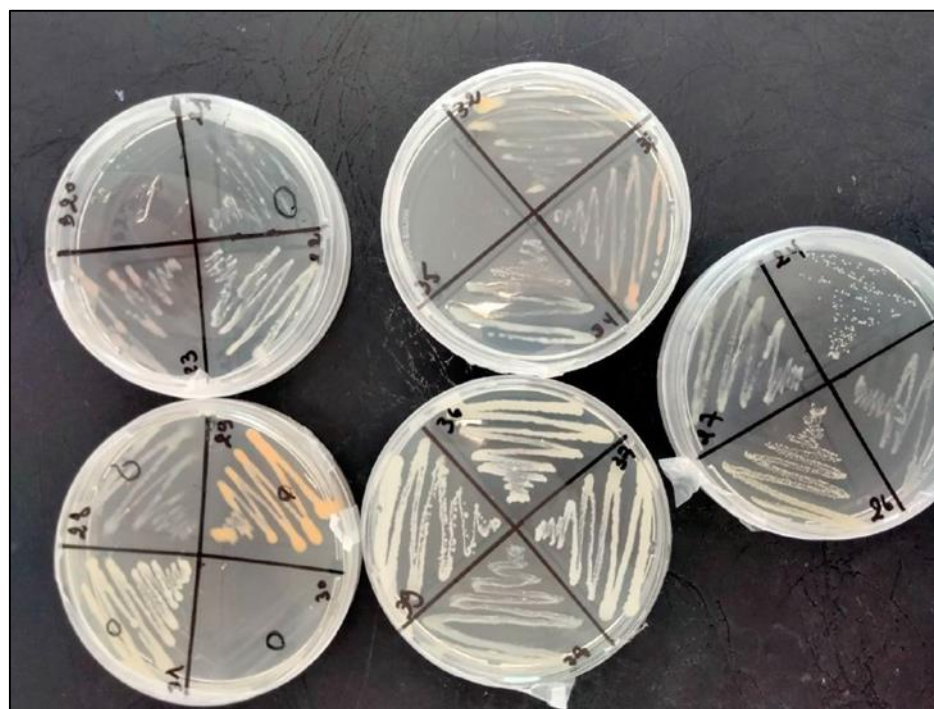


Figure 5 .Aspect macroscopique des colonies bactériennes après purification.

Les résultats du comptage, le nombre de colonies diminue proportionnellement avec l'augmentation de la dilution. Cela indique que la concentration de bactéries dans l'échantillon original était élevée et diminue avec les dilutions successives. La charge bactérienne moyenne dans l'échantillon originale était de 3.4×10^2 UFC/g de sol.

Plusieurs travaux ont montré des différences entre le sol non-rhizosphérique et le sol rhizosphérique en termes de diversité et d'abondance des microorganismes Reinhold-Hurk et *al.*, (2015). En général, dans un sol rhizosphérique, le nombre de bactéries par gramme de sol peut être de 10 à 100 fois supérieur à celui des bactéries du sol non- rhizosphérique Kohl et *al.*, (2019). De

plus, le sol peut contenir des bactéries dites viables mais non cultivables, qui ne peuvent ni croître ni se développer sur les milieux ordinaires utilisés en microbiologie Giagnoni et *al.*, (2018). Par ailleurs, plusieurs facteurs comme le type de sol, le taux d'humidité, la température, le PH, le couvert végétal et les exsudats des plantes peuvent influencer la composition du microbiote du sol (Ling et *al.*, 2022).

Dans notre étude, nous avons isolé 47 isolats bactériens de la rhizosphère de *Rosmarinus officinalis*. Ce nombre est comparé à celui de Smith et *al.*, (2021), qui ont isolé 55 bactéries de la même plante. De même, Johnson et *al.* (2022) ont isolé 60 bactéries et ont étudié leur capacité à améliorer la résistance aux maladies et à promouvoir la croissance des plantes.

Dans l'étude réalisée par Stamenov et *al.*, (2021) ont été isolés les microorganismes du sol rhizosphérique de *Rosmarinus officinalis*, ils ont isolé 15 bactéries du genre *Pseudomonas*, 20 du genre *Bacillus* et 11 du genre *Azobacter*, sélectionnées en fonction des caractéristiques morphologiques des colonies. Egamberdieva et *al.*, (2021) ont isolé 10 isolats de la rhizosphère de l'épinard néo-zélandais et ont examiné leur interaction avec les plantes ; parmi ces bactéries, *Agrobacterium* a été identifié. Dehghani Bidgoli et *al.*, (2019) ont également isolé *Pseudomonas fluorescent* à partir de *Rosmarinus officinalis*.

Dans une autre étude, Modi et *al.*, (2017) ont isolé purifiées plusieurs souches de PGPR à partir d'échantillons de sol de rizières. Les résultats ont montré que les souches isolées sont capables de promouvoir la croissance des plantes et santé du sol, suggérant qu'elles pourraient être utilisées comme des outils efficaces dans la culture du riz. Sharma, (2024) ont isolé 107 bactéries endophytes de *Trillium govanianum* et les ont testées en laboratoire pour leur capacité à améliorer la croissance des plantes. Vingt-deux isolats bactériens ont présenté toutes les caractéristiques des PGPR.

D'après ces résultats il semble clairement l'importance de l'isolement des bactéries PGPR, qui peuvent contribuer à améliorer la croissance, la physiologie et la tolérance des plantes aux stress. Ces bactéries bénéfiques sont capables de produire des hormones végétales telles que l'acide indole 3-acétique (AIA), jouant un rôle crucial dans le développement des racines. Ces bactéries améliorent la santé globale et la croissance des plantes, ainsi que l'établissement d'interactions positives avec celles-ci. La colonisation de la rhizosphère des plantes par ces bactéries met en évidence leur importance et les bénéfices potentiels pour la santé et la croissance des plantes.

III.2. Isolement et identification des champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes ont été isolés à partir des grains (6.a) de blé et des fruits de tomate infectés(6.b), en utilisant un milieu de culture PDA. Après le développement des isolats fongiques (manifestation de la croissance mycélienne aux extrémités des fragments), plusieurs colonies présentant des caractéristiques culturelles variées ont été obtenues après une incubation de 7 jours à 28 °C. Suite à plusieurs étapes de repiquage successives sur le milieu PDA, des isolats purs ont été obtenus et identifiés en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques distinctives. Ils ont été classés comme appartenant à trois espèces différentes : *A. alternata*, *U.botrytis* et *F. oxysporum*.

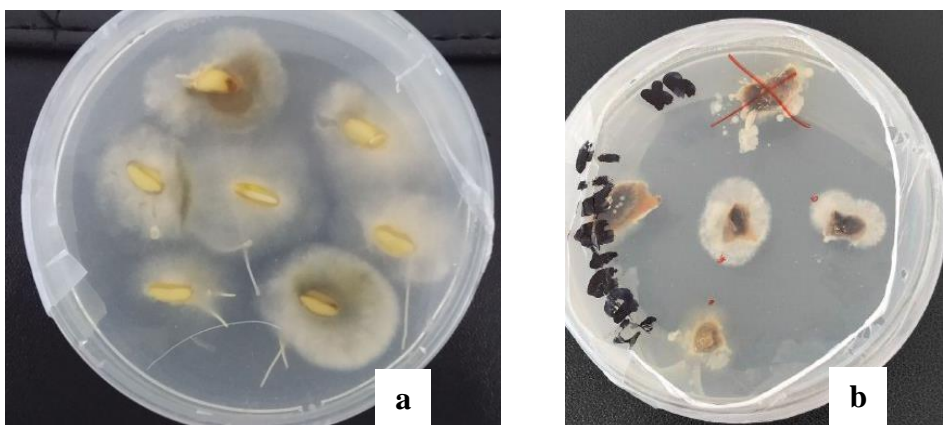


Figure 6. Isolement des champignons phytopathogènes à partir des grains de blé (a) et des fruits de tomate (b).

III.2.1 Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des champignons phytopathogènes

L'identification de ces souches repose principalement sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, etc.) ainsi que sur les caractères microscopiques du mycélium, des spores ou des conidies (cloisonnement du mycélium, forme des spores, etc.).

III.2.1.1. *A. alternata*

III.2.1.1.1. Identification macroscopique

Sur PDA, les colonies d'*Alternaria alternata* présentent une texture cotonneuse, surface grise a verte et revers vert foncé à sombre (7B).

III.2 .1.1.2. Identification microscopique

Le thalle d'*Alternaria* est composé de hyphes septés et ramifiés, de teinte brun clair. Les conidies sont pluricellulaires et brun olive. Elles adoptent une forme ovoïde ou piriforme, avec une base arrondie et une partie apicale allongée. Cette dernière se prolonge en un bec filamenteux et segmenté qui peut être plus ou moins prononcé. Les conidies d'*Alternaria* se distinguent par la présence de septa transversaux et longitudinaux (7B).

III.2.1.2. *F. oxysporum*

III.2.1.2.1. Identification macroscopique

Les colonies de *F.oxysporum* présentaient une couleur blanche ou violette, avec un mycélium aérien et une texture cotonneuse ou fibreuse. La couleur de surface des colonies variait du rose au violet clair ou foncé (7A).

III.2.1.2.2. Identification microscopique

L'examen microscopique a confirmé que toutes les cultures appartenaient à l'espèce *F. oxysporum*. Les hyphes étaient hyalins, septés et ramifiés. La sporulation survenait quelques jours après repiquage sur de nouvelles boîtes. L'espèce de *F. oxysporum* produisait trois types de spores végétatives : microconidies, macroconidies et chlamydospores. Les microconidies étaient les spores les plus fréquemment produites (7A).

III.2.1.3. *U. botrytis*

III.2.1.3.1. Identification macroscopique

Les colonies se développent généralement rapidement, sont brunes à noir olive et ont une texture suédée. Les colonies mûrissent en cinq jours à 28°C. Le revers des colonies est noir (7C).

III.2.1.3.2. Identification microscopique

Les hyphes sont septés et vont du brun clair à brun foncé. Les conidiophores sont brun doré, simples, avec des parois lisses et fortement géniculés. Les conidies sont généralement brun foncé, pluricellulaires, obovoïdes et souvent à parois rugueuses (7C).

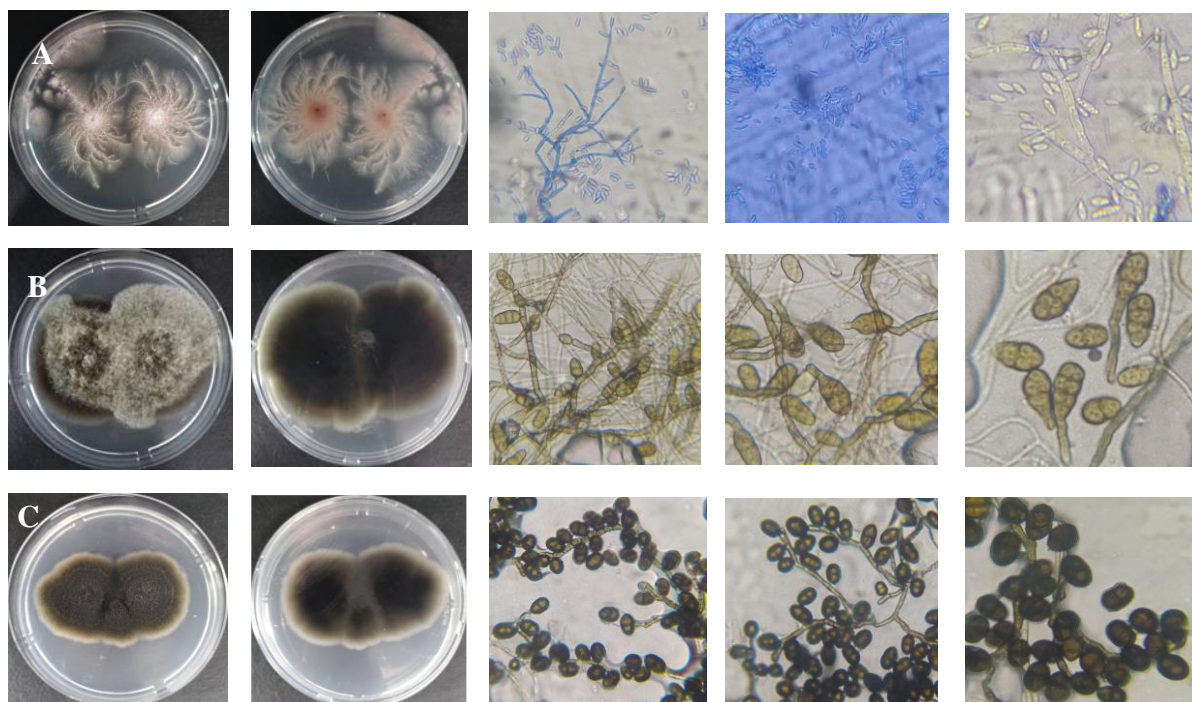


Figure 7.Aspects macroscopique et microscopique des champignons phytopathogènes. **A:** *Fusarium oxysporum*, **B:** *Alternaria alternata*, **C:** *Ulocladium botrytis*.

Le genre *A. alternata* comprend des espèces phytopathogènes pouvant affecter les cultures sur le champ et entraîner la décomposition des produits végétaux après la récolte. Les nouveaux outils taxonomiques ont révélé qu'*A. alternata* est prédominante dans de nombreuses cultures, notamment les fruits et légumes, ce qui entraîne des pertes de rendement considérables (Lee et al., 2015). En outre, *A. alternata* peut produire plusieurs mycotoxines dans les plantes infectées, compromettant ainsi gravement la qualité des produits transformés et posant un risque pour la sécurité alimentaire (Santos et al., 2016)

L'isolement et l'identification de ces champignons sont essentiels pour lutter contre les champignons pathogènes des cultures agricoles. Dans une étude réalisée par Gonzalez et al., (2020), *F. oxysporum* a été isolé à partir de champs de blé en utilisant l'examen microscopique pour identifier le champignon. Ils ont observé que les macroconides étaient en forme de faucille et multicellulaires, tandis que les microconidies étaient sphériques et unicellulaires. (Zhang et al., 2022 ; Singh et al., 2021) ont trouvé les mêmes caractéristiques, ils ont observé que les colonies fongiques étaient cotonneuses et blanches au départ, devenant roses avec le temps.

III.3. Test antagoniste contre les champignons phytopathogènes

Parmi les 47 isolats, l'isolat B24 et B50 ont montré une activité antagoniste significative contre différentes espèces de champignons : *A. alternata*, *F. oxysporum* et *U. botrytis*. Après 5 jours, une forte activité antifongique contre *U. botrytis* a été observée avec l'isolat B24, qui a présenté un taux d'inhibition de 48,81 %, suivi de près par l'isolat B50 avec un taux de 47,37 %. Les taux d'inhibition les plus faibles ont été observés avec les isolats B26 et B37, donnant respectivement 16,66 % et 16,78 %. En ce qui concerne *F. oxysporum*, le pourcentage d'inhibition le plus élevé a été observé avec l'isolat B50 (54,92 %), suivi de l'isolat B24 (42,86 %). L'isolat B19 n'a montré aucune inhibition contre ce champignon, se révélant le moins efficace contre *F.oxysporium*.

Pour *A. alternata*, le pourcentage d'inhibition le plus élevé a été observé avec l'isolat B50 (37,19 %), suivi de près par l'isolat B24, qui a montré une forte inhibition de 49,08 %. En revanche, l'isolat B26 a présenté le pourcentage d'inhibition le plus faible contre tous les champignons, avec un pourcentage allant de 7,69 à 16.66%. Les isolats B37 et B05 ont montré des pourcentages d'inhibition moyens à faibles, l'isolat B37 ayant une meilleure performance contre *A. Alternata*. D'après les résultats obtenus, les isolats B50 et B24 peuvent être considérés comme les meilleurs isolats bactériens en termes d'efficacité d'inhibition contre les champignons (figure 8).

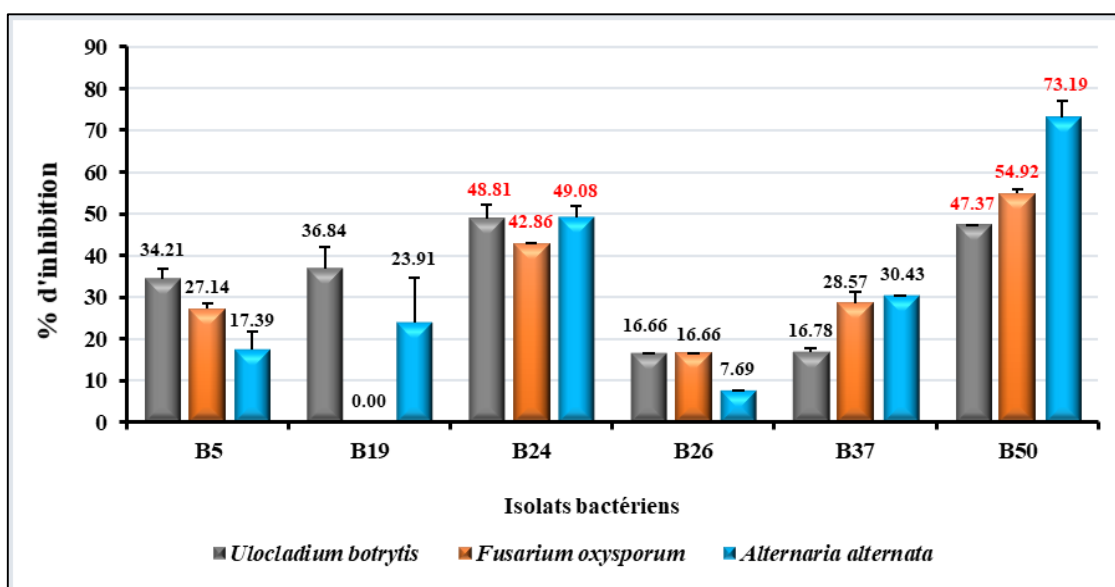


Figure 8. Pourcentages d'inhibition des phytopathogènes par les isolats bactériens

Nos résultats sont similaires à ceux de Kępczyńska et *al.*, (2023) qui ont testé l'effet de deux souches de rhizobactéries, *Pseudomonas fluorescens* (Mx9N) et *Stenotrophomonas maltophilia* (L14), sur trois champignons du sol : *Fusarium culmorum* Cul-3, *F. Oxysporum* 857 et *F. oxysporum* f.sp. Les résultats ont montré des activités inhibitrices, où *S. maltophilia* était plus actif que *P. fluorescents*.

Zahoor et *al.*, (2022) ont isolé 68 souches bactériennes du sol à partir de quinoa (*Chenopodium quinoa*), parmi lesquelles 12 isolats ont efficacement inhibé la croissance mycélienne d'*A. alternata*. Sharma et *al.*, (2021) ont réalisé une étude dans le nord –ouest de l'Himalaya, où ils ont isolé 42 isolats de bactéries racinaires à partir de la plante *Rosmarinus officinalis*, ces derniers ont démontré une activité antifongique en termes de pourcentage d'inhibition contre *F. oxysporum* (44%-72.77%). Soliman et *al.*, (2023) ont confirmé également que *Bacillus amyloliquifaciens* a un impact significatif sur *A. alternata* (figure 9).

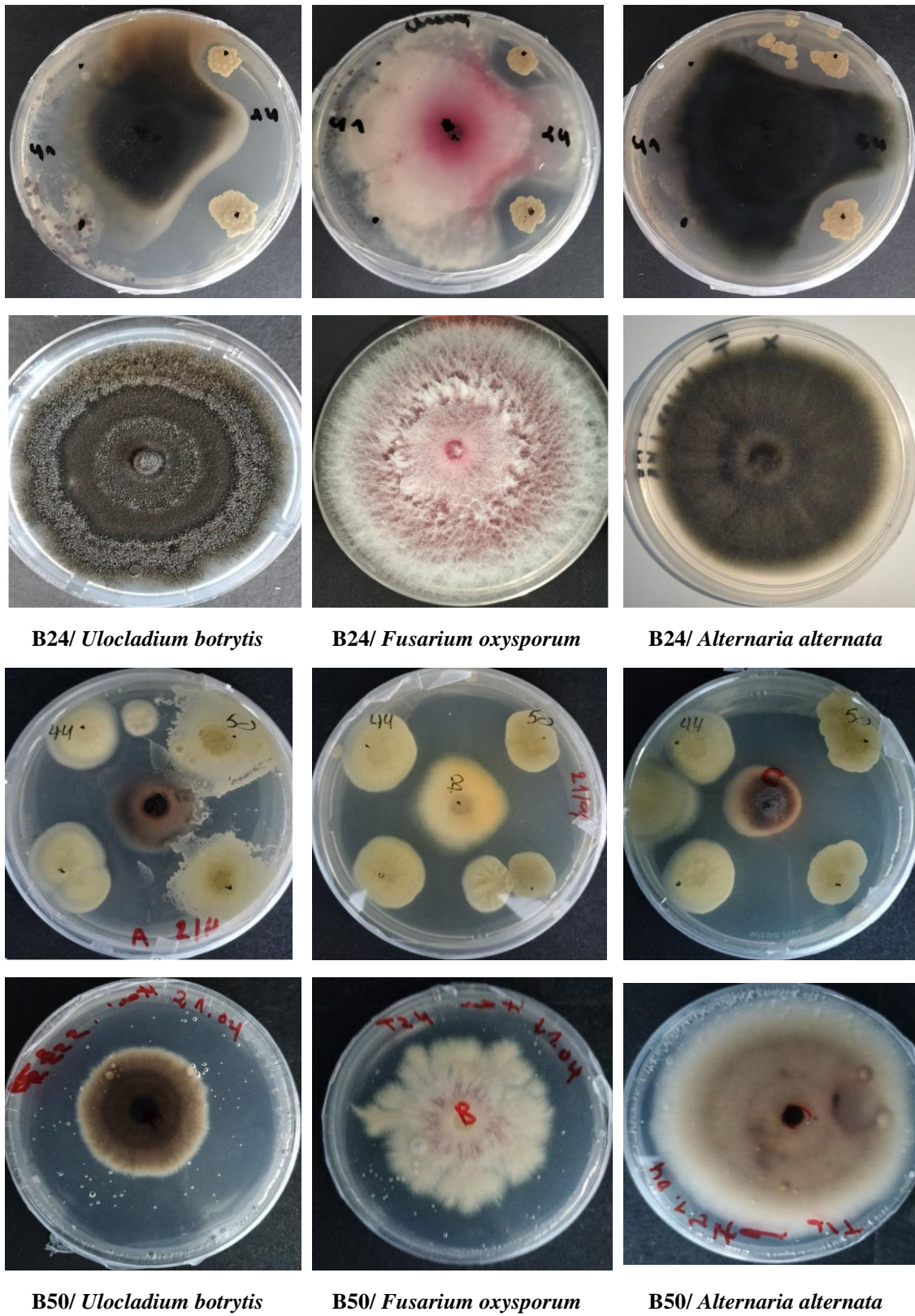


Figure 9. Activité antagoniste obtenue par les isolats bactériens B24 et B50.

Les résultats obtenus indiquent que certains isolats bactériens rhizosphériques présentent une forte activité antagoniste possiblement due à la production et de la sécrétion de métabolites antifongiques. Ces métabolites modifient la structure des champignons et affectent la perméabilité de leur membrane. Parmi ces métabolites, on trouve les lipopeptides et les enzymes hydrolytiques de la paroi cellulaire fongique, telles que les chitinases, cellulase et la protéase ou autres molécules, qui inhibent la croissance des champignons, ce qui pourrait expliquer leur activité antifongique élevée (Koo et *al.*,2023) et (Laradj Zazou,2017). Ces bactéries peuvent offrir une solution biologique contre les champignons phytopathogènes, améliorant ainsi la santé des plantes et la productivité agricole.

III.4. Dépistage de l'activité antimicrobienne

Quatre isolats ont été utilisés pour évaluer leur activité antimicrobienne vis-à-vis des bactéries pathogènes (*E. coli*, *M. luteus* et *S. aureus*) en utilisant deux techniques, celle des cylindres de gélose et celle de la double couche.

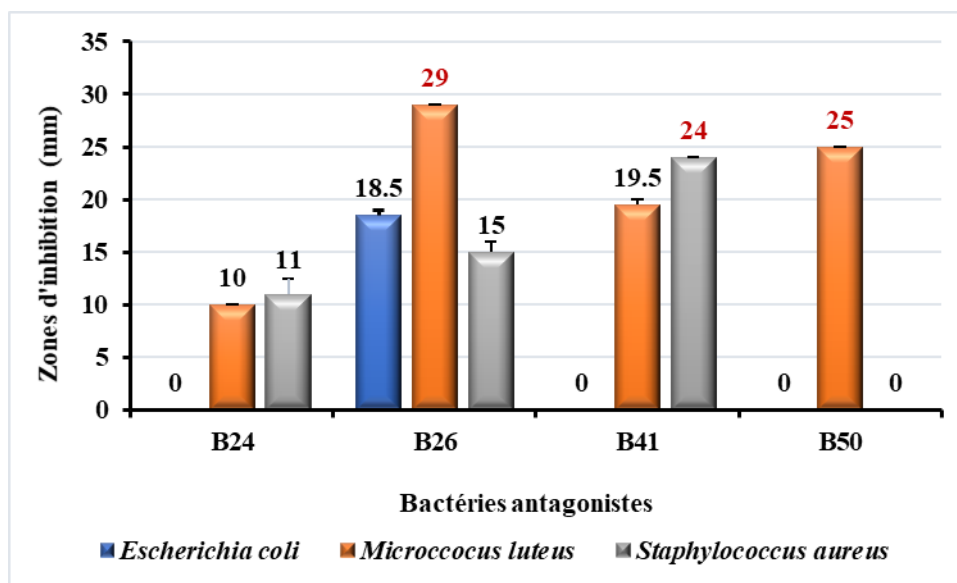


Figure 10. Criblage préliminaire de l'activité antibactérienne.

III.4.1. Technique des cylindres d'agar

Les isolats B24 et B41 ont montré une activité contre deux bactéries pathogènes, avec des zones d'inhibition atteignant respectivement 10 mm et 19,5 mm contre *M. luteus*, et 11 mm et 24 mm contre *S. aureus*. En revanche, l'isolat B26 a montré une activité contre les trois bactéries

pathogènes, avec des zones d'inhibition de 18,5 mm contre *E. coli*, 29 mm contre *M. luteus* et 15 mm contre *S. aureus*. Par ailleurs, l'isolat B50 a montré une activité contre *M. luteus* avec une zone d'inhibition de 25 mm, mais aucune activité inhibitrice n'a été observée contre *E. coli* et *S. aureus*.

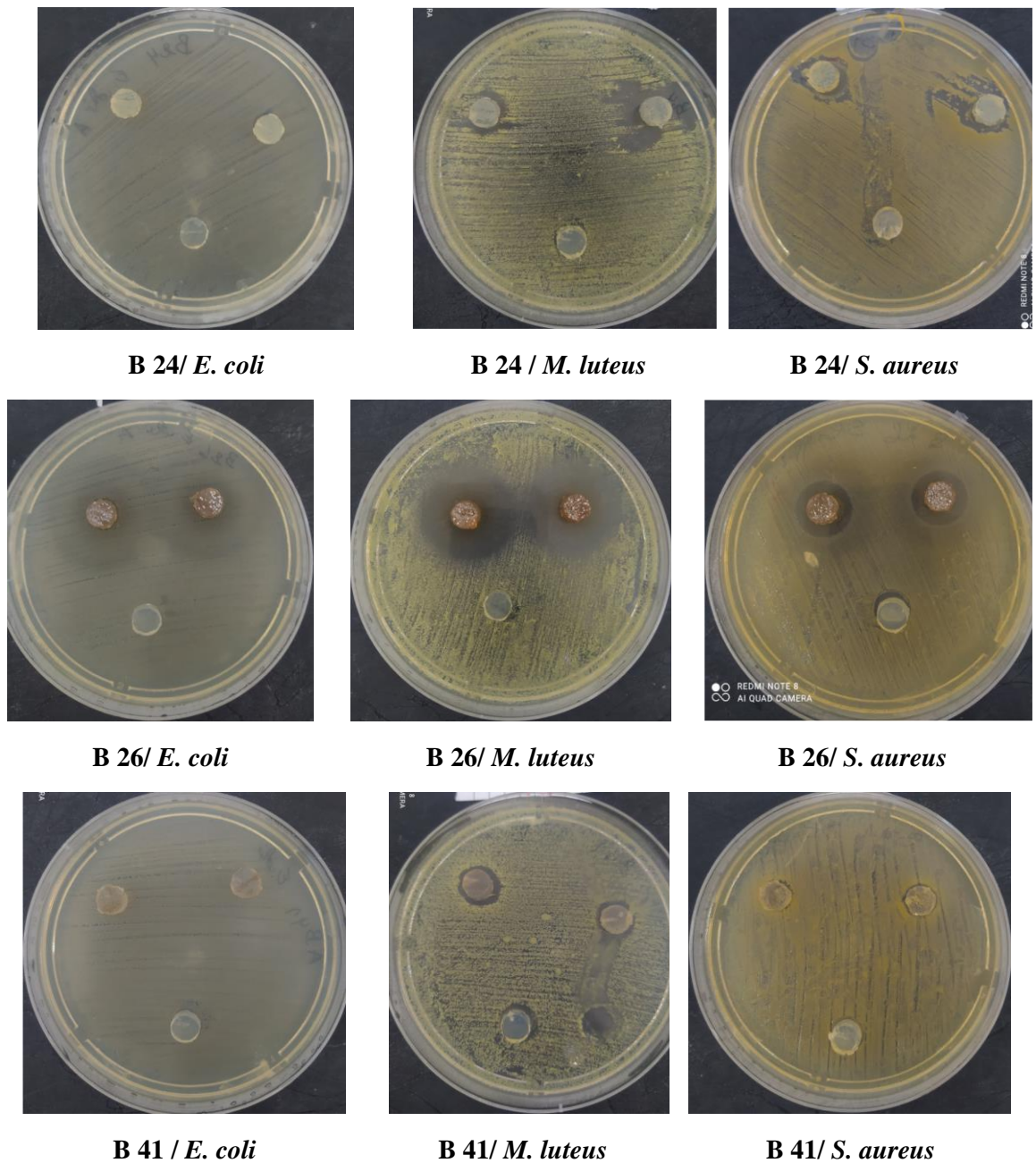


Figure 11. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.

III.4.2. Technique de la double couche

Les autres isolats ont été testés pour évaluer leur potentiel antimicrobien, en utilisant la méthode double couche. La plupart des isolats présentaient une activité moyenne à faible, tandis que pour l'isolat B41, les résultats d'interaction obtenus révèlent la présence de zones d'inhibition importantes contre les espèces bactériennes pathogènes. Les zones d'inhibition observées pour cet isolat étaient de 24mm obtenue contre *S. aureus* et de 19,5mm contre *M. luteus*. Cependant, aucune activité n'a été observée contre *E. coli* (figure 12).

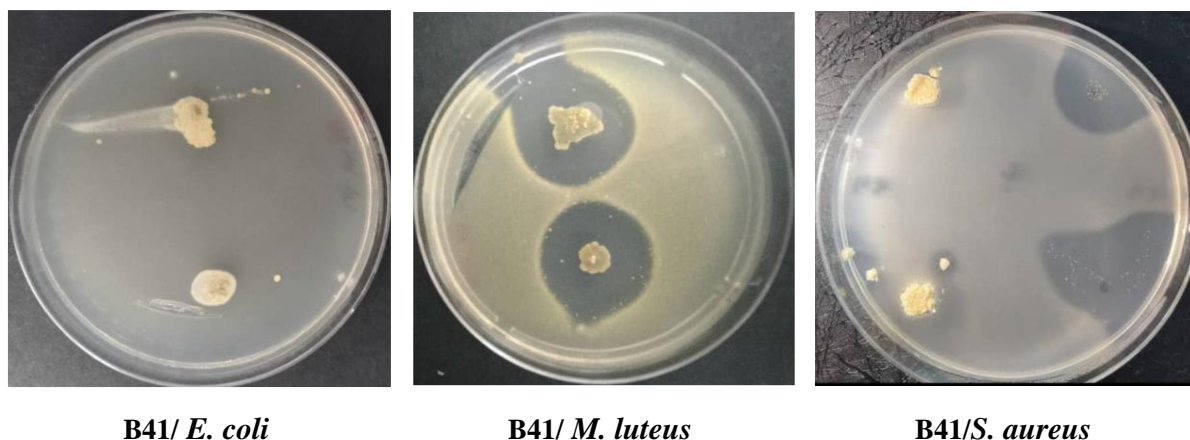


Figure 12. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode de double couche.

La technique des cylindres d'agar est couramment utilisée dans le criblage préliminaire afin de réduire le temps, les dépenses et les tentatives de sélection des microorganismes actifs. Elle permet également de détecter les composés non volatils produits par ces micro-organismes (Hamzah et *al.*, 2018). La formation d'une zone d'inhibition autour des cylindres d'agar indique une activité antimicrobienne (Sibero et *al.*, 2018). La combinaison de ces deux techniques nous a permis de détecter et de confirmer l'effet inhibiteur des isolats actifs. Les zones d'inhibition obtenues par la technique de double couche étaient plus prononcées que celles obtenues par la technique du cylindre d'agar pour l'ensemble des isolats actifs. De plus, la technique de double couche s'avère mieux adaptée à l'étude des activités antimicrobiennes (Gandhimathi et *al.*, 2008).

III.5. Activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle

Les extraits d'acétate d'éthyle ont été testés contre 3 bactéries pathogènes *E. coli*, *S. aureus*, et *M. Luteus* et 3 champignons phytopathogènes *A. alternata*, *F. oxysporum* et *U. botrytis* en utilisant la technique des puits.

III.5.1. Activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle

En fonction des diamètres des zones d'inhibition, l'efficacité des extraits testés contre les bactéries a été classée comme suit (figure 13) :

- Très forte activité, pour un diamètre de zone ≥ 30 mm ;
- Forte activité, pour un diamètre de zone 21 à 29 mm ;
- Activité modérée, pour un diamètre de zone de 16 à 20 mm ;
- Faible activité, pour un diamètre de zone de 11 à 15 mm ;
- Activité faible ou nulle, pour un diamètre de zone ≤ 10 mm (Mutai et *al.*, 2009)

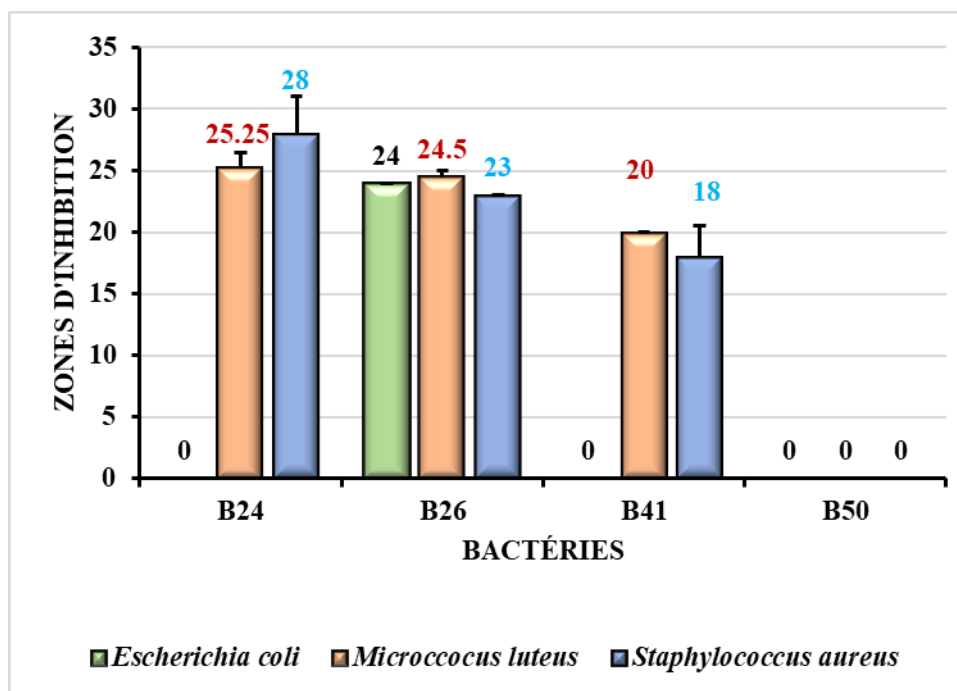


Figure 13. Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits.

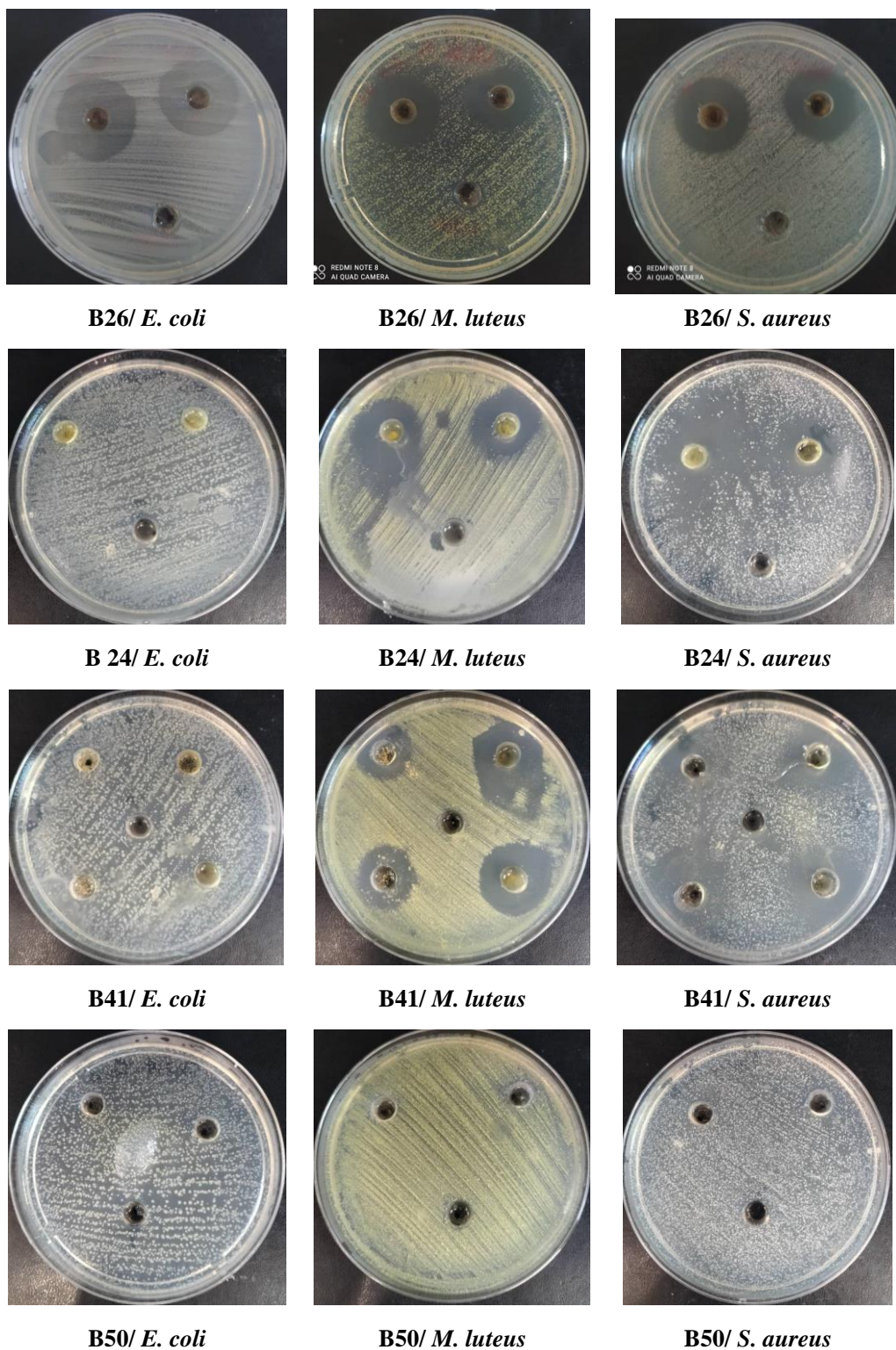


Figure 14. Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des puits

L'extrait de l'isolat B26 a montré une forte activité antibactérienne contre les trois bactéries pathogènes, avec des zones d'inhibition de 23, 24,5 et 25mm contre *S. aureus*, *E. coli* et *M. luteus* respectivement. L'efficacité de l'extrait B24 était forte contre *S. aureus* (28 mm) et *M. luteus* (25,25 mm), mais nulle contre *E. coli* (00 mm). L'extrait de l'isolat nutritif B41 s'est révélé efficace contre les bactéries à Gram-positif mais sans effet sur les bactéries à Gram-négatif, il a montré une activité modérée contre *M. luteus* (20 mm) et contre *S. aureus* (25 mm). Concernant le B50, aucune activité antibactérienne n'a été observée contre les trois bactéries pathogènes. Selon les résultats des zones d'inhibition pour les isolats B26, B24 et B41 (figure 14), il semble que les bactéries à Gram positif présentent une sensibilité plus élevée par rapport à celle des bactéries à Gram négatif.

Les substances antimicrobiennes sont définies comme des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, incluant les antibiotiques et d'autres agents antibactériens. Cependant, en raison de l'émergence des bactéries multi-résistantes qui pose actuellement un vrai problème pour la santé au niveau mondial notablement ces dernières années. Par conséquent, le développement de produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et bénéfique (Bougherra et al., 2015).

La grande sensibilité de *S. aureus* et de *M. luteus* pourrait être due à la structure de leur membrane et de leur paroi cellulaire externe. En revanche, la résistance importante des bactéries Gram négatif à nos extraits peut probablement être attribuée à leurs membranes externes, qui entourent la paroi cellulaire et limitent la diffusion des composés hydrophobes grâce aux lipopolysaccharides de leur enveloppe (Bougherra et al., 2015).

Ces résultats concordent avec les études antérieures sur les extraits, montrant que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes en raison de la structure de leur paroi bactérienne : les Gram+ possèdent une épaisse couche de peptidoglycane, tandis que les Gram- ont une fine couche de peptidoglycane associée à une membrane externe complexe. Cette membrane est remplie d'enzymes qui dégradent les substances complexes et inactivent les produits chimiques toxiques, rendant ainsi les glycopeptides et macrolides inefficaces contre elles (Boukhatem et al., 2014).

Nombreuses études précédentes ont prouvé l'activité antibactérienne des bactéries PGPR y compris les actinomycètes. Dans l'étude récente publiée par Apsari et al., (2019), ils ont examiné l'activité antibactérienne des extraits d'actinomycètes isolés de *Rosmarinus officinalis*. Parmi les actinomycètes isolés, certaines souches comme ARJ 16, ARJ 24 et ARJ 36 ont montré une efficacité significative contre *E. coli* et *S. aureus*. Ce qui est en accord avec nos résultats, où la

souche B26 a montré une activité contre *E. coli* et *S. aureus*. Khadayat et *al.*, (2020) ont isolé 18 espèces de *Streptomyces* des sols népalais, dont 12 ont montré une activité antibactérienne. Les extraits bruts ont présenté des zones d'inhibition allant de 10 à 13 mm contre *E. coli*, et certains isolats étaient également actifs contre *S. aureus*.

Les souches B24 et B41 ont montré une activité contre *M. luteus* et *S. aureus*, similaire aux résultats de Janaki et *al.*, (2016), qui ont isolé 25 souches d'actinomycètes près de la zone racinaire de la mangrove *Avicennia marina*. Les extraits de deux isolats ont présenté une activité contre large gamme de bactéries à Gram positif. Ramachandran et *al.*, (2018) ont montré que l'extrait brut purifié à l'acétate d'éthyle avait une excellente activité inhibitrice contre les bactéries à Gram négatif avec des diamètres de 22mm et 17mm contre respectivement *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Les résultats de l'inhibition indiquent que les actinomycètes sont capables de produire une variété de composés biologiquement actifs, y compris des composés antibactériens (Apsari et *al.*, 2019). En interagissant avec la paroi cellulaire, cela conduit à des changements dans la perméabilité et certaines voies métaboliques. L'acétate d'éthyle est considéré comme le meilleur solvant pour extraire les composés actifs des actinomycètes, ce qui confirme ce que nous avons trouvé avec la souche B26 contrairement aux autres souches (Ramachandran et *al.*, 2018).

III.5.2. Activité antifongique des extraits d'acétate d'éthyle

Pour l'activité antifongique, les extraits des isolats B24 ont montré une forte activité contre les principaux champignons phytopathogènes tels que *A. Alternata* et *F. oxysporum*, *U. botrytis*, tandis que les isolats B 26 n'ont montré aucune activité, bien qu'ils possédaient une activité antagoniste moyenne lors du dépistage préliminaire. En ce qui concerne l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat B 50, il reste celui qui est active contre *U. botrytis*, et *A. alternata*, avec des zones d'inhibition moyennes de 13 mm et 24 mm respectivement (figure 15).

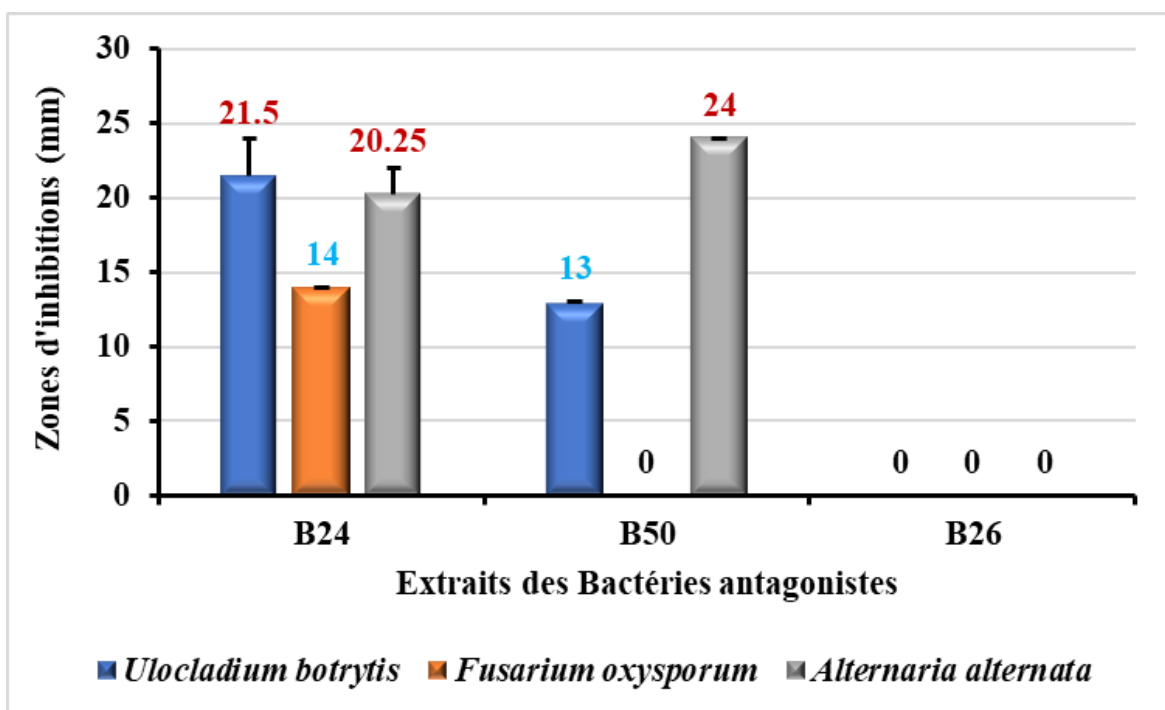


Figure 15. Activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits

Les défis posés par la résistance bactérienne aux antibiotiques, l'émergence de la résistance antifongique aux classes de médicaments les plus couramment utilisées, constituent un problème de santé majeur et représentent une menace constante pour les systèmes de santé et même pour l'agriculture à l'échelle mondiale. Il est donc crucial de développer de nouvelles approches pour la découverte de médicaments afin de les contrer (Marcellano et *al.*, 2017). De plus, ces dernières années, les composés naturels bioactifs sont très recherchés dans les domaines pharmaceutiques et naturopathie en raison de leurs bienfaits provenant des plantes (Singh et *al.*, 2017) (figure 16), et les micro-organismes pourraient offrir une alternative prometteuse en tant que sources de médicaments potentiels (Nurunnabi et *al.*, 2020).

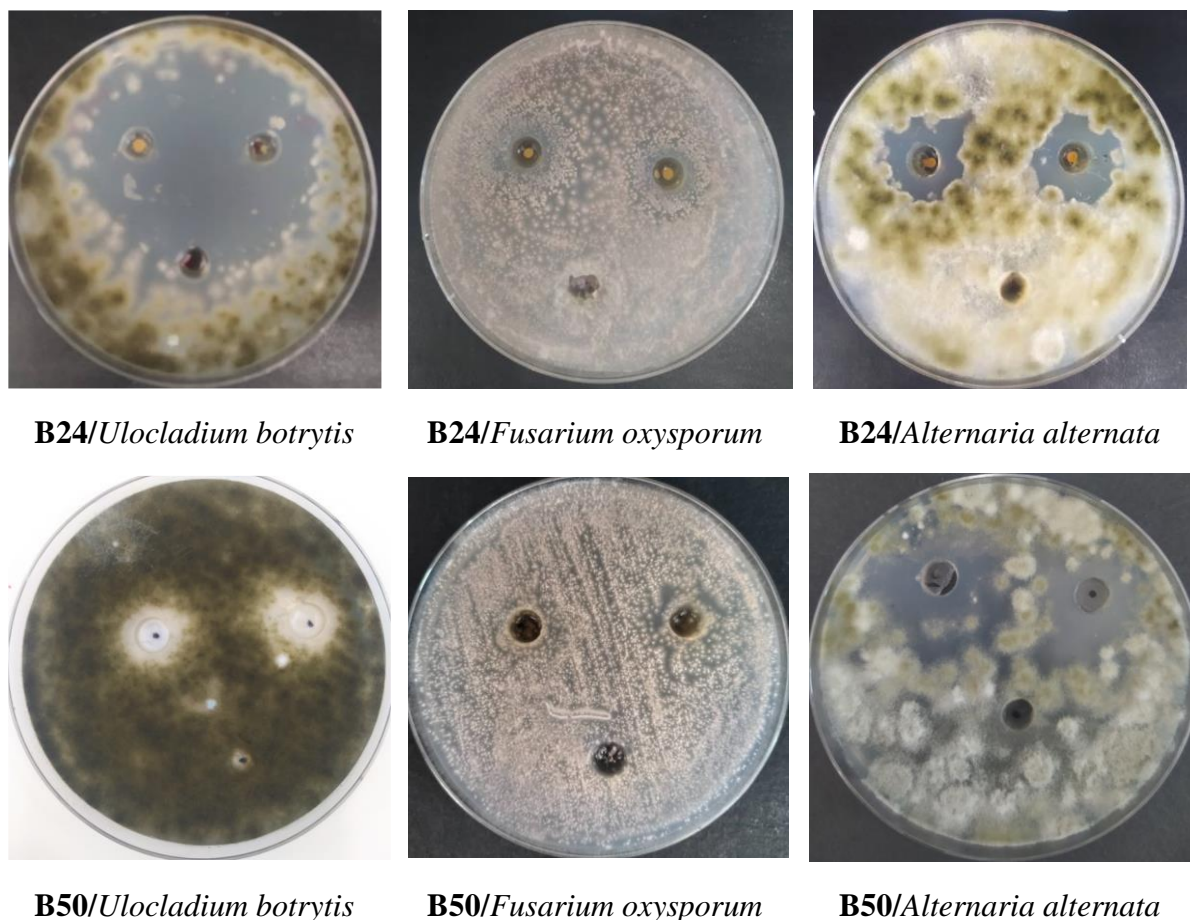


Figure 16. Quelques photos représentent l'activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenue par la méthode des puits.

Les extraits d'acétate d'éthyle de deux isolats sélectionnés ont montré une activité inhibitrice notable. Cette inhibition est probablement attribuable à la production de métabolites secondaires bioactifs plutôt qu'à la compétition pour les nutriments, car les composés antibactériens sont sécrétés dans le milieu de culture. Après extraction, et lorsque les agents pathogènes sont traités avec ces extraits, leur croissance est supprimée après 24 heures d'incubation. Cela peut s'expliquer par le fait que ces métabolites secondaires peuvent se diffuser dans l'environnement et inhiber la croissance des microorganismes pathogènes sélectionnés (Nurunnabi et *al.*, 2020).

L'extrait de l'isolat B24 a montré une activité contre *F. oxysporum* avec une zone d'inhibition de 14 mm. Dans une étude similaire réalisé par Abdel-Aziz et *al.*, (2021), des souches de

streptomycètes ont également été isolées à partir du sol rhizosphérique de la tomate. Les cinq meilleures souches ont été extraites à l'acétate d'éthyle et testées pour leur activité antifongique contre *F. oxysporum*. Les extraits de trois isolats, numérotés 11, 33 et 5, ont montré une activité antifongique plus élevée contre *F. oxysporum* avec des zones d'inhibition de 18, 16 et 20 mm respectivement. Ces isolats potentiels ont probablement produit des composés antifongiques, ce qui a inhibé la croissance des hyphes fongiques. La production d'antibiotiques, la sécrétion d'enzymes lytique, le mycoparasitisme et la compétition pour l'espace et les nutriments sont quelques-uns des mécanismes possibles de biocontrôle contre l'agent pathogène. La zones d'inhibition observée avec les isolats de streptomycètes dans cette étude pourrait suggérer la présence de diverses substances inhibitrices dans le milieu, affectant la croissance des hyphes de *F. oxysporum*.

Dans une autre étude similaire menée par Han, et *al.*, (2018), des actinomycètes ont été isolés à partir du sol rhizosphérique de *Mikania micrantha*. Les extraits d'acétate d'éthyle des isolats WZS1-1 et WZS2-1 ont montré une inhibition significative des champignons cibles. En particulier, les isolats WZS1-1 (*Streptomyces rochei*) et WZS2-1 (*Streptomyces sundarbansensis*) ont inhibé *Fusarium graminearum*, un champignon pathogène du blé, à plus de 80 %, avec des zones d'inhibition de $31 \pm 0,3$ mm et $19 \pm 0,5$ mm respectivement.

Les extraits d'acétate d'éthyle des isolats B24 et B50 ont montré une forte activité contre *Alternaria alternata*, avec des zones d'inhibition de 20 mm et 24 mm respectivement. Nos résultats concordent avec ceux de l'étude d'Evlat et al. (2023), qui a montré que l'isolat *Streptomyces* sp. CYP30 présentait les activités antifongiques les plus élevées lors du dépistage avec des extraits d'acétate d'éthyle obtenus à partir d'un bouillon de farine de soja contre *Alternaria* sp., avec une zone d'inhibition de 52 mm.

Deux antibiotiques angucyclines ont été isolés de l'extrait d'acétate d'éthyle du bouillon de fermentation de la souche *Streptomyces cellulosae* YIM PH20352 isolée du sol de la rhizosphère de *Panax notoginseng* collecté dans le comté de WenShang. Ils ont été identifiés comme étant l'urdamycinone B (1) et la déshydroxyaquayamycine (2). Les deux composés ont présenté l'activité antifongique la plus puissante contre *Alternaria panax* avec des valeurs de CMI de 16 et 64 μ /ml respectivement (Xu et *al.*, 2023).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Certaines bactéries présentes dans le sol sont reconnues pour leurs propriétés bénéfiques sur les plantes, notamment en favorisant leur croissance et en contrôlant les pathogènes. Plusieurs genres bactériens, appelés PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), sont connus pour stimuler la croissance des plantes en améliorant l'absorption des nutriments, en produisant des régulateurs de croissance, en activant les mécanismes de résistance induite et en agissant contre la microflore nocive.

Dans cette étude, nous nous sommes principalement concentrés sur l'isolement des bactéries présentes dans le sol rhizosphérique de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis*. Après leur isolement, 47 isolats ont été sélectionnés puis purifiés. Ces isolats ont ensuite été soumis à une sélection successive afin de choisir les meilleures antagonistes contre les trois champignons phytopathogènes *A. alternata*, *F. oxysporum* et *U. botrytis* et *aureus*. Parmi les isolats qui ont montré une remarquable contre les champignons phytopathogènes on retrouve les souches B5, B19, B24, B26, B37 et B50.

Par ailleurs, les isolats ont été utilisés pour évaluer leur activité antimicrobienne contre trois bactéries pathogènes ; *E. coli*, *M. luteus* et *S. aureus* à l'aide de la technique des cylindres d'agar et de la méthode de double couche respectivement. Parmi les 47 isolats testés, les isolats B24 et B41 étaient actifs contre les bactéries à Gram positif. En revanche, l'isolat B26 a montré une activité contre les trois bactéries pathogènes, tandis que B50 est montré une active uniquement contre *M. luteus*. De plus, B 41 est été évalué pour son potentiel antimicrobien également par la méthode de la double couche, révélant une activité avec la présence de zones d'inhibition importantes contre les espèces bactériennes pathogènes, mais aucune activité contre *E. coli*.

Concernant l'activité antibactérienne des extraits d'acétate d'éthyle, les extraits des bactéries B24 et B41 étaient actifs contre les bactéries à Gram positif, tandis que les bactéries à Gram négatif étaient complètement résistantes. En revanche, l'extrait de B26 était actif contre les trois bactéries pathogènes, tandis que l'extrait de l'isolat B50 ne montrait aucune activité.

Pour l'activité antifongique des extraits d'acétate d'éthyle, l'extrait de l'isolat B24 a montré une activité significative contre les trois champignons phytopathogènes, tandis que celui de l'isolat B26 était inactif. L'extrait de B50 a montré une activité contre *Ulocladium botrytis* et *Alternaria alternata*, mais aucune activité contre *Fusarium oxysporum*.

Les résultats obtenus suggèrent que les bactéries sélectionnées peuvent être utilisées efficacement comme moyen de lutte contre les champignons phytopathogènes et les bactéries pathogènes. Il serait donc judicieux d'identifier les métabolites bioactifs qui leur confèrent ce pouvoir.

En se fondant sur ces résultats, il est crucial d'approfondir les points suivants en tant que perspectives :

- Identification génotypique des isolats ;
- Identifier les métabolites bioactifs des souches antagonistes.
- Tester l'activité de ces isolats contre une gamme plus large de champignons phytopathogènes et de bactéries multirésistantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., & Bouregghda, H. (2019).** Occurrence of *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot in Algerian wheat: identification of associated species and assessment of aggressiveness. *European Journal of Plant Pathology*, 154, 499-512.
- 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.
- Akter, S., Jo, H., Du, J., Won, K., Yin, C. S., Kook, M. Yi, & T.-H. (2015).** *Pseudoxanthomonas humi* sp. nov., a bacterium isolated from rhizospheric soil of *Fraxinus chinensis* in Gyeonggi Province, South Korea. *Archives of microbiology*, 197(10), 1165-1172.
- Al-Nadabi, H. H., Maharachchikumbura, S. S. N., Agrama, H., Al-Azri, M., Nasehi, A., & Al-Sadi, A. M. (2018).** Molecular characterization and pathogenicity of *Alternaria* species on wheat and date palms in Oman. *European journal of plant pathology*, 152, 577-588.
- Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018).** *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future science OA*, 4(4), FSO283.
- Anirban Basu ;Priyanka prasad ;Subha Narayan Das ;Sadaf Kalam ; R.Z.Sayed ;M.S.Reddy and Hesham El Enshasy, (2021).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGBR) as Green Bioinoculantes : Recent Developments, Constraints, and Prospects, *Sustainability*,13,(3),1-20.
- Apsari, P. P., Budiarti, S. R. I., & Wahyudi, A. T. (2019).** *Actinomycetes* of rhizosphere soil producing antibacterial compounds against urinary tract infection bacteria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(5), :1259–1265.
- Barghouthi, S. A., Ayyad, I., Ayyesh, M., & Abu-Lafi, S. (2017).** Isolation, identification, and characterization of the novel antibacterial agent methoxyphenyl-oxime from *Streptomyces pratensis* QUBC97 isolate. *J. Antibiot. Res.*,1(105), 10-15744
- 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, 1140..
- Belosokhov, A. F., Belov, G. L., Chudinova, E. M., Kokaeva, L. Y., & Elansky, S. N. (2017).** *Alternaria* spp. and *Colletotrichum coccodes* in potato leaves with early blight symptoms.
- Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M. D., Biqiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., ... & Maggi, F. (2017).** *Rosmarinus eriocalyx*: An alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. *Food chemistry*, 218, 78-88.
- Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019).** *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of ethnopharmacology*, 229, 29-45.
- Bouanaka, H., & Bellil, I. (2022).** Interaction *Triticum durum/aestivum*, *Fusarium* spp. et *Trichoderma* spp (Thèse doctorat, Université Frères Mentouri-Constantine 1, Algérie).

- Bougherra, H. H., Bedini, S., Flamini, G., Cosci, F., Belhamek, K., & Conti, B. (2015).** *Pistacia lentiscus* essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. *Industrial Crops and Products*, 63: 249-255.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., & Djamel, T. (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris L.*) en aromathérapie anti infectieuse [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(4), 1418.
- Bouras FZ.** Isolement et caractérisation des microorganismes stimulateurs de la croissance de lentille (lens culinaris) (Thèse doctorat, Université Djillali Liabès de Sidi Bal Abbès, Algérie). 2018.
- Cáceres, J. A., Cuervo A, J. L., & Rodríguez C, J. L. (2017).** Effect of organic fertilization on yield and quality of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) essential oil. *Agronomía Colombiana*, 35(2), 232-237.
- Chen, T., Wang, L., Li, Q., Long, Y., Lin, Y., Yin, J., ... & Yin, Y. (2020).** Functional probiotics of lactic acid bacteria from Hu sheep milk. *BMC microbiology*, 20(1), 1-12.
- Chen, T., Yang, M., Cui, G., Tang, J., Shen, Y., Liu, J., ... & Huang, L. (2024).** IMP: bridging the gap for medicinal plant genomics. *Nucleic Acids Research*, 52(D1), D1347-D1354.
- Crous, P. W., Gow, N. A., Stukenbrock, E. H., James, T. Y., & Howlett, B. J. (2018).** *The fungal kingdom*. ASM Press.
- Davis, C. C., & Choisy, P. (2024).** Medicinal plants meet modern biodiversity science. *Current Biology*, 34(4), R158-R173.
- De Macedo, L. M., Santos, É. M. D., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2020).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis L., syn Salvia rosmarinus Spenn.*) and its topical applications: A review. *Plants*, 9(5), 651.
- Dehghani Bidgoli, R., Azarnezhad, N., Akhbari, M., & Ghorbani, M. (2019).** Salinity stress and PGPR effects on essential oil changes in *Rosmarinus officinalis L.* *Agriculture & Food Security*, 8, 1-7.
- Ding, Z., Ali, E. F., Almaroai, Y. A., Eissa, M. A., & Abeed, A. H. (2021).** Effect of potassium solubilizing bacteria and humic acid on faba bean (*Vicia faba L.*) plants grown on sandy loam soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 791-800.
- Diniz do Nascimento, L., Barbosa de Moraes, A. A., Santana da Costa, K., Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Leal Costa, C. M., ... & Guerreiro de Faria, L. J. (2020).** Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. *Biomolecules*, 10(7), 988.
- Djellout H., Mekheldi D., Belkacem KK., Raio A et Krimi Z. (2019).** Evaluation de potentiel de souche antagoniste de *Bacillus spp.* et de *pseudomonas spp.* Dans le contrôle d'agrobacterium spp. Pathogène impliqué dans la maladie de galle de collet. *Revue Agrobiologia.*; 9(1): 1267-1283.
- Dos Santos, R. M., Diaz, P. A. E., Lobo, L. L. B., & Rigobelo, E. C. (2020).** Use of plant growth-promoting rhizobacteria in maize and sugarcane: characteristics and applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 136.
- Edel-hermann, V., & Lecomte, C. (2019).** Current status of *Fusarium oxysporum* fomae speciales and races. *Phytopathology*, 109(4), 512-530.

- Egamberdieva, D., Alimov, J., Shurigin, V., Alaylar, B., Wirth, S., & Bellingrath-Kimura, S. D. (2021).** Diversity and plant growth-promoting ability of endophytic, halotolerant bacteria associated with *Tetragonia tetragonioides* (Pall.) Kuntze. *Plants*, 11(1), 49.
- Etesami, H., Emami, S., & Alikhani, H. A. (2017).** Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 897-911.
- Evlav, H., Toker, S. K., & Koçyiğit, A. (2023).** Screening for agroactive and bioactive metabolites production by actinobacteria isolated from rhizospheric soils. *Biologia*, 78(1), 187-200.
- Fan ZY., Miao CP., Qiao XG., Zheng YK., Chen HH., Chen YW., Guan HL. Diversity, (2016)** distribution, and antagonistic activities of rhizobacteria of *Panax notoginseng*. *Journal of ginseng research.*; 40(2), 97-104.
- Fatima N, Mukhtar U, Ihsan-Ul-Haq, Qazi MA, Jadoon M, Ahmed S. (2016).** Biological evaluation of endophytic fungus *Chaetomium* sp. NF15 of *Justicia adhatoda* L.: A potential candidate for drug discovery. *Jundishapur J Microbiol.* 9:e29978.
- Gandhimathi R., Arunkumar M., Selvin J., et al., (2008).** Antimicrobial potential of sponge associated marine actinomycetes. *J de Mycologie Médicale.* 18(1). 16-22.
- Giagnoni, L., Arenella, M., Galardi, E., Nannipieri, P., & Renella, G. (2018).** Bacterial culturability and the viable but non-culturable (VBNC) state studied by a proteomic approach using an artificial soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 51-58.
- Gislin, D., Sudarsanam, D., Raj, G. A., & Baskar, K. (2018).** Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi, India and their molecular identification. *Journal of genetic engineering and biotechnology*, 16(2), 287-294.
- Gonçalves, C., Fernandes, D., Silva, I., & Mateus, V. (2022).** Potential anti-inflammatory effect of *Rosmarinus officinalis* in preclinical in vivo models of inflammation. *Molecules*, 27(3), 609.
- González, M., Pérez, E., & Díaz, R. (2020).** Morphological Identification of *Fusarium oxysporum* from Wheat Fields. *Agricultural Sciences Journal.*, 11(2), 115-122.
- Gordon, T. R. (2017).** *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual review of phytopathology*, 55, 23-39.
- Gouda, S., Kerry, R. G., Paramithiotis, S., Shin, H. S., & Parta, J. K. (2018).** Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological research*, 206, 131-140.
- Guardiola-Márquez, C. E., Santos-Ramírez, M. T., Segura-Jiménez, M. E., Figueroa-Montes, M. L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2022). Fighting obesity-related micronutrient deficiencies through biofortification of agri-food crops with sustainable fertilization practices. *Plants*, 11(24), 3477.
- Guerrieri, M. C., Fanfoni, E., Fiorini, A., Trevisan, M., & Puglisi, E. (2020).** Isolation and screening of extracellular PGPR from the rhizosphere of tomato plants after long-term reduced tillage and cover crops. *Plants*, 9(5), 668.
- Hakim S, Naqqash T, Nawaz M S, Laraib I, Siddique MJ, Zia R, Mirza MS and Imran A., (2021) :** Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:617157.

- Hamzah TNT, Lee SY, Hidayat A, Terhem R, Faridah-Hanum I, Mohamed R. (2018).** Diversity characterization of endophytic fungi isolated from the tropical mangrove species, *Rhizophora mucronata*, and identification of potential antagonists against the soil -borne fungus, *Fusarium solani*. *Front Microbiol.* 9: 1707
- 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.
- Hu, C., Chen, P., Zhou, X., Li, Y., Ma, K., Li, S., ... & Li, L. (2022).** Arms race between the host and pathogen associated with Fusarium head blight of wheat. *Cells*, 11(15), 2275.
- Hu, R., Lai, K., Luo, B., Tang, R., Huang, R., & Ye, X. (2023).** The medicinal plant used in the Guangxi Fangcheng Golden Camellias national nature reserve, a coastal region in southern China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 19(1), 32.
- Hudson, O., Fulton, J. C., Dong, A. K., Dufault, N. S., & Ali, M. E. (2021).** *Fusarium oxysporum* f. sp. Niveum molecular diagnostics past, present and future. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (18), 9735.
- Ismail, A. M., Elshewy, E. S., El-Ganainy, S. M., Magistà, D., Hamouda, A. F., Alhudaib, K. A., ... & Almaghasla, M. I. (2023).** Mycotoxins from tomato pathogenic *Alternaria alternata* and their combined cytotoxic effects on human cell lines and male albino rats. *Journal of Fungi*, 9(3), 282.
- Janaki, T., Nayak, B. K., & Ganesan, T. (2016).** Antibacterial activity of soil *actinomycetes* from the mangrove *Avicennia marina*. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 5(1), 267-271.
- Jarolim K, Favero GD, Pahke G, Dostal V, Zimmermann V, Heiss E, Ellmer D, Stark TD, Hofmann T, Marko D.** Activation of the Nrf2-ARE pathway by the *Alternaria alternata* mycotoxines altertoxin I and II. *Arch toxicol* 2017;91(1):203-16
- Jiao, X., Takishita, Y., Zhou, G., & Smith, D. L. (2021).** Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Frontiers in plant science*, 12, 634796.
- Johnson, M., Lee, H., & Kim, S. (2022).** Enhancing plant disease resistance and growth through rhizosphere bacteria isolated from *Rosmarinus officinalis*. *Plant and Soil*, 432(1-2), 145-157.
- Kalam, S., Basu, A., & Podile, A. R. (2020).** Functional and molecular Characterization of plant growth promoting Bacillus isolates from tomato rhizosphere. *Heliyon*, 6(8), 04734.
- Karthika, S., Midhun, S. J., & Jisha, M. S. (2020).** A potential antifungal and growth promoting bacterium *Bacillus* sp. KTMA4 from tomato rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*, 142, 104049.
- Kawa, D., & Brady, S. M. (2022).** Root cell types as an interface for biotic interactions. *Trends in plant science*, 27(11), 1173-1186.
- Kępczyńska, E., & Karczyński, P. (2020).** *Medicago truncatula* root developmental changes by growth-promoting microbes isolated from Fabaceae, growing on organic farms, involve cell cycle changes and WOX5 gene expression. *Planta*, 251, 1-19.
- Khadayat, K., Sherpa, D. D., Malla, K. P., Shrestha, S., Rana, N., Marasini, B. P., ... & Parajuli, N. (2020).** Molecular identification and antimicrobial potential of *Streptomyces* species from Nepalese soil. *International journal of microbiology*, 8.

- Köhl, J., Booij, K., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019).** Ecological arguments to reconsider data requirements regarding the environmental fate of microbial biocontrol agents in the registration procedure in the European Union. *BioControl*, 64(5), 469-487.
- Koo, Y. M., Heo, A. Y., & Choi, H. W. (2023).** Isolation and Identification Antagonistic Bacterium *Paenibacillus tianmuensis* YM002 against *Acidovorax citrulli*. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1173695.
- Laraba, I., Bouregghda, H., Abdallah, N., Bouaicha, O., Obanor, F., Moretti, A & O'Donnell, K. (2017).** Population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusarium culmorum* in Algeria. *Fungal Genetics and Biology*, 103, 34-41.
- LARADJ ZAZOU, K. (2017).** Isolement et caractérisation des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes capables de lutter contre le *Fusarium* (Doctoral dissertation).
- Larsson, D. G., & Flach, C. F. (2022).** Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269.
- Lee H.B, Patriarca A, Magan N. (2015).** *Alternaria* in Food: Ecophysiology, Mycotoxin Production and Toxicology. *Mycobiology*, 43, 2015, pp. 93-106. DOI: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.2.93>.
- Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., & Coton, E. (2017).** Antifungal microbial agents for food biopreservation—A review. *Microorganisms*, 5(3), 37.
- Ling, N., Wang, T. & Kuzyakov, Y. (2022).** Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nat Commun*, 13, 836.
- Loganathan, M., Venkataravanappa, V., Saha, S., Rai, A. B., Tripathi, S., Rai, R. K., ... & Chowdappa, P. (2016).** Morphological, pathogenic and molecular characterizations of *Alternaria* species causing early blight of tomato in Northern India. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 86, 325-330.
- Maheshwari, D. K., Dheeman, S., and Agarwal, M. (2015).** “Phytohormone producing PGPR for sustainable agriculture,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (Cham: Springer), 159–182.
- Marcellano JP, Collanto AS, Fuentes RG. 2017.** Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from the bark of *Cinnamomum mercadoi*. *Pharmacogn J*. 9:405–409.
- Martinko, K., Ivanković, S., Lazarević, B., Đermić, E., & Đermić, D. (2022).** Control of early blight fungus (*Alternaria alternata*) in tomato by boric and phenylboronic acid. *Antibiotics*, 11(3), 320.
- Matny, O. N. (2015).** *Fusarium* head blight and crown rot on wheat & barley: losses and health risks. *Adv Plants Agric Res*, 2(1), 00039.
- Mesterhazy, A. (2020).** Updating the breeding philosophy of wheat to *Fusarium* head blight (FHB): Resistance components, QTL identification, and phenotyping—A review. *Plants*, 9(12), 1702.
- Mesterhazy, A. (2024).** What Is *Fusarium* Head Blight (FHB) Resistance and What Are Its Food Safety Risks in Wheat? Problems and Solutions—A Review. *Toxins*, 16(1), 31.
- Milet, A., & Kacem Chaouche, N. (2017).** Isolement de microorganismes à partir du sol des régions arides et sélection d'isolats à effet antagoniste sur l'agent de l'*Alternariose* (Thèse doctorat, Université Frères Mentouri-Constantine 1, Algérie).

- Modi, K., Patel, P., & Parmar, K. (2017).** Isolation, screening and characterization of PGPR from rhizosphere of rice. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5(3), 264-270.
- Moragrega, I., & Ríos, J. L. (2021).** Medicinal plants in the treatment of depression: Evidence from preclinical studies. *Planta medica*, 87(09), 656-685.
- Mutai C, Bii C, Vagias C, Abatis D, Roussis V. 2009.** Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *J Ethnopharmacol.* 123:143–148.
- Nehela, Y., Mazrou, Y. S., Taha, N. A., Elzaawely, A. A., Xuan, T. D., Makhlouf, A. H., & El-Nagar, A. (2023).** Hydroxylated Cinnamates Enhance Tomato Resilience to *Alternaria alternata*, the Causal Agent of Early Blight Disease, and Stimulate Growth and Yield Traits. *Plants*, 12(9), 1775.
- Nurunnabi TR, Sabrin F, Sharif DI, Nahar L, Sohrab MH, Sarker SD, Rahman SMM, Billah MM. (2020).** Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from the mangrove plant *Sonneratia apetala*(Buch.-Ham) from the Sundarbans mangrove forest. *Advances in Traditional Medicine*, 20, 419-425.
- Oleńska, E., Malek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., and Vangronsveld, J. (2020).** Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: a methodical review. *Sci. Total Environ.* 743:140682.
- Patel, T. S., & Minocheherhomji, F. P. (2018).** Plant growth promoting Rhizobacteria: blessing to agriculture. *Int J Pure App Biosci*, 6(2), 481-492.
- Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., ... & Xu, B. L. (2021).** Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. *Frontiers in Microbiology*, 12, 670135.
- Rafanomezantsoa, P., Gharbi, S., Karkachi, N., & Kihal, M. (2022).** Antifungal activity of *Bacillus spp.* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Ascochyta* sp. *Journal of Plant Protection Research*, 247-257.
- Rahbardar, M. G., & Hosseinzadeh, H. (2020).** Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iranian journal of basic medical sciences*, 23(9), 1100.
- Ramachandran, G., Rajivgandhi, G., Maruthupandy, M., & Manoharan, N. (2018).** Isolation and identification of antibacterial compound from marine endophytic actinomycetes against multidrug resistant bacteria. *Ann Microbiol Immunol.* 1 (1), 1003.
- Rehman, F. U., Kalsoom, M., Adnan, M., Toor, M., & Zulfiqar, A. (2020).** Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production: A review. *SunText Rev. Biotechnol*, 1(2), 1-6.
- Reinhold-Hurek, B., Büniger, W., Burbano, C. S., Sabale, M., & Hurek, T. (2015).** Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity. *Annual review of phytopathology*, 53, 403-424.
- Sadrati, N. (2021).** Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs (Thèse doctorat, université Farhat Abbas Sétif 1, Algérie).
- Salvatore, M. M., & Andolfi, A. (2021).** Phytopathogenic fungi and toxicity. *Toxins*, 13(10), 689.
- Shaikh, S. S., & Sayyed, R. Z. (2015).** Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their formulation in biocontrol of plant diseases. In *Plant microbes symbiosis: Applied facets* (pp. 337-351). Springer, New Delhi.
- Sharma, I. (2021).** Phytopathogenic fungi and their biocontrol applications. In *Fungi Bio-Prospects in Sustainable Agriculture, Environment and Nano-Technology*; *Academic Press.* (pp. 155-188).

- Sharma, M., Sood, G., & Chauhan, A. (2021).** Bioprospecting beneficial endophytic bacterial communities associated with *Rosmarinus officinalis* for sustaining plant health and productivity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37, 1-17.
- Sharma, N. (2024).** Endophytic bacteria associated with critically endangered medicinal plant *Trillium govanianum* (Wall ex. Royle) and their potential in soil nutrition alleviation. *Plant Stress*, 11, 100349.
- Sibero MT, Radjasa OK, Sabdono A, Trianto A, Triningsih DW, Hutagaol ID. (2018).** Antibacterial activity of Indonesian sponge associated fungi against clinical pathogenic multidrug resistant bacteria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(2), 088-094.
- Singh M, Kumar A, Singh R, Pandey KD. 2017.** Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech*. 7:1–14.
- Singh, P., Kumar, V., & Verma, R. (2021).** Morphological and Molecular Characterization of *Fusarium oxysporum* Isolated from Wheat Fields. *Plant Pathology Journal.*, 37(2), 113-120.
- Smith, J., Doe, A., & Brown, C. (2021).** Isolation and characterization of rhizosphere bacteria from *Rosmarinus officinalis*: Effects on plant growth and environmental stress tolerance. *Journal of Plant Interactions*, 16(2), 123-134.
- Soliman, S. A., Abdelhameed, R. E., & Metwally, R. A. (2023).** In vivo and In vitro evaluation of the antifungal activity of the PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* RaSh1 (MZ945930) against *Alternaria alternata* with growth promotion influences on *Capsicum annum L. plants*. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 70.
- Son SY, Lee S, Singh D, Lee NR, Lee DY, Lee CH. 2018.** Comprehensive secondary metabolite profiling toward delineating the solid and submerged-state fermentation of *Aspergillus oryzae* KCCM 12698. *Front Microbiol*. 9:1312.
- Stamenov, D., Đurić, S., & Jafari, T. H. (2021).** Biostimulatory potential of microorganisms from rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) rhizospheric soil.
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., and Aaliya, K. (2017).** Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102–117.
- Tang, H., Hassan, M. U., Feng, L., Nawar, M., Shah, A. N., Qari, S. H., ... & Miao, j. (2022).** The critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. *Frontiers in Plant Science*, 13, 919166.
- Touati-Hattab, S., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M. N., Chereau, S., Richard-Forget, F., Hadjout, S., ... & Bouznad, Z. (2016).** Pathogenicity and trichothecenes production of *Fusarium culmorum* strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*, 145, 797-814.
- Tozlu, E., Tekiner, N. A. S. I. B. E., Kotan, R., & Örtücü, S. E. R. K. A. N. (2018).** Investigation on the biological control of *Alternaria alternata*. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 88(8).
- Venturi, V., Keel, C., (2016).** Signalisation dans la rhizosphère. *Tendances Plant Sci.* 21, 187 e198.
- Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., & Sun, Y. (2020).** Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere*, 254, 126791.

Wang, B., Lou, T., Wei, L., Chen, W., Huang, L., Ding, L., ... & Wang, K. (2021). Biochemical and molecular characterization of *Alternaria alternata* isolates highly resistant to procymidone from broccoli and cabbage. *Phytopathology Research*, 3, 1-14.

Wang, H., Liu, R., You, M. P., Barbetti, M. J., & Chen, Y. (2021). Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (PGPR): Role of bacterial diversity. *Microorganisms*, 9(9), 1988.

Wong, W., Tan, S., Ge, L., Chen, X., and Yong, J. (2015). “The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (*Cham: Springer*), 105–158.

Xie, J., Shi, H., Du, Z., Wang, T., Liu, X., & Chen, S. (2016). Comparative genomic and functional analysis reveal conservation of plant growth promoting traits in *Paenibacillus polymyxa* and its closely related species. *Scientific reports*, 6(1), 1-12.

Xu, X. D., Zhao, Y., Bao, K., Miao, C. P., Tang, S. K., Wu, S. H., & Li, Y. Q. (2023). Isolation, Structure Elucidation and Antifungal Activity of Angucycline Antibiotics from *Streptomyces cellulosa*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 59(4), 456-461.

Yasmin, S., Zaka, A., Imran, A., Zahid, M. A., Yousaf, S., Rasul, G., ...& Mirza, M. S. (2016). Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by inoculated bacteria. *PLoS one*, 11(8), 0160688.

Zabouri, Y. Etude de l'Activité Antifongique des Bactéries Lactiques vis à vis des Champignons Phytopathogènes (Thèse doctorat., Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis, Algérie).

Zahoor, S., Naz, R., Keyani, R., Roberts, T. H., Hassan, M. N., Yasmin, H., ... & Farman, S. (2022). Rhizosphere bacteria associated with *Chenopodium quinoa* promote resistance to *Alternaria alternata* in tomato. *Sci Rep* 12: 19027

Zerroug, A. (2021). Champignons endophytes des plantes médicinales de la région de Sétif: isolement, Identification et activités biologiques ((Thèse doctorat, université Farhat Abbas Sétif 1, Algérie).

Zhang, M. J., Zheng, X. R., Li, H., & Chen, F. M. (2023). *Alternaria alternata*, the causal agent of a new needle blight disease on *Pinus bungeana*. *Journal of Fungi*, 9(1), 71.

Zheng, Z., Powell, J., Gao, S., Percy, C., Kelly, A., Macdonald, B., ... & Liu, C. (2022). Investigation of two QTL conferring seedling resistance to *Fusarium* crown rot in barley on reducing grain yield loss under field environments. *Agronomy*, 12(6), 1282.

ANNEXES

Annexes

Annexe 01 : Produit chimiques

- Eau distillée
- Eau physiologique
- Eau de javel
- DMSO
- Solvant d'acétate d'éthyle
- Glucose
- Agar
- La gentamicine
- Pénicilline
- NaCL (chlorure de sodium)
- Bleu de Méthylène
- Gélose nutritive

Annexe 02 : Composition des milieux de cultures

Milieu Potato Dextrose Agar (PDA)

Pommes de terre	200g
Glucose	20 g
Agar	14 g
Eau distillée	1000 ml

Gélose nutritive (GN)

GN	23g
Eau distillée	1000ml

Milieu ISP2+PDA

Pommes de terre	100g
Glucose	4g
Agar	17g/l
Extrait de levure	4 g
Extrait de malte	10g
Eau distillée	200 ml

L'eau physiologique

NaCl	9g
Eau distillée	1000ml

BN Semi solide

BN	8g
Agar	7g
Eau distillée	1000 ml

Bouillon nutritif

Poudre de BN	7g
Eau distillée	1000 ml

Milieu plate Count Agar (PCA)

Poudre de PCA	23g
Eau distillée	1000ml

Gélose molle

Agar	7g
L'eau distillé	1000 ml

الغرض من هذه الدراسة هو عزل البكتيريا الجذرية من نبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* من أجل تقييم نشاطها البيولوجي كبديل للمضادات الحيوية و مضادات الفطريات التقليدية. بعد إجراء فحص أولي يعتمد على شدة تثبيط نطاق النشاط و النمط الشكلي، تم اختيار ستة عزلات لمواصلة الدراسة. أظهرت العزلات B24 و B50 نشاطاً مضاداً للفطريات هو الأبرز، حيث أظهرت العزلة B24 نسب تثبيط بلغت 48,81% ضد *Ulocladium botrytis* و 49,08% ضد *Alternaria alternata*، بينما أظهرت العزلة B50 نسب تثبيط بلغت 47,37%، 54,92%، و 73,19% على التوالي ضد *Ulocladium botrytis*، *Fusarium oxysporum* و *Alternaria alternata*. في المقابل، أظهرت العزلات B19، B26، B05، B37 و نشاطاً أقل فعالية. أظهرت الفحوصات الأولية للنشاط المضاد للبكتيريا أن العزلات B41 و B24، B26، B41 كانت نشطة ضد بكتيريا واحدة على الأقل من البكتيريا المختبرة، و أظهرت العزلة B24 نشاطاً بارزاً ضد البكتيريا الثلاثة. بعد الاستخلاص، تم تقييم النشاط المضاد للمكروبات لمستخلصات الأسيتات الإيثيلي بواسطة طريقة الحفر. كان مستخلص العزلة B26 نشطاً ضد البكتيريا الثلاثة مع مناطق تثبيط تتراوح بين 23 و 24,5 mm التي تم الحصول عليها بواسطة العزلة B24 ضد *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* على التوالي، ولم يُلاحظ أي نشاط للعزل B50 بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، تم الحصول على أعلى الأنشطة بواسطة مستخلص العزل B50 (24 mm) ضد *Alternaria alternata* و مستخلص العزل B24 الذي أظهر مناطق تثبيط بلغت 20,25 و 21,5 mm ضد *Alternaria alternata* و *Ulocladium botrytis* على التوالي، بينما كان *Fusarium oxysporum* هو الأكثر مقاومة. لم يُظهر مستخلص العزل B26 أي نشاط مضاد للفطريات. تُظهر نتائج هذه الدراسة أن العزلات الجذرية المدروسة قادرة على أن تكون مصدرًا واعدًا للمستقلبات الثانوية النشطة بيولوجياً.

الكلمات المفتاحية: الفطريات النباتية الممرضة، PGPR، *Rosmarinus officinalis*، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للفطريات.

Résumé

Le but de cette étude est d'isoler les bactéries rhizosphériques de *Rosmarinus officinalis* afin d'évaluer leurs activités biologiques comme alternative aux antibiotiques et antifongiques traditionnels. Après un criblage préliminaire basé sur l'intensité de l'inhibition, le spectre d'activité et le morphotype, six isolats ont été sélectionnés pour poursuivre l'étude. Les isolats B24 et B50 ont montré une activité antifongique la plus significative ; l'isolat B24 a montré des taux d'inhibition de 48,81 % contre *Ulocladium botrytis*, 42,86 % contre *Fusarium oxysporum* et 49,08 % contre *Alternaria alternata*, tandis que l'isolat B50 a montré des taux d'inhibition de 47,37 %, 54,92 % et 73,19 % respectivement contre *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. En revanche, les isolats B5, B19, B26 et B37 ont montré une activité moins efficace. L'examen préliminaire de l'activité antibactérienne a montré que les isolats B24, B26, B41 et B41 étaient actifs contre au moins une bactérie testée ; et l'isolat B24 a montré une activité remarquable contre les trois bactéries. Après extraction, l'activité antimicrobienne des extraits de l'acétate d'éthyle a été évaluée par la méthode du puits. L'extrait de l'isolat B26 était actif contre les trois bactéries avec des zones d'inhibition comprises entre 23 et 24,5 mm, tandis que les isolats B24 et B41 présentaient une forte activité antibactérienne uniquement contre les bactéries à Gram-positifs, où les meilleures zones d'inhibition étaient de 25,25 et 28 mm obtenues par l'isolat B24 contre *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* respectivement, et aucune activité n'a été observée pour l'isolat B50. Pour l'activité antifongique, les activités les plus élevées ont été obtenues par l'extrait de l'isolat B50 (24 mm) contre *Alternaria alternata*, et l'extrait de l'isolat B24 qui a montré des zones d'inhibition de 20,25 et 21,5 mm contre *Alternaria alternata* et *Ulocladium botrytis* respectivement, tandis que *Fusarium oxysporum* était le plus résistants. L'extrait de l'isolat B26 n'a montré aucune activité antifongique. Les résultats de ces travaux montrent que les isolats rhizosphériques étudiés sont capables d'être une source prometteuse de métabolites secondaires bioactifs.

Mots-clés : Champignons phytopathogènes, PGPR, *Rosmarinus officinalis*, activité antimicrobienne, activité antifongique.

Abstract

The purpose of this study is to isolate rhizospheric bacteria from *Rosmarinus officinalis* to evaluate their biological activities as alternatives to traditional antibiotics and antifungals. After a preliminary screening based on the intensity of inhibition, spectrum of activity, and morphotype, six isolates were selected for further study. Isolates B24 and B50 showed the most significant antifungal activity, the isolate B24 was showed inhibition rates of 48.81% against *Ulocladium botrytis*, 42.86% against *Fusarium oxysporum*, and 49.08% against *Alternaria alternata*, while the isolate B50 was showed inhibition rates of 47.37%, 54.92%, and 73.19% respectively against *Ulocladium botrytis*, *Fusarium oxysporum*, and *Alternaria alternata*. In contrast, the isolates B5, B19, B26, and B37 showed less effective activity. The preliminary examination of antibacterial activity showed that isolates B24, B26, B41, and B41 were active against at least one tested bacterium, and isolate B24 showed remarkable activity against all three bacteria. After extraction, the antimicrobial activity of ethyl acetate extracts was evaluated by the well diffusion method. The extract of isolate B26 was active against all three bacteria with inhibition zones ranging from 23 to 24.5 mm, while isolates B24 and B41 exhibited strong antibacterial activity only against Gram-positive bacteria, with the best inhibition zones being 25.25 and 28 mm obtained by isolate B24 against *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus* respectively, and no activity was observed for isolate B50. For antifungal activity, the highest activities were obtained by the extract of isolate B50 (24 mm) against *Alternaria alternata*, and the extract of isolate B24 which showed inhibition zones of 20.25 and 21.5 mm against *Alternaria alternata* and *Ulocladium botrytis* respectively, while *Fusarium oxysporum* was the most resistant. The extract of isolate B26 showed no antifungal activity. The results of this work indicate that the studied rhizospheric isolates are capable of being a promising source of bioactive secondary metabolites.

Keywords: Phytopathogenic fungi, PGPR, *Rosmarinus officinalis*, antimicrobial activity, antifungal activity.