



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahim - 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 الفلاحية.

Département des Sciences Agronomiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

Intitulé

**Isolement à partir de la rhizosphère des céréales des bactéries
bénéfiques et antagonistes aux microorganismes Phytopathogènes**

Présenté par :

- **Bearcia Aya**
- **Belouà Randa**

Devant le jury :

Président : Mr Mouloud Ait Mechdal MCA (Université de Bordj Bou Arreridj)

Examineur : Mr Moutassem Dahou MCA (Université De Bordj Bou Arreridj)

Encadreur : Mme Messaoudi Hanane MAA (Université De Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENTS

*Avant tout nous remercions le DIEU le tout puissant de nous
avons donné la force, le courage, la santé et la patience pour
pourvoir accomplir ce travail*

*Nous souhaitons adressons nos remerciements le plus
sincères à notre encadrante malle « Messaoudi Hanane »
pour son aide, ses conseils et remarques et sa compréhension*

*Nous tenons bien sûr à remercier aux membres de jury pour
avoir accepté d'évaluer notre travail*

*Nous ne pourrai qu'exprimer un infini remerciement plein de
gratitude, à tous les membres du laboratoire et les
Agricultures qui ont participé à la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance qu'ils
trouvent ici le témoignage de notre profonde reconnaissance*

*Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loin
à l'aboutissement de ce modeste travail.*

DÉDICACE

C'est avec l'aide d'Allah, avec un grand honneur, une
grande fierté et une immense joie
Que je dédie ce modeste travail:

A mes adorables, les personnes les plus chères de ma vie mes
parents pour leur amour et
leur tendresse leur soutien, que dieu leur procure bonne
santé et longue vie

A mes sources de bonheur mes sœurs pour leur présence et
leur encouragement et mon
beau-frère

RIMA et MANEL, HASSEN

Mes neveux:

ANES et HAITHEM

et notre princesse ma nièce:

AMIRA

A toute ma famille BEL OUAR et BENABDALLAH

À tous mes camarades de la promotion 2017-2022

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail:

A mes très chers parents

A mes chères sœurs

A mes chers frères

A toute ma famille

A tous mes proches et tous mes amis

Aya

Sommaire

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
Remerciements	3
Introduction	1
1. La communauté microbienne de la rhizosphère.....	3
2. Les bactéries bénéfiques.....	4
2.1 Les bactéries rhizosphériques en tant qu'organismes stimulateurs de la croissance des plantes	5
2.2 Les bactéries rhizosphériques en tant qu'agent de lutte biologique.....	5
3. Les champignons bénéfiques.....	6
3.1 Les champignons bénéfiques en tant qu'agent de lutte biologique	6
3.2 Les champignons bénéfiques en tant qu'organismes stimulateurs de la croissance des plantes	7

Matérielles Et Méthodes

1. Objectif de l'expérimentation.....	9
2. Prélèvement des échantillons.....	9
3. Isolement des rhizobactéries	10
3.1 Méthode des suspensions-dilutions.....	10
3.2 Sélection des colonies bactériennes	11
3.3 Purification des souches bactériennes.....	11
4. Identification des souches antagonistes.....	12
4.1. Observation macroscopique des souches bactériennes sélectionnées.....	12
4.2. Observation microscopique des souches bactériennes sélectionnées	13
4.1 Coloration de Gram.....	13
5. Caractérisation du potentiel de promotion de la croissance de souches antagonistes isolées in vitro.....	14
5.1 Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur du coléoptile de la variété Gta dur de blé dur	14
5.1.2 Préparation de la suspension bactérienne.....	15
5.1.3 Evaluation de l'activité stimulatrice de la croissance in vitro	15
5.1.4 Evaluation de la capacité des souches PGPR à produire des enzymes a intérêt agricole.....	15

6. Production d'Amylase.....	15
7. Production de Protéase.....	16
8. Production de lipase.....	16
9. Evaluation de l'activité antagoniste in-vitro des trois souches sélectionnées à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes.....	16

Résultat et discussions

1. Screening des Rhizobactéries à traits PGPR.....	18
2. Purification des souches rhizobactériennes.....	18
3. Identification des souches.....	18
3.1 Observation macroscopique des souches bactériennes.....	18
3.2 Observation microscopique des souches rhizobactériennes.....	19
4. Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur du coléoptile de la variété GTA dur de blé.....	22
4.1 Effet sur le taux de germination des graines de blé.....	22
4.2 Effet sur la longueur de coléoptile.....	23
5. Evaluation de la capacité des souches PGPR à produire des enzymes a intérêt agricole	23
5.1 Production d'Amylase.....	23
5.2 Production de protéase.....	24
5.3 Production de Lipase à reformuler.....	25
6. Evaluation de l'activité antagoniste des souches OL2, OL4 et AS4 à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes.....	27
7. Discussion.....	28
7.1 Isolement et purification des rhizobactéries.....	28
7.2 Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur de coléoptile de la variété Gta dur de blé dur.....	29
7.3 Production d'enzymes.....	30
7.4 Production d'amylase.....	30
7.5 Production de protéase.....	31
7.6 Production de lipase.....	31
Conclusion et perspectives.....	33

Liste des figures

Figure 01	Les interactions au sein de la rhizosphère impliquant la plante et les microorganismes	03
Figure 2	Présentation des différentes phases du phénomène d'induction de résistance chez les plantes par les Rhizobactéries. La perception de la bactérie par l'hôte végétal via un (des) éliciter(s) moléculaire(s) est la première étape	05
Figure 03	Matériel végétale	10
Figure 04	Etapes d'isolement des bactéries rhizosphérique	11
Figure 05	les différentes étapes de la coloration de Gram	14
Figure 06	La recherche de l'activité amylolytique (Hydrolyse de l'amidon)	15
Figure 07	La recherche de l'activité protéolytique (hydrolyse des protéines)	16
Figure 08	La recherche de l'activité lipolytique (hydrolyse des lipides)	16
Figure 09	Effet antagoniste des trois souches rhizobactériennes sélectionnées à l'égard de quleques	17
Figure 10	aspect microscopique des souches rhizobactériennes avec le grossissement $\times 100$	22
Figure 11	Effet des 24 souches rhizobactériennes isolées sur le taux de germination des graines de blé de la variété GTA dur	22
Figure 12	Effet des 24 souches rhizobactériennes isolées sur la longueur de la coléoptile de la variété GTA dur de blé dur	23
Figure 13	Production d'Amylase	24
Figure 14	Production de protéase	25
Figure 15	production de Lipase chez les bactéries OL4, OL2, AS4 et BO1	26
Figure 16	Effet antagoniste des trois souches rhizobactériennes sélectionnées à l'égard de neuf bactéries Phytopathogènes	28

Liste des tableaux

Tableau 01	Les différentes variétés de blé dur utilisées	12
Tableau 02	Les différentes souches bactériennes isolées	14
Tableau 03	Origine des prélèvements, caractères morphologiques des espèces bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de blé	23
Tableau 04	Observation microscopique des souches rhizobactériennes bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de blé	25
Tableau 05	Résultats des différents tests d'activités enzymatiques réalisés	31
Tableau 06	Effet antagoniste des trois souches rhizobactériennes à l'égard de 09 bactéries Phytopathogènes	31

Liste des abréviations

PGPF : plant growth promotion fungi

PGP: Plant Growth promotion.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobactéries.

EDS: Eau déstili stérile

UFC : Unités Formant Colonies

KB: King B

GN : gélose nutritive

PDA : gélose dextrose à la pomme

MHA : Milliards hectares

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

Sur les 13 Milliards d'hectares (Mha) de terres émergées dans le monde environ 4,9 (Mha) sont des terres agricoles, 4,0(Mha) des forêts et 4,1(Mha) correspondent à des « autres usages » essentiellement liés à l'urbanisation. On estime que la dégradation des terres menace près d'un milliard de personnes dans une centaine de pays (FAO, 2019).

La sécheresse, la rareté des ressources en eau, la salinité, des risques parasitaires accrus (adventices, ravageurs et maladies...) sont de sérieux problèmes qui affectent la production agricole.

Sachant que la population mondiale est censée atteindre 9 milliards en 2050, des progrès considérables sont à accomplir dans les systèmes de production agricoles afin de garantir la sécurité alimentaire.

L'alimentation humaine représente pour sa part de l'ordre de 137 mt dont environ 90 mt correspondant à des céréales en grains (FAO, 2016).

Les céréales, présentent toutes à la fois un intérêt en termes d'apport de protéines mais aussi d'énergie pour l'homme et l'animal.

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures (STAT, 2019).

Cependant, les céréales peuvent être naturellement affectés par différentes maladies et ravageurs au cours du cycle végétatif, comme au moment de la récolte ou pendant le stockage. Parmi les maladies les plus redoutables de céréales, figurent les maladies fongiques qui peuvent conduire à de grands dommages quantitatifs et qualitatifs. Les fusarioses sont les maladies les plus compliquées. Elles attaquent tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis.

Bien qu'on dispose aujourd'hui d'une gamme variée de produits chimiques, l'utilisation massive de ces derniers pose des problèmes sur l'environnement et sur la santé (Corbaz, 1990 ; Nakkeeranet al., 2005) .

Introduction

Pour ces raisons, il est donc devenu nécessaire de réduire l'utilisation des pesticides en adoptant un ensemble de mesures alternatives (rotations, assolements, travail du sol sans labour, diversité des cultures...)

Les biopesticides microbiens constitués de micro-organismes (bactérie, champignons, virus) ont un intérêt dans la réduction des populations de bio-agresseurs.

Des recherches importantes ont porté ces dernières années sur des associations bénéfiques entre plantes et microorganismes, il s'agit des associations :

- Plantes/ champignons PGPF (des isolats de *Trichoderma* spp) et ;
- Plantes/bactéries PGPR (bactéries promotrices de la croissance des plantes *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp....).

Dans ce contexte, les travaux présentés dans ce mémoire ont pour objectif l'étude de l'interaction plante/micro-organisme dans la rhizosphère des céréales. Ils concernent :

- L'isolement et la sélection des souches antagonistes (bactéries PGPR et isolats fongiques PGPF) à partir de la rhizosphère de blé dur *Triticum durum*.
- L'isolement et la sélection des souches bactériennes et isolats fongiques pathogènes associés à la culture de blé.
- Caractérisation du pouvoir de promotion de la croissance des PGPR in vitro.
- L'évaluation du pouvoir antagoniste des souches les plus prometteuses (PGPR et PGPF) à l'égard de certaines bactéries et champignons phytopathogènes in vitro.

Cette approche permet de sélectionner des micro-organismes potentiellement intéressants et d'augmenter significativement les chances de découvrir de nouveaux PGPR et/ou PGPF

Introduction

1. La communauté microbienne de la rhizosphère

La rhizosphère est « la portion du sol qui forme l’habitat complexe des racines du couvert végétal et dont la composition est altérée par l’activité racinaire » selon **(Hiltner dans Mantelin et Touraine, 2004)**.il s’agit du volume de sol adhérent aux racines et sous leur influence. L’intense activité microbienne est la caractéristique essentielle de la Rhizosphère. Elle est due à la libération dans le sol de composés carbonés (les rhizodépôts) qui stimulent la croissance et le développement des microorganismes du sol. L’influence des racines sur l’activité des microorganismes est appelée « effet rhizosphère ». L’intense activité microbienne dans, sur et autour de la racine, résulte de la libération dans le sol d’une grande variété de composés organiques servant de source de carbone, voire d’azote et d’énergie pour les microorganismes.**(Dakora et Phillips 2002 ; Dennis et al., 2010)**

Les microorganismes sont partout, ils se développent malgré des conditions extrêmes qui sembleraient rédhibitoires pour tout organisme, et dans l’ensemble de ses habitats, ils jouent un rôle crucial dans l’équilibre des cycles biogéochimiques. Cependant, s’il y a un habitat qui a particulièrement été étudié et où les microorganismes jouent un rôle fondamental pour l’Homme, c’est la rhizosphère. Il a été montré que des relations se créent dans l’écosystème rhizosphérique au sein des communautés de microorganismes et entre les microbes et la plante

Les communautés microbiennes sont différentes **(Ibekwe et Kennedy, 1999 ; Inceoğlu et al. 2010)** et il est couramment admis que les différences qualitatives et quantitatives des exsudats issus d’un couvert végétal constituent un facteur de variation de la structure de la communauté microbienne **(Gao et al.,2010 ; Das et al. 2017)**.

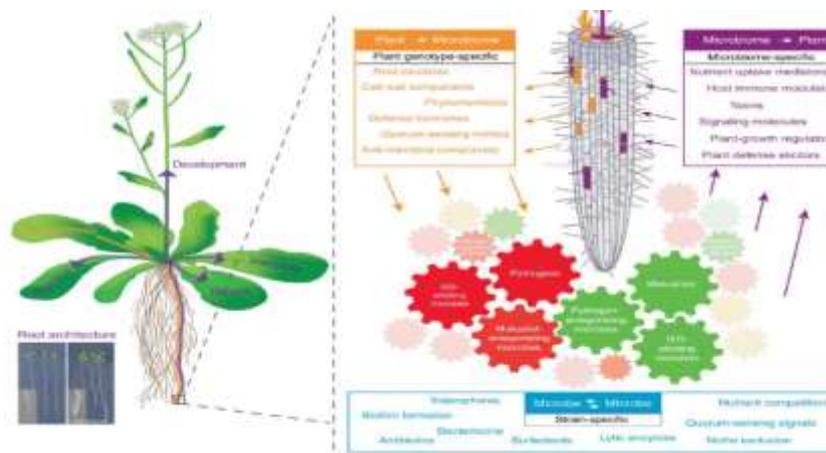


Figure 1 : Les interactions au sein de la rhizosphère impliquant la plante et les microorganismes **(Pieterse et al., 2016)**

Introduction

Les microorganismes qui colonisent la rhizosphère sont classés selon les relations qu'ils établissent avec les plantes qui leurs fournissent leur habitat. Sont définies trois catégories d'organismes : les agents pathogènes, les organismes commensaux, et ceux qui sont bénéfiques à la croissance de la plante. Le succès relatif d'un microorganisme quelque soit sa catégorie est dépendant des relations synergétiques et antagonistes s'établissant avec les autres microorganismes de la communauté. Pour les microorganismes bénéfiques, il est possible de distinguer bactéries et champignons rhizosphérique

2. Les bactéries bénéfiques

Les bactéries vivant librement dans le sol, à proximité des racines, et sont souvent mentionnées comme étant des PGPR rhizosphérique (**Vessey, 2003**).

Elles appartiennent à différents genres, parmi lesquels *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Curtobacterium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, et *Serratia* (**Benizri et al., 2001 ; Calvo, Nelson and Kloepper 2014; Glick 2014**).

Les nombreux métabolites produits par ces souches PGPR peuvent être classés en fonction du type d'action qu'ils vont provoquer, impliquant des effets indirects ou directs, que nous Développerons ci-après. Le mode d'action indirect s'observe en présence d'un agent pathogène.

Il conduit à une modification des équilibres microbiens dans la rhizosphère qui aboutira à une Protection de la plante par suppression des microorganismes nuisibles. Par un mode d'action Direct, les bactéries stimulent la croissance des plantes, même en absence d'agent pathogène (**Glick et al., 1999 ; Vessey, 2003 ; Khan 2005; Chen et al. 2013; Hussein and Joo 2014**).

D'autres bactéries dites PGPB endophytes sont des organismes commensaux, dont une des premières définitions est la suivante: « il s'agit de bactéries non-pathogéniques endophytes originaires des communautés de bactéries épiphytes de la rhizosphère et de la phyllosphère aussi bien que des primo-endophytes présents dans la graine ou le matériel végétal de plantation» (Hallmann et al., 1997). Ces bactéries proviennent de nombreux genres : *Acinetobacter*, *Aminobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Curtobacterium*, *Devosia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Phyllobacterium*, *Rahnella*, *Shinella*, (**Doty et al., 2009; Compant et al., 2009; De Meyer et al., 2015**)

Introduction

2.1 Les bactéries rhizosphériques en tant qu'organismes stimulateurs de la croissance des plantes

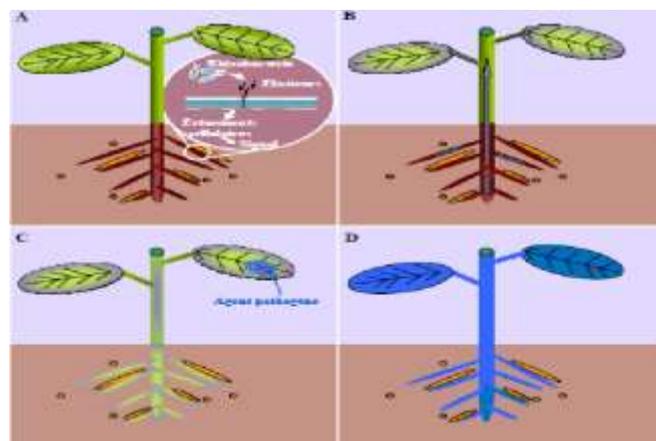
Les microorganismes présent librement dans la rhizosphère peuvent avoir des effets bénéfiques sur la croissance plante (**Van der Heiden et al., 2008**) Les bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencées de manière bénéfique la plante par stimulation de leur croissance et leur protection contre les agents phytopathogènes (**Ahmad et al., 2008**).

La plupart des souches bactériennes exploitées en tant que PGPR appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. Beaucoup de recherches se sont concentrées sur ces deux derniers types de bactéries car elles sont des habitants communs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle de la croissance des plantes et des maladies liées au sol (**Adam, 2008**).

Les PGPR stimulent la croissance des plantes par la production des auxines (Acide indole acétique), les gibbérellines et des cytokinines (**Cianciotto, 2005**).

2.2 Les bactéries rhizosphériques en tant qu'agent de lutte biologique

L'utilisation de certains microorganismes non pathogènes en tant que biopesticides constitue une technologie émergente et écologiquement compatible. Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents de lutte biologique est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels, sur l'activité antagoniste vis-à-vis de la croissance des pathogènes via la production d'antibiotiques ou d'enzymes et/ou sur leur capacité à stimuler des systèmes de défense chez l'hôte végétal. Certaines Rhizobactéries non pathogènes peuvent en effet initier l'expression de mécanismes de défense s'établissant dans tous les organes de la plante, lui permettant de mieux se défendre vis-à-vis d'une agression ultérieure (**Jourdan, 2007**).



Introduction

Figure 2 : Présentation des différentes phases du phénomène d'induction de résistance chez les plantes par les rhizobactéries. La perception de la bactérie par l'hôte végétal via un (des) éliciter(s) moléculaire(s) est la première étape (A). Suite à ce dialogue moléculaire, il y a émission d'un signal à travers toute la plante menant à un état « induit » systémique alors que la bactérie inductrice ne migre pas (B). Cet état induit n'est que peu perceptible d'un point de vue moléculaire mais permet à la plante de réagir rapidement et de limiter une infection ultérieure d'abord localement autour du site d'attaque (C). Il s'en suit une réaction systémique menant à un renforcement de tous les organes qui permet une certaine résistance vis-à-vis d'une agression future (D) (**Jordan, 2010**).

3. Les champignons bénéfiques

Des champignons appelés PGPF “ Plant Growth-PromotingFungi” peuvent stimuler les défenses de la plante et présenter une activité antagoniste envers différents phytopathogènes, tout en stimulant directement la croissance de la plante. Ils peuvent être des champignons filamenteux voire même des levures également appelées PGPY “ Plant Growth-Promoting Yeasts”. Chez diverses plantes, y compris les plantes herbacées, les PGPF peuvent être présents naturellement aussi bien chez des plantes ligneuses, notamment la vigne. Chez ces plantes, les PGPF peuvent être épiphytiques et/ou endophytiques et sont même à l'origine de symbioses comme le cas avec les mycorhizes. PGPF, divers mécanismes sont impliqués dans la protection et stimulation de la croissance de la plante (**J. G. Fuchs, S. A. Biophys. 1999**) Ces microorganismes peuvent agir directement sur l'agent pathogène pour protéger la plante, ou indirectement par le biais d'un mycoparasitisme et une sécrétion d'allélochimiques d'inhibiteurs et/ou par un phénomène de compétition pour l'espace et les nutriments, tout en fournissant des composés bénéfiques pour le développement de la plante. Ces microorganismes peuvent également stimuler les défenses des plantes, ce qui Provoque une résistance de la plante contre les agents pathogènes (**S. Loqman. 2009.**)

3.1 Les champignons bénéfiques en tant qu'agent de lutte biologique

Permis ces champignons Le champignon *Trichoderma* s'est avéré particulièrement efficace dans la lutte de microbes pathogènes (**Paul et Masih, 2006 ; Melo et Faull, 2000**). Il possède la résistance innée à la plupart des produits chimiques agricoles (**Harman, 2006**). La plupart des souches de *Trichoderma* pour la lutte biologique, ont de susceptibilités ou de résistance à une gamme de pesticides (**Harman, 2006**). D'ailleurs, l'utilisation des

Introduction

produits chimiques pour le biocontrôle des parasites est un souci croissant aux écologistes (Melo et Faull, 2000). En 1930, le potentiel des espèces de *Trichoderma* a été étudié comme agent de biocontrôle contre les pathogènes des plantes (Hermosa et al., 2000 ; Orr et Knudsen, 2004 ; Shelton, 1997). Les espèces de *Trichoderma* peuvent sécréter des enzymes extracellulaires et des antibiotiques, jouant un rôle important contre les agents phytopathogènes (Chet et al., 2006 ; Melo et Faull, 2000 ; Shelton, 1997) ; la chitinase et la β -1,3 glucanase responsables non seulement de la lyse de structure hyphale de parois cellulaires mais, aussi la paroi chitineuse des hyphes, des conidies, des chlamydospores, et des sclérotes (El-Katatny et al., 2004 ; Kubicek et al., 2001).

3.2 Les champignons bénéfiques en tant qu'organismes stimulateurs de la croissance des plantes

Parmi les champignons qui stimulent la croissance des plantes, *Trichoderma* est probablement le plus connu (Harman et al., 2004 ; Harman, 2006). *Trichoderma* peut solubiliser le phosphore et plusieurs micronutriments, améliorer l'assimilation de l'azote par la plante, et favoriser le développement et la formation du chevelu racinaire (Altomare et al., 1999 ; Harman, 2006).

Cutler et al. (1986) et (1989) ont rapporté l'isolement, l'identification et l'activité biologique des métabolites secondaires produits par *T. koningii* (koninginin A) et *T. harzianum* (6-pentyl- α -pyrone) qui agissent comme des régulateurs de croissance de la plante. *Trichoderma* spp. aussi produisent des acides organiques notamment les acides gluconiques, citriques ou fumariques, réduisent le pH du sol, et permettent la solubilisation des phosphates, des micronutriments et les cations minéraux comme le fer, le manganèse, le magnésium, nécessaires pour le métabolisme de la plante (Benitez et al., 2004 ; Harman et al., 2004).

Utilisation des PGPR dans l'agriculture :

Les PGPR sont très intéressantes pour l'application en agriculture comme biofertilisants et biopesticides et en phytoremédiation (Berg, 2009). La mise au point des formulations des PGPR est très importante afin d'augmenter leur efficacité d'utilisation (Zahir et al., 2004).

L'application comme des Biofertilisants :

Lorsque ces microorganismes sont appliqués aux graines, aux surfaces des plantes ou au sol, ils colonisent la rhizosphère ou les parties internes de la plante (Vessey, 2003). Par conséquent, cette colonisation favorise la croissance de leur hôte en augmentant l'apport ou la

Introduction

disponibilité de nutriments primaires (fixation de N₂). Les bactéries telles Azospirillum, Herbaspirillum, Acetobacter, Azobacter et Azoarocus sont utilisées comme biofertilisants, en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique.

L'application comme des Phytoremédiation :

La phytoremédiation est une méthode de nettoyage des sols contaminés en se basant sur la capacité de certaines plantes à stabiliser, extraire, dégrader ou volatiliser les polluants dans leur voisinage (**Pilon Smits, 2005**). Cependant, les plantes souffrent souvent de l'effet toxique des métaux lourds ce qui affecte leur potentiel de phytoremédiation (**Dimkpa et al., 2009**). L'inoculation des plantes par des bactéries bénéfiques du sol améliore la phytoremédiation (**Glick, 2003**). En comparaison avec les autres méthodes de nettoyage, la phytoremédiation en utilisant des PGPR semblent très rentable et non destructive pour la structure du sol. En effet, les Rhizobactéries pourraient améliorer la tolérance des plantes à des taux élevés de différents polluants du sol (**Dimkpa et al., 2009**). Vu l'absence de l'activité de l'ACC désaminase chez les plantes, les plantes transgéniques ont été développées en utilisant le gène bactérien responsable de cette enzyme. Une telle stratégie pourrait améliorer la croissance des plantes et leur tolérance au stress métallique (**Zhang et al., 2008**)

Utilisation comme Bioprotection ou phytostimulation :

Certaines bactéries colonisatrices des racines jouent un rôle important dans la protection de leur plantes hôtes contre différents types de stress biotiques et abiotiques. Les souches *P. fluorescens* TDK1, *Pseudomonas putida* UW4, *Bacillus* sp. et *Arthrobacter* sp., par exemple, sont capables d'améliorer la résistance des plantes contre divers pathogènes et d'atténuer aussi l'effet négatif du sel et de la sécheresse (**Barriuso et al., 2008**). La souche *Bacillus subtilis* est largement utilisée en raison de ses propriétés de biocontrôle et sa tolérance à la toxicité du fer (**Terré et al., 2007**). Les sidérophores produits par les PGPR peuvent protéger les plantes contre les bactéries pathogènes grâce à leur grande affinité au fer. Ils peuvent également protéger les plantes contre le stress oxydatif des métaux lourds (**Dimkpa et al., 2009**).

Cependant, les agents de biocontrôle doivent fournir une protection croisée contre divers facteurs de stress qui conduit à la construction d'un système agricole écologiquement et économiquement durable en réduisant le besoin des pesticides.

MATÉRIELLES ET MÉTHODES

1. Objectif de l'expérimentation

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie et de phytopathologie à l'université Mohamed El Bachir El Ibrahim de Bordj Bou Arreridj .Il a porté sur la lutte biologique contre des microorganismes nuisible à la culture des céréales.

L'objectif consiste à :

- L'isolement d'agents pathogènes bactériens et fongiques à partir de sol et de plantes présentant des symptômes de maladies typiques aux céréales.
- L'isolement de souches antagonistes PGPR et PGPF à partir du sol rhizosphérique de blé dur.
- Caractérisation du potentiel de promotion de la croissance de souches antagonistes isolées in vitro.
- Une étude in vitro des interactions entre les souches antagonistes (*Pseudomonas sp* ; *Pfluorescent* ; *Bacillus sp.* et *Trichoderma sp.*) et les souches phytopathogènes associés à la culture de blé dur.

2. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués à partir de la rhizosphère de Blé dur au stade tallage dans différents sites de la Wilaya de bordj bou arreridj et de Bouira (Ain Souldan, Medjana, Oued Lakhder, EAC Kadri Bouira)à une profondeur de (25 a 30 cm)

Les variétés de blé échantillonnées et leurs dates de prélèvement sont mentionnées dans le tableau 01

Tableau 01 : Les différentes variétés de blé dur utilisées.

Site de prélèvement	Variétés	Date de prélèvement	Précédent cultural
Ain sultan / Ferme Ben Haya moussa	Oued Lberd	03/03/2022	Jachère travaillée
Medjana / Ferme mehamel	Bousselam et GTA Dur	04/03/2022	Jachère travaillée
Oued lakhder /Ferme Laabachi Bachir	Bousselam	05/03/2022	Jachère travaillée
EAC Kadri Bouira	Simeto	13/03/2022	Blé dur

3. Isolement des rhizobactéries

Le matériel végétal, se présentant sous forme de touffes de plantules de blé. 10 plantules de chaque parcelle ont été prélevées d'une façon aléatoire avec leurs mottes (au total 40 plantes ont été prélevées et transportés directement au laboratoire et conservés jusqu'à leur utilisation dans un délai maximal de 72 h). **(Figure3)**



Figure3 : matériel végétale

Ces dernières ont été fortement secouées de manière à enlever le sol adhérent à leurs racines. Les racines ont été par la suite sectionnées à l'aide d'un ciseau stérile en portions de 1 à 3cm de longueur

3.1 Méthode des suspensions-dilutions

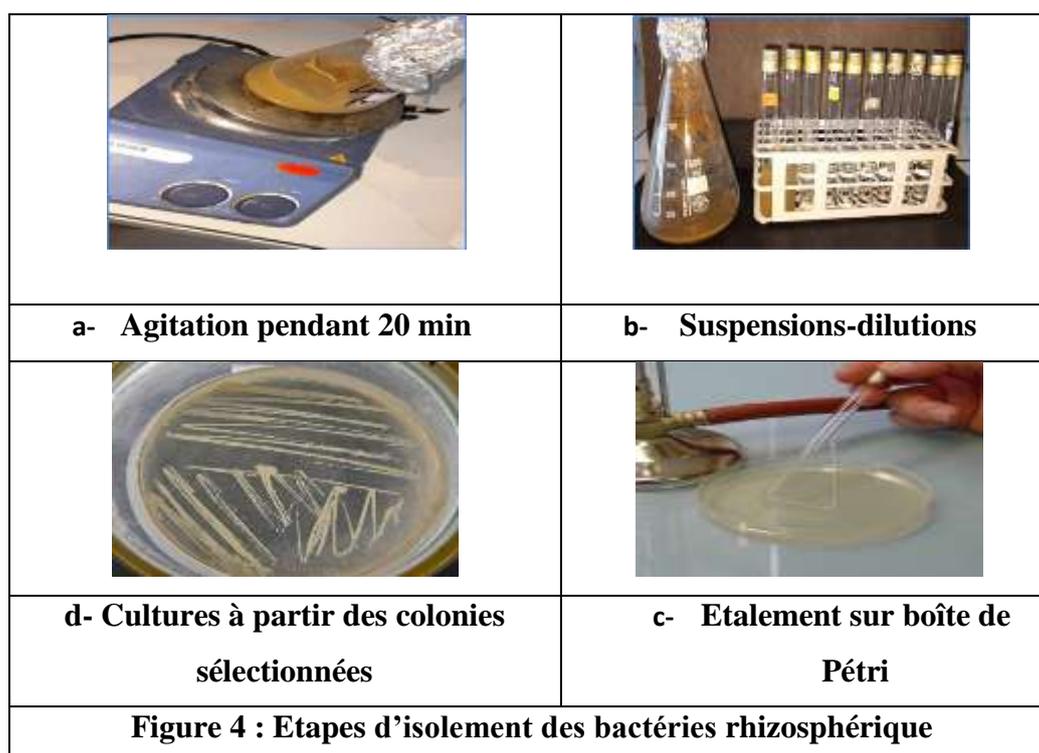
A l'aide d'une micropipette de 1000 μ L, une série de dilution (10^{-1} à 10^{-9}) doit être préparée en prélevant 5g du sol et en le plaçant dans un tube à essai stérile contenant 9ml d'eau physiologique pour obtenir la première dilution de 10^{-1} puis de chaque dilution la même opération est répétée jusqu'à obtention de la dilution 10^{-9} **(Abdesslam et Latache, 2017)** .

Donc d'après le protocole précédant L'isolement des bactéries a été effectué par la méthode des suspensions-dilutions. Dans 04 fioles stériles de 250 ml de capacité, 10 g de racines (de chaque échantillon) et leur sol adhérent ont été suspendus dans 100 ml d'eau physiologique stérile. L'ensemble des fioles ont subi une agitation à 150 tours par minute pendant 20 minutes.

Après agitation, une série de dilutions au $1/10$ ème à partir de chaque échantillon a été réalisé en prélevant 1 ml de la solution initial (mère) et le mettez dans 09 ml d'eau physiologique dans un tube à essai stérile, jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-10} . Deux suspensions-dilution ont été réalisé pour chaque échantillon

Après la série de dilution, 100 µl de chacune des dilutions décimales appartenant aux dilutions de 10^{-3} 10^{-6} et 10^{-9} est étalé par la méthode de râteau sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu King B (KB) et la gélose nutritive (NA) (**Annexe 01 et 02**).

Les boîtes de Pétri contenant les milieux de culture ensemencés, portant les indications nécessaires (origine de l'échantillon, espèce cultivée, dilution) sont disposées (en position retournée) dans un incubateur. L'incubation est effectuée dans les conditions appropriées (température de consigne 30 °C; durée d'incubation 48 à 72 heures).



3.2 Sélection des colonies bactériennes

Les colonies ou UFC (Unités Formant Colonies) qui se sont développées à la surface du milieu de culture (milieu NA non sélectif et milieu King B permettant de différencier des espèces de genre *Pseudomonas*) ont été sélectionnées en se basant sur des critères morphologiques.

3.3 Purification des souches bactériennes

L'isolement des bactéries nous a permis de distinguer 24 colonies bactériennes issues des racines des plantules de blé dur. Les souches sélectionnées ont été purifiées, codées (Tableau 02) puis cultivées sous des conditions d'asepsie, dans de nouvelles boîtes de Pétri par étalement en stries sur le même milieu de culture (King B et NA).

Tableau 02 : Les différentes souches bactériennes isolées

Code des souches bactériennes	Origine
OL 1	Oued lakhder parcelle 1
OL 2	Oued lakhder parcelle 1
OL 3	Oued lakhder parcelle 1
OL 4	Oued lakhder parcelle 1
OL 10	Oued lakhder parcelle 2
OL 11	Oued lakhder parcelle 2
OL 12	Oued lakhder parcelle 2
OL 13	Oued lakhder parcelle 2
OL 14	Oued lakhder parcelle 2
AS 1	Ain soultan
AS 2	Ain soultan
AS 3	Ain soultan
AS 4	Ain soultan
AS 5	Ain soultan
AS 6	Ain soultan
MJ 15	Medjana
MJ 16	Medjana
MJ 17	Medjana
MJ 18	Medjana
MJ 19	Medjana
MJ 20	Medjana
MJ 21	Medjana
BO 1	Bouira
BO 2	Bouira
BO 3	Bouira
BO 4	Bouira
BO 5	Bouira
BO 6	Bouira
BO 7	Bouira
BO 8	Bouira

4. Identification des souches antagonistes

En fonction des objectifs de l'étude et de la disponibilité des produits (réactifs), une identification des souches par des méthodes phénotypiques et biochimiques a été réalisée.

4.1. Observation macroscopique des souches bactériennes sélectionnées

L'étude des caractères morphologiques (macroscopiques) consiste en l'observation des colonies bactériennes, à l'œil nu ou grâce à la loupe binoculaire, prenant en compte les éléments d'identifications macroscopiques suivant (Joffin et Leyral, 2006) :

- La taille des colonies par la mesure du diamètre : punctiformes, moyenne, ou grosse.
- La chromogénèse : couleur de la colonie.
- La forme des colonies : rondes, irrégulières, etc.

- L'élévation : convexe, concave, ou plate.
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée.

4.2. Observation microscopique des souches bactériennes sélectionnées

L'étude microscopique consiste à étudier la forme et l'arrangement cellulaire, type de Gram et la mobilité des cellules bactériennes.

Une préparation à l'état frais permet d'examiner et de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. Ces caractères ont été étudiés par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle (**Joffin et Leyral, 2006**).

Deuxièmement, des observations microscopiques après coloration de Gram (Annexe 03), ont été établies afin de différencier le type de Gram (Gram positif ou Gram négatif), les bacilles et les coques (**Oulebsir- Mohandkaci, 2012**).

4.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration différentielle microbiologique la plus importante et la plus largement utilisée, publiée par Hans Christian Gram en 1884, elle permet de différencier les bactéries selon 2 critères principaux : leur forme et leur affinité pour les colorants :

- **Forme** : Paires, Tétrades, Groupes, Chaînes, Lancettes...
- **Affinité pour les colorants** : Gram positif ou Gram négatif

La coloration de Gram est basée sur l'action successive de plusieurs substances (la composition et la préparation des colorants figurent dans (**l'Annexe 03**) dont le protocole se déroule comme suit (**Figure03**) :

- a) Prélever une colonie bactérienne à l'aide d'une anse stérile.
- b) Frotter la pointe dans une goutte d'eau sur la lame. Laisser sécher à l'air.
- c) Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur pendant 1 minute.
- d) Inonder le frottis séché avec le réactif de coloration au cristal violet (violet de gentiane) pendant 1 minute.
- e) Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes
- f) Inondation avec le mordant : iode ou lugol pendant 1 minute.
- g) Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau distillée stérile pendant 2 secondes.
- h) Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes).

Matérielles Et Méthodes

La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone. Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

- i) Rincer à l'eau distillée stérile.
- j) Inonder la lame avec contre-colorant, 'safranine' (rose) pendant 45 secondes à 1 minute.
- Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.
- k) Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau d'eau distillé jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.
- l) Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile et examiner au microscope avec un grossissement x100.

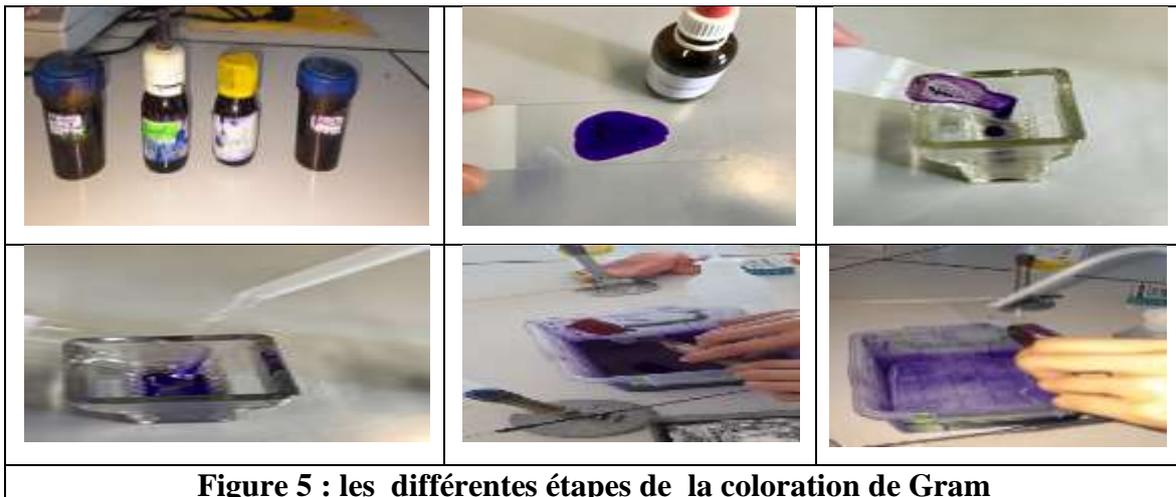


Figure 5 : les différentes étapes de la coloration de Gram

5. Caractérisation du potentiel de promotion de la croissance de souches antagonistes isolées in vitro

5.1 Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur de la coléoptile de la variété Gta dur de blé dur

5.1.1 Préparation des graines de blé dur *Triticum Durum*

- Choisir soigneusement et méticuleusement les graines de blé dur avant leur utilisation, elles doivent être saine (pas de cassures, ni anomalie visible, tache ou maladie).
- Désinfecter les graines de blé en les incorporant dans une solution de l'hypochlorite de sodium à 3% pendant 5 minutes, ensuite les rincer avec l'eau distillé (Meksem *et al.*,

2007). Dans des conditions d'asepsie, les graines désinfectées ont été séchées dans du papier buvard stérile puis dispersées dans des boîtes de pétri.

5.1.2 Préparation de la suspension bactérienne

À l'aide d'une anse de platine stérile, la crème bactérienne âgée de 48 h est raclée délicatement et mise en suspension dans 9ml de l'eau physiologique stérile, une bonne homogénéisation est pratiquée.

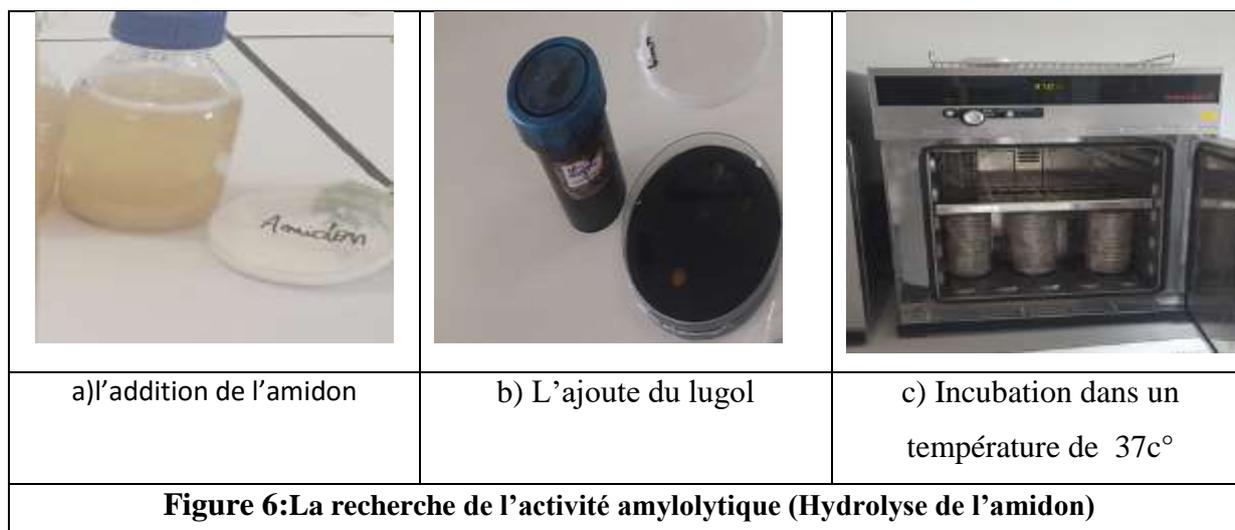
5.1.3 Evaluation de l'activité stimulatrice de la croissance in vitro

Un test préliminaire sur la germination des graines d'une seule variété de blé dur, var. Gta dur a été réalisé dans des boîtes de pétrie où 20 graines désinfectées ont été placées sur du papier filtre Whatman (8,5 cm de diamètre) stérile et imbibé par 5 ml d'une suspension des souches bactériennes, provenant de cultures âgées de 48h, appliquées individuellement. Chez le témoin, 5ml d'EDS ont été rajoutés par boîte. Les boîtes ont été maintenues humides et mises à incubation à 22°C pendant 72 heures. Le pourcentage de germination et la longueur du coléoptile ont été calculés et les données ont été analysées pour déterminer les souches stimulatrices de la croissance.

5.1.4 Evaluation de la capacité des souches PGPR à produire des enzymes a intérêt agricole

6. Production d'Amylase

La recherche d'Amylase est effectuée par la mise en culture des isolats sur une gélose à amidon (**Annexe 04**). Après incubation à 30°C pendant 5 jours, les boîtes de Pétri sont inondées par une solution d'iode lugol. Une réaction positive est marquée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Holt et al., 1994**).



7. Production de Protéase

La production de la protéase a été déterminée par un halo clair formé autour des colonies poussant sur une gélose au lait écrémé, obtenue en mélangeant 1g d'agar suspendue dans 90ml d'eau distillée avec 10ml du lait écrémé (Sebihi *et al.*, 2020). (Annex05)

		
<p>a) l'ajoute de lait écrémé sur le GN</p>	<p>b) coulage sur les boites pétri et l'ajoute des colonies bactériennes</p>	<p>c) Incubation dans un température de 37c°</p>
<p>Figure 7: La recherche de l'activité protéolytique (hydrolyse des protéines)</p>		

8. Production de lipase

La production de lipase est a été déterminée par un halo clair formé autour des colonies poussant sur un gélose au jaune d'œuf, en mélangeant 1g d'agar suspendue dans 90ml d'eau distillée avec un jaune d'œuf (Annexe 06)

		
<p>a) l'ajoute de le jaune d'œuf sur le GN</p>	<p>B) Coulage sur les boites de pétri et l'ajoute des colonies bactériennes</p>	<p>C) Incubation dans un température de 37c°</p>
<p>Figure 8: La recherche de l'activité lipolytique (hydrolyse des lipides)</p>		

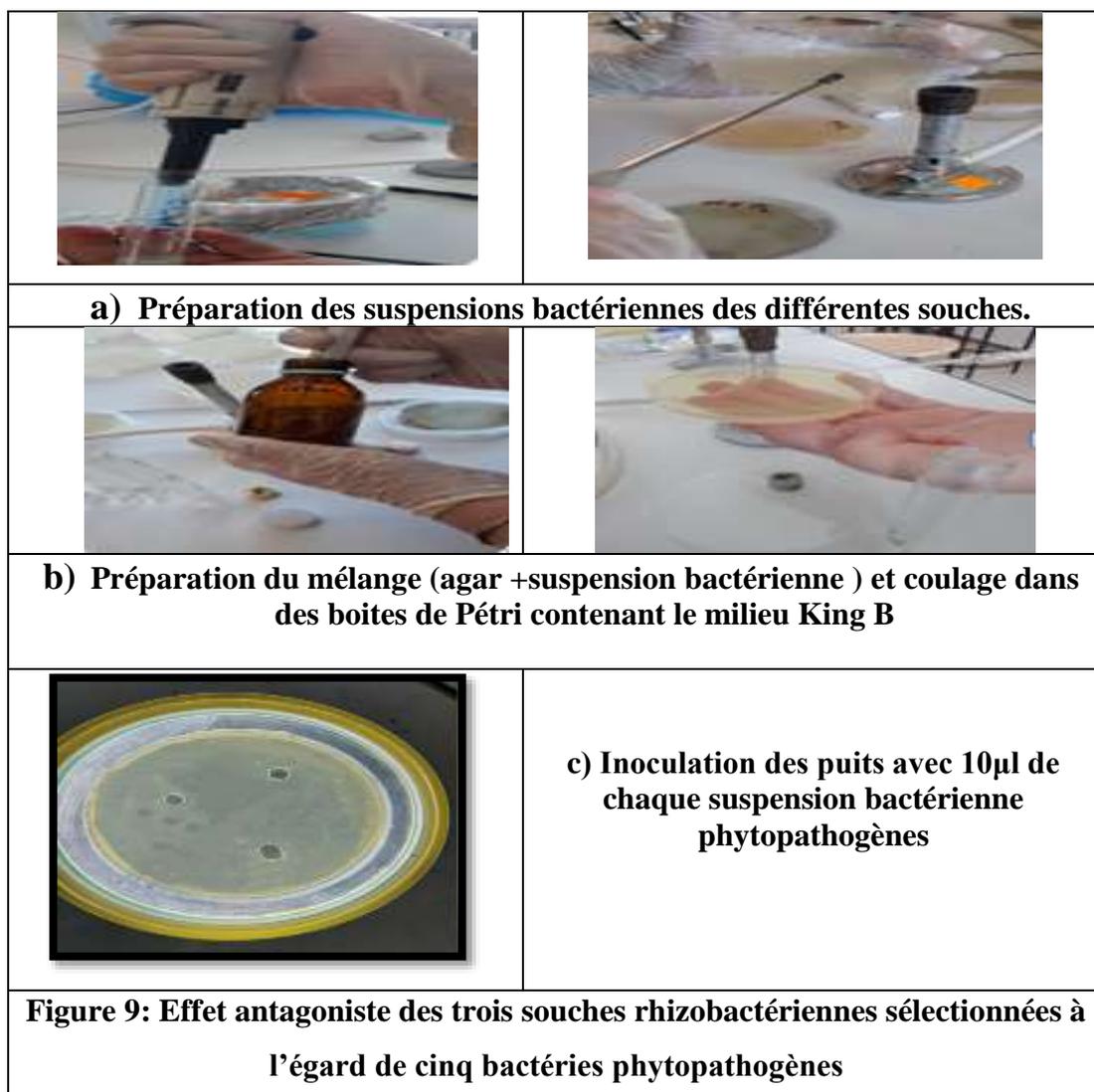
9. Evaluation de l'activité antagoniste in-vitro des trois souches sélectionnées à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes

Matérielles Et Méthodes

l'activité antibactériennes des souches rhizobactériennes OL4, OL2 et AS4 à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes a été déterminé. L'ensemble des souches bactériennes (les 9 bactéries phytopathogènes et les 3 bactéries antagonistes) ont été cultivées sur le milieu King B pendant 48h à 28°C.

Dans des tubes à essai contenant 3ml d'eau gélosée à 0,6% et autoclavée, 500 µl de suspensions de chacune des souches bactériennes phytopathogènes ont été rajoutés et coulés dans des boites de pétri contenant une fine couche du milieu King B préparé au préalable (**Figure 12 a et b**)

Parallèlement, des puits ($\varnothing = 3\text{mm}$) ont été pratiqués dans le milieu King B à l'aide de cônes stériles et inoculés avec 10µl de suspension bactérienne, (**Figure 09 C**) pathogène ou de l'EDS uniquement chez le témoin. Après 48h d'incubation à 28°C à l'obscurité, l'activité antibactérienne se traduit par l'apparition de halos clairs autour des puits.



RÉSULTAT ET DISCUSSIONS

Dépistage des Rhizobactéries à traits PGPR

L'étalement des prélèvements racinaires et rhizosphérique effectués sur la GN , King B, et l'incubation à une température de 33°C pendant un intervalle de 48 heures a permis l'isolement de 30 souches bactériennes, sélectionnées sur la base de leur abondance. Les souches isolées sont purifiées par des repiquages successifs sur la gélose nutritive.

9 souches ont été isolées de la région de Oued Lakhder à partir de la variété Boussem, 6 souches de la région Ain Sultan à partir de la variété oued Ibared ,7 souches de la région Medjana à partir de la variété Boussem et Gta dur et enfin 8 souches de la wilaya de Bouira isolées de la variété simeto.

10. Purification des souches rhizobactériennes

Un teste Préliminaire de purification des souches bactériennes, nous a permis d'obtenir 24 sur 30 souches, qui représentent une perte de 20%.

11. Identification des souches

Une coloration de Gram des souches isolées et l'observation microscopique a permis de visualiser la forme, la couleur et l'aspect des colonies isolées.

3.1 Observation macroscopique des souches bactériennes

L'examen macroscopique montre des colonies irrégulières ou ronde et des couleurs crème et jaune-vert avec des tailles moyenne et grande de 1 à 2 mm de diamètre et des surfaces lisse et dentelée (**Tableau 03**).

Tableau 3 : Origine des prélèvements, caractères morphologiques des espèces bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de blé

souches bactériennes	Origines	forme des colonies	Couleurs des colonies	taille des colonies	contour des colonies
OL 1	Oued lakhder Parcelle 1	irrégulières	jaune-vert	moyenne\grande	lisse
OL2	Oued lakhder parcelle1	irrégulières	jaune-vert	moyenne\grande	lisse
OL3	Oued lakhder parcelle 1	irrégulières	crémé	ponctiforme\mo yenne	dentelée
OL4	Oued lakhder parcelle 1	irrégulières	jaune-vert	grande\moyenne	lisse

Résultat et discussions

OL10	Oued lakhder parcelle 2	irrégulières	crémé	ponctiforme	dentelée
OL11	Oued lakhder parcelle 2	irrégulières	jaune-vert	moyenne\grande	lisse
OL12	Oued lakhder parcelle 2	irrégulières	crémé	moyenne	dentelée
OL13	Oued lakhder parcelle 2	irrégulières	jaune-vert	ponctiforme\mo yenne	lisse
AS1	Ain soultan	ronde	jaune-vert	grand\moyenne	lisse
AS2	Ain soultan	ronde	crémé	moyenne\grande	dentelée
AS3	Ain soultan	irrégulières	jaune-vert	moyenne	dentelée
AS4	Ain soultan	ronde	Jaune verdâtre	Ponctiforme	Dentelée
AS5	Ain soultan	irrégulières	crémé	moyenne\grande	lisse
AS6	Ain soultan	Ronde	Jaune	Ponctiforme	lisse
MJ 15	Medjana	Irrégulières	Crémé /jaune	moyenne	lisse
MJ16	Medjana	ronde	crémé	moyenne	lisse
MJ17	Medjana	ronde	crémé	moyenne	lisse
MJ18	Medjana	Irrégulières	crémé	moyenne	Dentelée
MJ 19	Medjana	ronde	crémé	moyenne	lise
MJ20	Medjana	ronde	crémé	moyenne	lise
MJ21	Medjana	ronde	crémé	moyenne	lise
BO1	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO2	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO3	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO4	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO5	Bouira	Irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO6	Bouira	irrégulières	Jaune	Moyenne	lise
BO7	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise
BO8	Bouira	irrégulières	crémé	ponctiforme	lise

3.2 Observation microscopique des souches rhizobactériennes

Les résultats illustrés dans le **Tableau 05** ont montré que la majorité des souches isolées appartiennent aux bactéries à Gram positive .L'aspect microscopique des souches

Résultat et discussions

rhizobactériennes après coloration de Gram a révélée deux forme de cellules : coques et bâtonnets les coques sont déposée en paires (diplocoques) ou en courte chaînettes, cependant, les bâtonnets présente des cellules associées en paires ou en courte chaînettes.

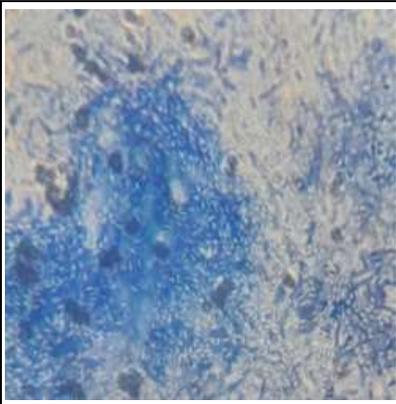
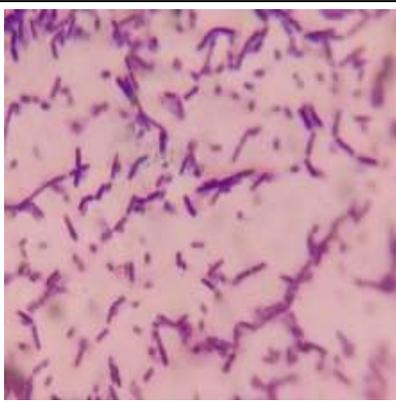
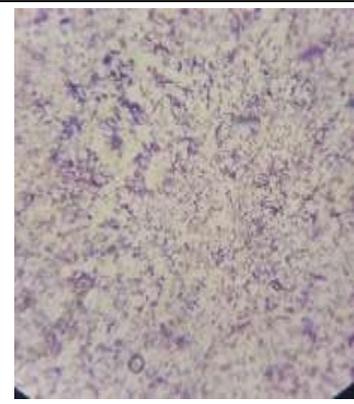
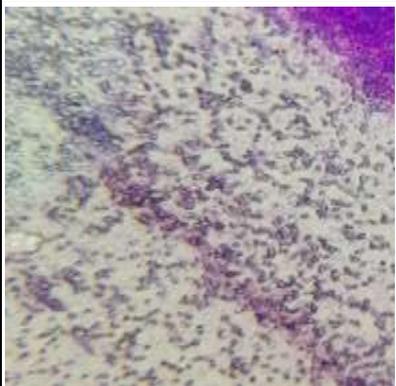
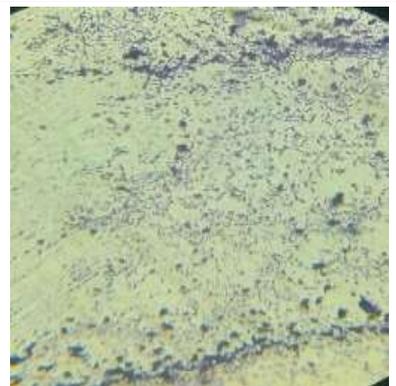
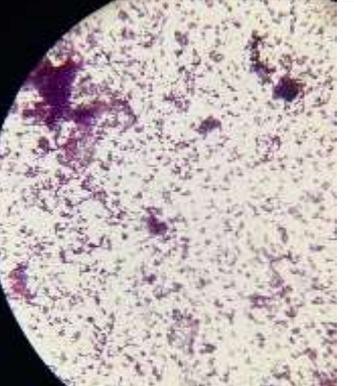
La figure 10 montre l'aspect microscopique de quelques souches rhizobactériennes avec le grossissement $\times 100$.

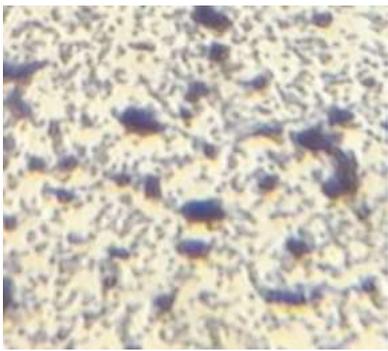
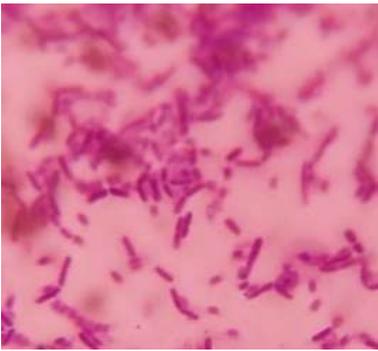
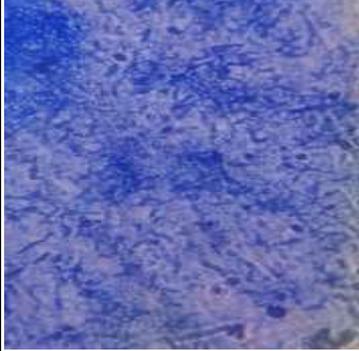
Tableau 04: Observation microscopique des souches rhizobactériennes bactériennes isolées à partir de la rhizosphère de blé

Bactéries	Gram	Formes	Dispositions (Isolés, En chaine, En amas)
OL1	Gram positif	bacille	En amas
OL2	Gram positif	bacille	En amas
OL3	Gram positif	bacille	En amas
OL4	Gram positif	bacille	En amas
OL10	Gram positif	bacille	En amas
OL11	Gram positif	bacille	En amas
OL12	Gram positif	bacille	En amas
OL13	Gram positif	bacille	En amas
AS1	Gram positif	bacille	En chaînettes
AS2	Gram négatif	bacille	isolés
AS3	Gram positif	bacille	isolés
AS4	Gram négatif	bacille	En chaînettes
AS5	Gram négatif	bacille	En chaînettes
AS6	Gram négatif	bacille	isolés
MJ15	Gram positif	cocci	En amas
MJ16	Gram négatif	cocci	En amas
MJ17	Gram négatif	cocci	En amas
MJ18	Gram négatif	cocci	En amas
MJ19	Gram négatif	cocci	En amas
MJ20	Gram positif	cocci	En amas
MJ21	Gram positif	cocci	En amas

Résultat et discussions

BO1	Gram positif	cocci	Diplocoque en chainettes
BO2	Gram positif	cocci	Staphylocoque en amas
BO3	Gram positif	cocci	Staphylocoque en amas
BO4	Gram positif	cocci	Diplocoque en chainettes
BO5	Gram positif	cocci	Diplocoque en chainettes
BO6	Gram positif	cocci	Diplocoque en chainettes
BO7	Gram positif	cocci	Staphylocoque en amas

		
Souche OL4 Bacille gram positif	Souche AS4 Bacille Gram Négatif	Souche BO6 Diplocoque Gram positif
		
BO4 diplocoque gram positif	MJ15Cocci Gram positif	MJ17 cocci Gram positif

		
BO1 Diplocoque Gram positif	AS4 Bacille Gram négatif	OL2 bacille gram positif
Figure 10: aspect microscopique des souches rhizobactériennes avec le grossissement ×100		

12. Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur du coléoptile de la variété GTA dur de blé

4.1 Effet sur le taux de germination des graines de blé

Les souches OL4 OL2 AS4 ont entraîné les taux de germination les plus élevés (100%, 100% et 95% respectivement), mais qui n'étaient pas différentes de ceux du témoin non inoculé. Seules les souches rhizobactériennes qui ont entraîné les valeurs les plus faibles (7souches) étaient différentes du témoin, indiquant un effet négatif sur la germination des graines de blé le taux le plus faible a été observé avec les souches codées BO1 BO4 BO5 BO2 BO8 avec un taux de germination de 5% et 0%.

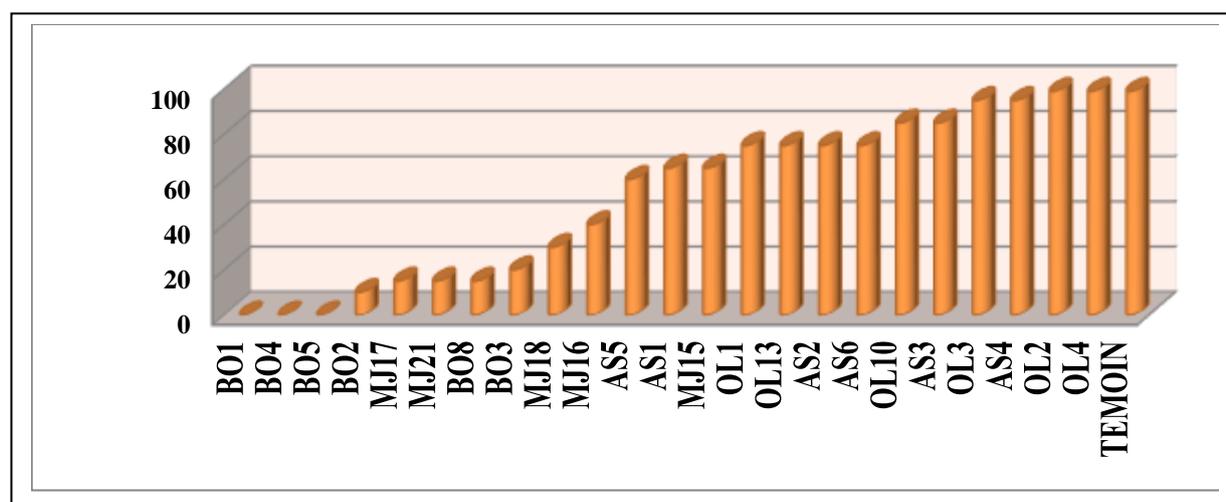


Figure 11 : Effet des 24 souches rhizobactériennes isolées sur le taux de germination des graines de blé de la variété GTA dur

4.2 Effet sur la longueur de coléoptile

L'analyse réalisée sur les données correspondant à la dernière date de mesure des longueurs des coléoptiles a permis de mettre en évidence des différences entre les différentes souches rhizobactériennes par rapport au témoin (Figure 12). Pour ce paramètre nous avons remarqué que les souches ayant montrées les taux de germination les plus importants ont gardé le même comportement avec la longueur du coléoptile.

La souche OL4 enregistré la valeur la plus importante avec 3,1 cm, suivie de près par la souche OL2 (2.9 cm) et la souche AS4 (2.7 cm) comparativement au témoin qui a donné une valeur de 3.2cm. Le reste des souches rhizobactériennes ont donné des valeurs plus faibles indiquant un effet négatif sur la croissance du coléoptile des graines germées. La longueur la plus faible du coléoptile a été notée avec les souches suivantes : BO2 BO4 BO5 BO8.

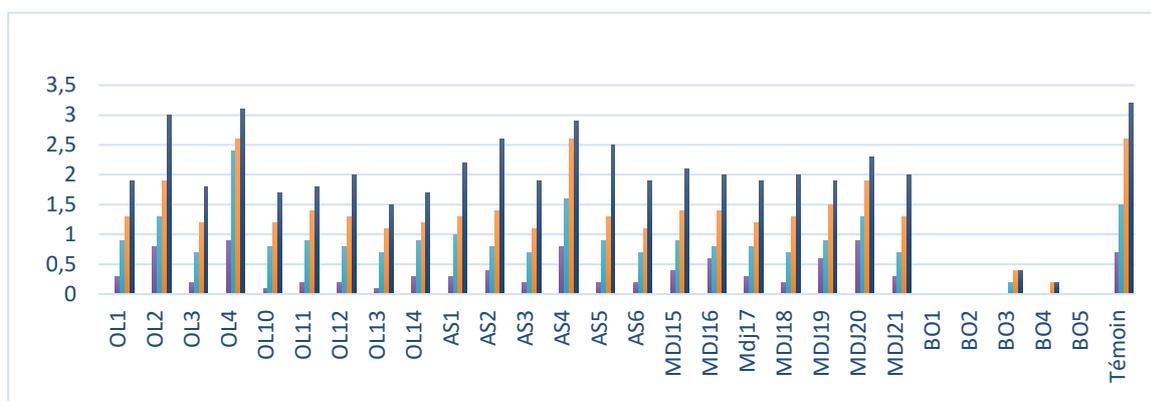


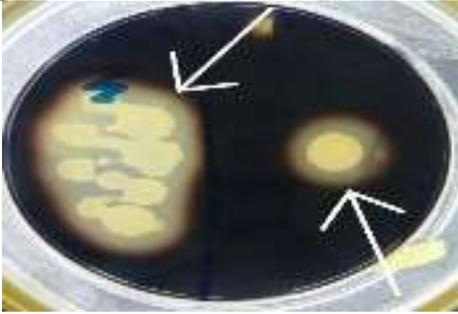
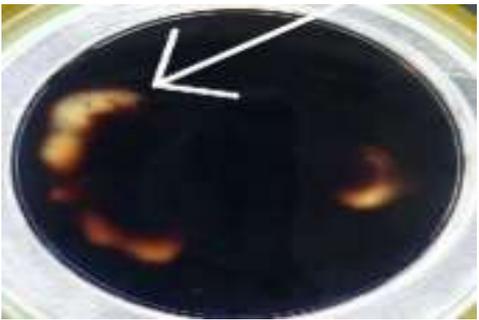
Figure 12 : Effet des 24 souches des rhizobactériennes isolée sur la longueur du coléoptile de la variété GTA dur de blé dur.

13. Evaluation de la capacité des souches PGPR à produire des enzymes a intérêt agricole

5.1 Production d'Amylase

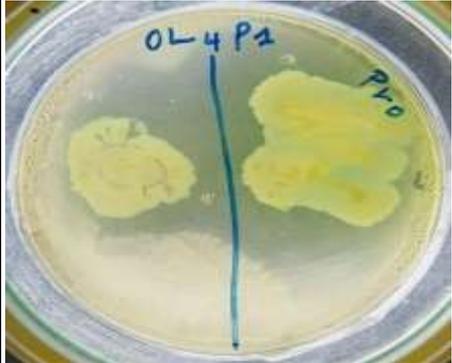
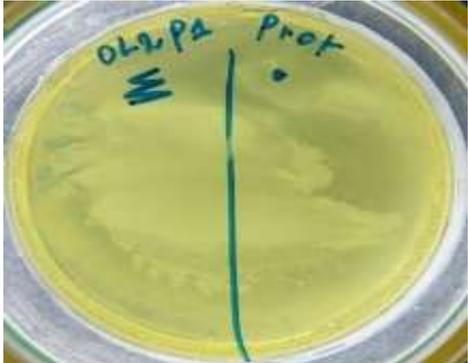
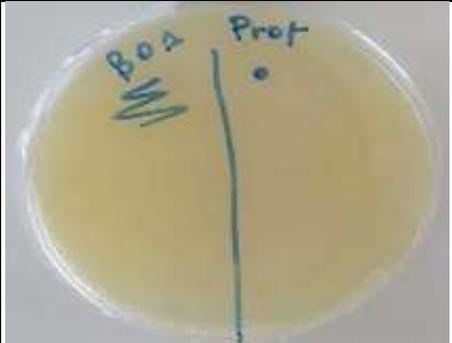
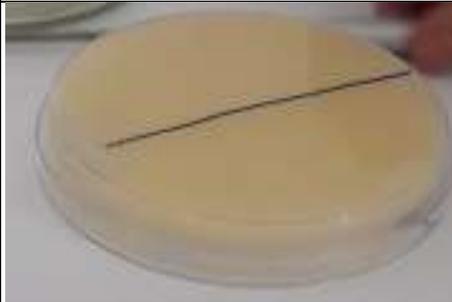
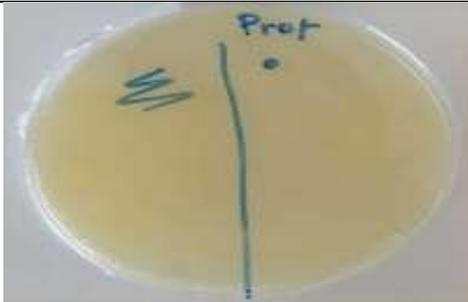
Les trois souches (OL4 OL2 AS4), sont capables d'hydrolyser l'amidon, ce qui signifie que ces dernières possèdent une amylase. L'hydrolyse de l'amidon s'exprime par un halo d'éclaircissement autour des colonies (Figure 13). Selon **Satyanarayana et Johri (2005)**, de nombreuses espèces du genre *Bacillus* sont connues par leur capacité à produire des α -amylases thermostables. Celles-ci comprennent des α -amylases de *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *Geobacillus thermoleovorans*, *B. stearothermophilus*, et *B. thermoamyloliquefaciens*

Par contre les autres souches ne produisent pas de l'amylase (absence d'un halo clair) donc elles sont incapable d'hydrolyser l'amidon (Figure c).

 <p>a)</p>	 <p>b)</p>
<p>OL4+++ apparition d'un halo claire</p>	<p>OL2++ apparition d'un halo clair</p>
 <p>c)</p>	 <p>d)</p>
<p>Bo1 - Absence total d'un halo clair</p>	<p>AS4+ Apparition d'un halo claire</p>
<p>Figure 13: Production d'Amylase</p>	

5.2 Production de protéase

La protéase est un groupe d'enzymes protéolytiques qui décomposent les grosses molécules de protéines. Pour savoir si nos bactéries sont capable d'hydrolyser les protéines, L'activité protéolytique des souches a été testée sur milieu gélose au lait, et a révélé l'apparition des zones claire autour des souches OL4 OL2 AS4. Contrairement avec les MJ16 BO1, on observe une

	
<p>La souche OL4 ++++ présence d'un halo claire</p>	<p>La souche OL2 ++ présence d'un halo claire</p>
	
<p>La souche BO1 -Absence d'un halo claire</p>	<p>La souche AS4 + présence d'un halo claire</p>
	
<p>Témoin</p>	<p>La souche MJ 16-Absence d'un halo claire</p>
<p align="center">Figure 14 : Production de protéase</p>	

5.3 Production de Lipase à reformuler

Les souches OL4 OI2 As4 montrant la présence une zone claire (halo) les souches BO1 MJ 16 montrant l'absence de le halo En a comparé les résultats avec le témoin (Figure15)

Résultat et discussions

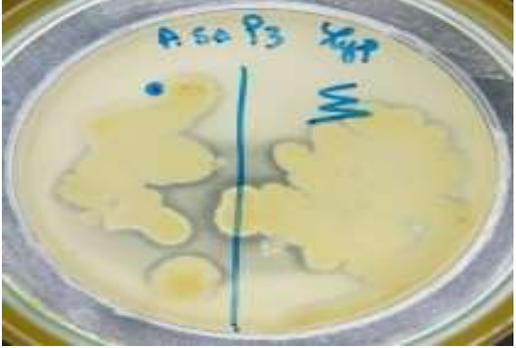
Les souches	Observation
	
OL4 +++ présence d'un halo claire	OL2 +++ présence d'un halo claire
	
AS 4++++présences d'un halo	BO1 + présence d'un halo claire
Figure 15 : production de Lipase chez les bactéries OL4, OL2, AS4 et BO1	

Tableau 05 : Résultats des différents tests d'activités enzymatiques réalisés :

Isolat	Amylase	Protéase	Lipase
OL4	+++	+++	+++
OL2	++	++	+++
AS4	+	+	+++
B01	-	-	+

+: Activité faible; ++ : activité moyenne ; +++ : activité forte ; - : Pas d'activité enzymatique

D'après les résultats (Tableau5). Toutes les souches étudiées possèdent au moins une activité hydrolytique, on remarque que toutes les isolats (OL4 OL2 AS4 BO1) possèdent de l'activité lipolytique ; viens en deuxième lieu l'activité amylasique qu'est présente chez (OL4 OL2 AS4) isolats. Enfin l'activité protyolitique qu'est présente chez (OL4 OL2 AS4)

14. Evaluation de l'activité antagoniste des souches OL2, OL4 et AS4 à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes

Les résultats relatifs au test du pouvoir antimicrobien des trois rhizobactéries codées OL2, OL4 et AS4 à l'égard de neuf bactéries phytopathogènes sont rapportés dans le tableau

Tableau 06 : Effet antagoniste des trois souches rhizobactériennes à l'égard de 09 bactéries phytopathogènes

bactéries phytopathogènes	Souches rhizobactériennes antagonistes		
	OL2	OL4	AS4
MJ 16	-		
BO6	+		
AS 5	+		
MJ 14		+	
BO 1		-	
AS 1		+	+
BO4			+
MJ 15			+
BO 4			
- : absence d'un halo clair + : présence d'un halo clair			

La mise en culture duelle des souches rhizobactériennes antagonistes avec des bactéries phytopathogènes se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies des bactéries testées. C'est le cas de la souche codée OL4 mise en culture duelle avec les souches BO1 MJ14, AS1 où nous avons observé un halo clair autour les souches MJ14 AS1 et l'absence de l'halo avec la souche BO1.

La souche OL2 elle a un effet important à l'égard des souches MJ 16 AS 5 BO6 tandis que la présence d'un halo clair autour les souches MJ16, AS5 et l'absence de l'halo dans la souche BO6, La souche AS4 présente un halo autour les souches MJ15, AS, BO4(Figure14)

L'halo dans la souche BO6, La souche AS4 présente un halo autour les souches MJ15, AS, BO4(Figure14)

<p>Effet des souches rhizobactériennes codée MJ14 BO 1 AS1 a l'égard de la souche antagoniste OL4</p>	<p>Effet des souches rhizobactériennes codée MJ15 BO4 AS a l'égard de la souche antagoniste AS4</p>	<p>Effet des souches rhizobactériennes codée MJ16 BO6 AS5 a l'égard de la souche antagoniste OL2</p>
<p>Figure 16 : Effet antagoniste des trois souches rhizobactériennes sélectionnées à l'égard de neuf bactéries phytopathogènes.</p>		

15. Discussion

7.1 Isolement et purification des rhizobactéries

L'isolement des rhizobactéries à partir les rhizosphères des céréales a partir les régions Ain sultan, Medjana, Oued lakhder et Bouira nous a permis d'obtenir 30 souches rhizobactériennes. Après purification de ces dernières, seulement 24 souches ont pu être repiquées, le reste qui représente 20% du total n'a pas pu être cultivé. Plusieurs auteurs qui ont menés leurs études sur la dynamique des populations bactériennes ont pu isoler un nombre beaucoup plus important de souches bactériennes du sol en utilisant des protocoles expérimentaux différents, et dans ce cas ils ont prouvé que le facteur limitant la détection des bactéries était la méthode de leur extraction et de leur récupération d'où la nécessité d'un protocole expérimental adéquat pour optimiser l'extraction des bactéries du sol (Gouzou, 1999).

Le genre *Bacillus* se compose de plus de 222 espèces identifiées, distribué largement dans beaucoup d'habitats terrestres et aquatiques (Ki et al. 2009). Il est bien connu comme un

grand producteur d'enzymes (**Sanchez-Porroet al. 2002**) et beaucoup des espèces appartenant à ce genre sont considérées comme bactéries promotrices de la croissance des plantes.

7.2 Evaluation in-vitro de l'effet de 24 souches rhizobactériennes sur la germination et la longueur de coléoptile de la variété Gta dur de blé dur

Les PGPR sont en mesure d'exercer un effet bénéfique sur la croissance des plantes telles que l'augmentation du taux de germination des graines. De nombreux travaux ont prouvé que l'utilisation des PGPR ont donné une meilleure germination des graines de céréales (**Kirdi., 2011 ; MESSAOUDI.,2015**) et sur des cultures maraichères telles que la tomate, de poivre, de laitue, du radis petit pois, de fève (**Reyes et al. 2008 ; Kirdi., 2011**).

L'inoculation par les trois souches codées OL4, OL2 AS4 semble améliorer légèrement le taux de germination et de croissance des coléoptiles. **Walker (2010)**, dans son étude sur l'impact de l'inoculation des microorganismes phytobénéfiques sur le métabolisme secondaire de *Zea mays* L., indique que l'effet PGPR ne se manifeste pas sur les biomasses ni sur les longueurs racinaires en condition in-vitro. Il est à noter que la croissance de la plantule pendant 10 jours se fait uniquement sur les réserves de la graine. Cependant, selon le même auteur, certains paramètres permettent de faire référence à l'effet des souches de stimulation végétale.

Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments. plusieurs bactéries (*Agrobacterium*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* et *Alcaligenes*) sont capables d'induire la formation de racines et la croissance des boutures (**Bassil et al. 1991; Hatta et al., 1996; Rinallo et al., 1999**). En outre, certaines PGPR améliorent l'absorption de ces éléments nutritifs en favorisant le développement des racines (**Mantelin et Touraine, 2004**) par la production de phytohormones (**Kloepper et al. 2007**).

En revanche 21/24 souches rhizobactériennes ont été caractérisées comme étant délétères de la croissance végétale. Les résultats de l'étude du taux de germination et celui des longueurs de coléoptiles des graines traitées par les différentes souches bactériennes isolées nous ont permis de conclure qu'il existe une diversité dans le pouvoir délétère de ces bactéries. Ceci corrobore les travaux qui ont abordé l'inhibition de la germination des graines par les bactéries délétères, appelées en anglais « Deleterious Rhizobacteria » ou DRB.

7.3 Production d'enzymes

Les enzymes sont des macromolécules protéiques de haute masse moléculaire (10 à 100 kDa). Elles catalysent les réactions chimiques en augmentant leurs vitesses d'au moins 10⁶ fois, par rapport à la réaction en leur absence (**Granner, 2008**). Les microorganismes constituent la principale source d'enzymes. Les bactéries sont parmi les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol (**Bousseboua, 2005**).

Un grand nombre d'enzymes de bactéries ont été caractérisés dans la littérature, comme les cellulases, les amylases, les pullulanases, les xylanases, mannanase, pectinases, chitinases, protéases, lipases, les estérases, phosphatases et les phytases

Elles sont à la fois spécifiques du type de réaction catalysée et d'un seul substrat ou d'un petit ensemble de substrats fortement apparentés (**Granner et al, 2008**)

Grâce à l'activité des enzymes synthétisées par les bactéries, des composés de grands poids moléculaires peuvent être clivés en monomères ce qui aboutit par conséquent à leur dégradation pour être assimilés par la cellule bactérienne et par les plantes

Alors, cette action se résume dans le clivage de l'acide polygalacturonique (PGA) en acide monogalacturonique, ouvrant ainsi les liaisons glycosuriques, réduisant l'adhésion intracellulaire et la rigidité tissulaire (**Fogarty et Kelly, 1980 ; Tatianadacosta et Flevo, 2005**). Ce qui aboutit par conséquent à la dégradation de la

7.4 Production d'amylase

L'amylase est une enzyme hydrolysant l'amidon. Elle est constituée d'une α -amylase et d'une β -amylase (**Pandey et al, 2000**).

Il est bien établi que les α -amylases sont synthétisées par les plantes, les animaux et les micro-organismes, tandis que, les β -amylases sont principalement synthétisées par les plantes. Plusieurs autres enzymes sont induites en présence de l'amidon, mais ce sont les α -amylases qui dégradent l'amidon en glucose et/ou oligosaccharides, alors que avec les β -amylases on obtient du maltose (**Pandey et al., 2000 ; Raj et al., 2009**). La synthèse des enzymes amyliques par les bactéries permet une dégradation de la matière organique dans la nature et ainsi fournir des éléments minéraux que les plantes vont utiliser pour leur croissance. Les enzymes amylolytiques sont d'importance cruciale en biotechnologie avec énorme

applications dans des différentes industries : alimentaire, de textile et de papier (**Raj et al. 2009**).

Dans notre travail, la production de l'amylase est observée chez l'isolat OL 4 OL2 AS4 **Khandeparker et al. (2011)** aidentifiées isolats bactériens marins qui peuvent produire des enzymes dégradant les carbohydrates (amylase, cellulase, hémicellulase). La majorité de ces bactéries appartient au genre Bacillus suivi de Vibrio, Marinobacter, Exiquinobacterium, Alteromonas, Enterobacter et Aeromonas.

La cellulase exogène peut être un moyen potentiel pour l'accélération de la décomposition de paille, de la matière organique et par conséquent l'augmentation de la fertilité du sol. En plus de ce rôle l'utilisation de la cellulase est devenu un des moyens importants d'améliorer la production de bétail et de volaille et l'utilisation d'aliments (**Zhou et al., 2013**).

7.5 Production de protéase

Protéase C'est un groupe d'enzymes protéolytiques qui décomposent les grosses molécules de protéines en protéines courtes.

Les protéases jouent un rôle significatif dans la minéralisation de l'azote dans le sol. C'est un processus important dans la disponibilité de l'azote et donc dans la croissance des plantes. Cette enzyme dans le sol est généralement liée aux colloïdes inorganiques et organiques (**Nannipieri et al., 2011 ;Petit et Jobin, 2005**). La concentration élevée de cette enzyme extracellulaire est un indice de la capacité biologique présente dans le sol pour dégrader les différents substrats azotés et libérer de l'azote minéral (**Petit et Jobin, 2005**).

L'activité protéasique peut avoir un effet plus poussé, elle influence indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'AIA et d'autres substances appariées (**Mansour et al., 1994**).

7.6 Production de lipase

Les lipases, forment une classe d'enzymes hétérogènes selon leurs origines, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes.

Elles sont largement répandues chez les bactéries (Gram+ en grande quantité), les levures et les champignons filamenteux. La production de lipases est influencée par le type et la disponibilité de la source du carbone et d'azote (**de Guzmán et al., 2008**). Les lipases sont produites durant la croissance bactérienne, où cette période de production peut varier de

quelques heures à plusieurs jours selon les bactéries et les conditions environnementales (**de Guzmán et al., 2008**).

Les lipases forment un groupe souple d'enzymes, grâce au grand nombre de réactions catalysées par ces enzymes, En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant qu'hydrolases.

plus de son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides et des esters de cholestérol (**de Guzmán et al., 2008**).

Evaluation de l'activité antagoniste des souches OL2, OL4 et AS4 à l'égard de quelques bactéries phytopathogènes

Les résultats du test de l'activitéantibactérienne nous a permis d'observer des zones d'inhibition de 15mm , 7 mm 10 mm , 7 à 10 mm et 8mm, 5 mm , 7 à 10mm , 10 mm et 7 mm à l'égard des souches MJ 16 AS1 et BO , MJ15 AS1 BO et MJ ,AS BO respectivement. Ces zones d'inhibition indiquent la diffusion dans le milieu d'une substance antibactérienne non volatile secrétée par les souches Ol4, Ol2 et As4 efficaces contre les souches phytopathogènes Nos résultats rejoignent lesrésultats de (**Kirdi ,2011**) et (**Messaoudi., 2015**)

Des travaux menés par (**Admilton et al. (2011)**) visant l'évaluation de l'activité antibiotique des composés extracellulaires produits par *Pseudomonas* sp. (OL4) à l'égard de *Xanthomonas citri* pv. *citri*, (souche 360).Ces auteurs ont montré qu'une fraction obtenue à partir d'un filtrat de culture de *Pseudomona* sp.avait un effet antibiotique très prononcé vis-à-vis de la souche 306 de *Xanthmonas citri* pv. *citri* in-vitro.

CONCLUSION GÉNÉRAL ET PERSPECTIVES

Conclusion

Bien que l'application des PGPR ait une importance majeure dans l'agriculture, elle reste toujours insuffisante devant l'utilisation des pesticides et des engrais chimiques.

Dans notre étude, 04 échantillons du sol sont prélevés d'une manière aléatoire de différentes régions à savoir : Ain Soultan, Medjana, Oued Lakhder, de la wilaya de Bordj Bou Arreridj et EAC Kadri de la wilaya de Bouira. Ces échantillons ont fait l'objet d'un isolement de bactéries d'intérêt agricole (PGPR). L'isolement nous a permis d'obtenir 30 souches rhizobactériennes, dont **27 souches (75%)** se sont révélées inhibitrices de la germination des graines et/ou de l'élongation de la coléoptile. Trois souches rhizobactériennes codées OL4, OL2 et AS4 ont montré une légère stimulation de la croissance des plants de blé lors des tests in-vitro, non différente de celle des plants témoins, et par conséquent, ne peuvent pas être considérées comme étant PGPR sur le stade de germination.

Les résultats des tests d'activités enzymatiques à savoir : la synthèse des lipases, amylases, ainsi que la protéases ont permis de montrer des résultats potentiels. Les souches codées OL4, OL2 et AS4 se sont montrées positives pour ces 03 activités.

En se basant sur les résultats obtenus, on conclut que les bactéries rhizosphériques (OL4, OL2 et AS4) étudiées dans ce travail sont capables de produire différentes enzymes hydrolytiques d'une importance agronomique (des composés de grands poids moléculaire peuvent être clivés en monomère ce qui aboutit par conséquent à leur dégradation pour être assimilés par la plante favorisant ainsi la croissance végétale comme : la solubilisation du phosphate, minéralisation de l'azote, dégradation de la matière organique et amélioration de la fertilité du sol...

Les souches qui se sont révélées positives ont été retenues afin d'étudier leurs pouvoirs antagonistes en vers des bactéries phytopathogènes. La mise en culture duelle des trois rhizobactéries avec des bactéries phytopathogènes du genre *Pseudomonas* a mis en évidence une zone d'inhibition allant de 2 à 3cm, indiquant la production probable de substances diffusibles dans le milieu par les souches OL4, OL2 et AS4.

Toutefois, notre recherche n'a porté que sur quelques activités enzymatiques pour cela cette étude peut être plus approfondie et accomplie par d'autres tests incluant :

- La mise en évidence de la présence d'autres enzymes.
- Une évaluation quantitative des activités enzymatiques présentes chez ces souches.
- L'étude de l'activité antifongique

Perspectives

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherches ; il serait interagissant d'approfondir les études pour : 1 déterminez les paramètres principaux pour éliminer les champignons et /ou les bactéries phytopathogènes par les bactéries PGPR

L'application d'un système de lutte biologique se stabilisant nécessairement sur la survie des micro-organismes antagonistes et/ou stimulateur au niveau de la rhizosphère

La poursuite des travaux nécessite l'étude de pouvoir colonisateur des bactéries sélectionné au niveau de la rhizosphère et l'évaluation de leur effet d'une part sur la croissance de la plante cible

Et d'autre part sur le développement des autres microorganismes pour ne pas créer un déséquilibre dans l'environnement

Il est très important aussi d'effectuer un échantillonnage plus large dans les principales zones céréalières de pays et dans les différents étages bioclimatique pour obtenir des souches plus efficaces

L'identification morphologique des bactéries isolées doit être confinée par les outils moléculaires

Ce travail démontre les présences des bactéries bénéfique dans la rhizosphère du blé, cz qui nécessite des études complémentaire afin de trouver des moyens permettant de réduire les dégâts des pathogènes sur le blé tout en améliorant la production des plantes en général et du blé particulier

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Ahmad R., Nelson P.N., Kookana R.S., 2006. The molecular composition of soil organic matter as determined by ¹³C NMR and elemental analyses and correlation with pesticide sorption. *European Journal of Soil Science* 57, 883–893.

Altomare C, Novell WA, Bjorkman T & Harman GE (1999) Solubilization of phosphate and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied Environmental Microbiology* 65: 2926-2933

Barriuso E., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., Louchart X., Schiavon M., Aurousseau P., 2005. Pollutions organiques diffuses : mobilité et persistance des polluants organiques dans les sols. In: Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L. (Eds.), *Sols et Environnement* Dunod, Paris, 832 p.

Bordeaux, France: Centre Régional De Documentation Pédagogique, 368

Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P. 2002. Cahier de formation Biologie médicale, Les moisissures d'intérêt médical, France : Bioforma. 160p.

Cianciotto NP, Hilbi H, Buchrieser C. 2013. Maladie des légionnaires, p 147–217. *Dans* Rosenberg E (éd.), *Les procaryotes—microbiologie humaine*, 4e éd. Springer, New York, NY.

Corbaz , R .(1999). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaires romandes. 9 : 167-255.

Davet P., (1996). Le milieu « sol ». Dans *Vie microbienne du sol et production végétale*. INRA,

Davet, P. 1979. Technique pour l'analyse des populations de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans le sol. *Ann. Phytopathol.* 11 (4) : 529-533

Davet, P. 1986. Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie* 6 (9) :863-867

Économiser l'utilisation d'engrais azotés dans la production de blé grâce à un compost enrichi

Harman GE (2011) Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist* 189: 647–649

Harman, G. E. (2006). *Trichoderma* spp. Including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. kongii*, *T. hamatum* and other spp. Cornell University , Geneva . (<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/trichoderma.htm/>)

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96 : 190-194

Hermosa R, Viterbo A, Chet I & Monte E (2012) Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. *Microbiology* 158: 17–25

Hermosa, M .R. , Grondona, I ., Iturriaga, E. A., Diaz – Minguéz, J.M., Castroc,C., Monte,E. and Garcia – Acha, I.(2000). Molecular characterization and Identification of biocontrol Isolates of Trichoderma spp. University Spain. /Universidad de Salamanca. Spain.

Joffin, J.N and Layeral,G., (2006).Microbiologie technique. Tom 1. Dictionnaire des techniques.

Mouria, A., A. Ouazzani-Touhami, A. Douira, R. Benkirane, A. Mlaiki et M. El Yachioui. 1997a. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma*spp. vis-à-vis de *P. oryzae*. *Al Awamia* 96 : 9-17.

Mouria, A., A. Ouazzani-Touhami, A. Mlaiki, M. El Yachioui et A. Douira. 1997b. Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae* : Antagonisme *in vivo* des *Trichoderma*spp. vis-à-vis de l'*H. oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc. P. 113-116.

Nakkeeran S., Fernando W.G.D And Siddiqui Z.A., 2005. Plant growth promotin

Nakkeeran, S, W G Fernando, and Zaki A Siddiqui. 2005. “Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations

Organization, World Health. 2019. The State of Food Security and Nutrition in the World 2019: Safeguarding

Ouazzani-Touhami, A., A. Douira, R. Benkirane, M. El Oirdi, F. Bouslim, L. Zidane, N. Gmira et N.E. El Haloui. 1994. Antagonisme *in vivo* de certaines espèces fongiques vis-à-vis de *Verticilliumdahliae*.*Rev. Rés. APAMA* 7 : 197-211.

Oulebsir-Mohandkaci, H., S. Ait Kaki and N. Behidj-Benyounes, 2016. Phytochemical study and evaluation of antimicrobial, antioxidant and insecticidal activity of essential oils and polyphenols of bitter orange (*Citrus aurantium* L.). *Int. J. Adv. Chem. Eng. Biol. Sci.*, 3: 163-167.

Ousley, M.A., J.M. Lynch et J.M. Whipps. 1994. Potential of Trichoderma spp. as consistent plant growth stimulators.*Biol. Fertil. Soils* 17 (1) : 85-90.

Paris, 21-87.

Paul, B., Masih, I. (2006).Lutte biologique contre les maladies cryptogamiques de la vigne : la pourriture grise (*Botrytis cinerea*), l'oïdium (*Uncinula necator*) et le mildiou (*Plasmopara viticola*).

Quadt-Hallmann, ANDREA, J W Kloepper, and N Benhamou. 1997. “Bacterial Endophytes in Cotton:Response Model and PCR-RAPD.” *Environmental Earth Sciences* 60 (3): 603–12.

Rev Agric Food Sys , 23 (2008) , pp. 243 - 249

Rhizo-and Endosphere of Plants: Their Role, Colonization, Mechanisms Involved and Prospects for Utilization.”rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and Rhizobacteria.” *Biocontrol Science and Technology* 11 (5): 557–74.

RM Ahmad , M. Naveed , ZA Aslam , M. Arshad

S Loqman, EA Barka, C Clément, Y Ouhdouch - *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009

Saibi H. (2009). Geothermal resources in Algeria. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*; 13:2544–2552.

Satyanarayana T., Raghukumar Ch., Roswall T. and Shivaji S. (2005). Extremophilic microbes: Diversity and perspectives. *current Science* 89:1.

Soil Biology and Biochemistry 42 (5): 669–78.

STAT, 2019. www.stat.madrdz

Vessey J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*: 571–586.

Vessey, J Kevin. 2003. “Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers.” *Plant and Soil* 255 (2): 571–World.” *Microbiological Research* 169 (1): 30–39.

Zahir AZ, Arshad M, Frankenberger WT Jr (2004) Plant growth promoting rhizobacteria : application and perspectives in Agriculture *Adv Agron* 81 :91-168

Zhang, J., Lin, HS et Doolittle, J. (2008): Identification du modèle d'écoulement souterrain à l'aide d'une combinaison de radar à pénétration du sol et de surveillance en temps réel de l'humidité du sol. *La 1ère conférence internationale sur l'hydropédologie, 28-31 juillet 2008, Penn State, University Park, PA.*

LES ANNEXES

Annexe 01 : Milieu pour l'isolement et la purification GN

Milieux de culture déshydratés, en poudre gélose nu.....23g
Eau distillée1000ml

Annexe 02 : Milieux pour l'isolement et la purification KING B

Milieux de culture déshydratés, en poudre King B.....23g
Eau distillée.....1000ml

Annexe 03 : Composition et préparation des colorants

➤ **Violet de gentiane phéniqué :**

- violet de gentiane :10 g
- phénol :20 g
- éthanol (95 °GL) :..... 100 ml
- eau distillée :01 l

➤ **Solution iodée de Gram ou lugol :**

- iodure de potassium : 20 g ;
- iode métalloïde I₂ : 10 g ;
- eau 1 l ;

➤ **fuchsine pour Gram :**

- fuchsine de Ziehl = fuchsine basique : 10 g ;
- phénol : 50 g ;
- éthanol : 100 ml ;
- eau distillée : 1 l.
- Diluer au 1/10° pour la fuchsine pour GRAM ;

➤ **Décolorant alcool acétone :** éthanol (alcool) "absolu" 5 volumes ; acétone : 1 volume

Annexe 04 :

Milieu PDA à 1% d'amidon

Extrait de pomme de terre1000ml
Amidon10g
Glucose20g

Agar20g

200g de pomme de terre non pelées vieilles sont lavés et coupés en petites dés ensuite mis dans un litre d'eau distillée et portés à ébullition pendant 1heure , ils sont enfin écrasés, filtré ,compléter à 1L d'eau distillée

- L'agar et l'amidon sont dissous à chaud dans l'extrait de pomme de terre. Compléter à un litre d'eau distillée, ajuster le pH à 5 et stériliser à 110°C, pendant 30 min.

→ **Milieu gélosé à 5% de lait écrémé(Protéase)**

Lait écrémé50ml

GN10g

Eau distillée.....1000m

Annex 05

→ **Milieu gélosé avec jaune d'œuf (Lipas)**

jaune d'ouf1 jaune d'oeuf

GN10g

Eau distillée.....1000m

Résumé

La présente étude a été effectuée dans le But d'isolement d'agents pathogènes et antagonistes (bactéries) à partir de la rhizosphère de blé dur dans 4 sites différents en a obtenu 12 Souches inhibiteurs de germination des graines et/ou de l'élongation de les coléoptiles des graines. 3 Souches rhizobactériennes codée OL4 OL2 AS4 ont montré une forte stimulation de la croissance des Plantes de blé dur lors des tests in-vitro .ont été étudié les caractéristiques microscopique et Macroscopique de ces bactéries, ainsi que l'activité enzymatique ; ou nous nous sommes appuyés sur l'étude de l'activité des enzymes amylase, protéase et lipase.

Les bactéries OL4 OL2 AS4 ont montré la présence d'un halo clair autour d'elles, ce qui confirme l'activité enzymatique de ces bactéries contrairement aux bactéries pathogènes chez les quelles les halos clairs n'apparaissent pas.

Les résultats ont montré la présence d'une diversité de bactéries ou Nous avons trouvé des bactéries PGPR de type Pseudomonas et des bactéries pathogènes. Ont un Effet inhibiteur et létale sur le blé dur. La culture de bactéries antagonistes avec les bactéries Phytopathogènes du blé a révélé la présence d'une zone d'inhibition indiquent la possibilité de Production probable de substances diffusibles dans le milieu par les souches efficaces contre les Bactéries

Mots clés : antagoniste, Rhizobactéries, PGPR, blé dur, Phytopathogènes.

Abstract

The present study was carried out with the aim of isolating pathogens and antagonists (bacteria) from the rhizosphere of durum wheat in 4 different sites obtained from it 12 strains inhibitors of germination of seeds and/or elongation of seed coleoptellates. 3 Rhizobacterial strains coded OL4 OL2 AS4 showed a strong stimulation of the growth of durum wheat plants in in vitro tests. Microscopic and macroscopic characteristics of these bacteria, as well as enzymatic activity were studied; or we relied on the study of activity of the enzymes amylase, protease and lipase.OL4 OL2 AS4 bacteria showed the presence of a clear halo around them, which confirms the enzymatic activity of these bacteria unlike pathogenic bacteria in which clear halos did not appear. The results showed the presence of a diversity of bacteria or we found PGPR type Pseudomonas bacteria and pathogenic bacteria. Have an inhibitory and lethal effect on durum wheat. The culture of antagonistic bacteria with wheat phytopathogenic bacteria revealed the presence of an inhibition zone indicate the possibility of probable production of diffusible substances in the medium by strains effective against bacteria

Keywords: antagonist, Rhizobacteria, PGPR, durum wheat, Plant pathogens.

الملخص:

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل مسببات الأمراض والمضادات (البكتيريا) من الغلاف الجذعي للقمح الصلب في 4 مواقع مختلفة تم الحصول عليها منه 12 سلالة مثبتة لإنبات البذور و/أو إطالة قشرة البذور. 3 أظهرت السلالات الجذرية المشفرة OL4 OL2 AS4 تحفيزاً قوياً لنمو نباتات القمح الصلب في الاختبارات المختبرية. تمت دراسة الخصائص المجهرية والعيانية لهذه البكتيريا، بالإضافة إلى النشاط الإنزيمي ؛ أو اعتمدنا على دراسة نشاط الإنزيمات أميلاز وبروتياز وليباز.

أظهرت بكتيريا OL4 OL2 AS4 وجود هالة شفافة حولها، مما يؤكد النشاط الإنزيمي لهذه البكتيريا على عكس البكتيريا المسببة للأمراض التي لا تظهر فيها هالات شفافة.

أظهرت النتائج وجود مجموعة متنوعة من البكتيريا حيث وجدنا بكتيريا PGPR من نوع Pseudomonas والبكتيريا المسببة للأمراض. يكون له تأثير مثبت ومميت على القمح الصلب. كشفت ثقافة البكتيريا المضادة للبكتيريا المسببة للأمراض النباتية للقمح عن وجود منطقة تثبيط تشير إلى إمكانية الإنتاج المحتمل لمواد منتشرة في الوسط عن طريق سلالات فعالة ضد البكتيريا

الكلمات المفتاحية: السلالات الفعالة، القمح الصلب، البكتيريا الجذرية، السلالة المعادية.