

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA  
TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



**Mémoire de Master**

**Domaine : sciences de la nature et de la vie**

**Filière : Biologie**

**Spécialité/option : Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire  
des procaryotes.**

---

**Thème : Criblage visant la sélection des bactéries promotrices de  
croissance de plantes isolées de la rhizosphère de la tomate cultivée dans la  
région de Guelma.**

---

**Présenté par :- BOUAOUINA Iméne.**

**-KAMOUCHE Ibtissem.**

**- ZITOUNI Marwa.**

**Devant le jury composé de :**

**Président : Boumaaza M. MAA. Univ. 08 Mai 1945/ Guelma.**

**Examineur: M<sup>me</sup> Amri S. MAA. Univ. 08 Mai 1945/ Guelma.**

**Encadreur : M<sup>elle</sup> Khenaka K. MAA. Univ. 08 Mai 1945/ Guelma.**

**Juin 2015**

## *REMERCIEMENT*

*Nous tenons à remercier Dieu qui nous a donné le courage et le savoir afin d'achever ce modeste travail.*

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université de Guelma.*

*Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mlle Khenaka. K (Maître assistant à l'Université 8 MAI 1945 de Guelma) pour accepter de diriger ce travail, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral.*

*Toute notre gratitude va à Mme AMRI (maitre assistant à l'Université de 8 MAI 1945 de Guelma) et à qui a accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également monsieur Boumaaza (maitre assistant à l'Université de 8 MAI 1945 de Guelma) pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous nos enseignants qui ont assuré notre formation et tout le personnel de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers de l'université de 8 MAI 1945*

*de GUELMA.*

## Liste des Figures

N° figure	Titre de figure	Page
01	La rhizosphère	2
02	Structure Schématique de la rhizosphère	3
03	La flore de décomposition	7
04	La flore de minéralisation	7
05	La faune du sol	9
06	Quelques représentants de la faune du sol	10
07	Ectomycorhizes	15
08	Mycorhizes arbusculaires	16
09	Représentation schématique de <i>Pseudomonas</i>	21
10	Représentation schématique de l'azotobacter	23
11	Représentation schématique du genre <i>Bacillus</i>	24
12	Cycle de l'azote dans le sol	33
13	Culture des champignons phytopathogènes sur milieu PDA (a: <i>Aspergillus niger</i> , b: <i>Fusarium oxysporum</i> , c: <i>Fusarium solani</i> )	35
14	Les étapes de la coloration de Gram	37
15	Les étapes de réalisation du test de catalase	38
16	Réalisation du test de l'oxydase	39
17	Présentation de l'API 20NE	40
18	Test de solubilisation de phosphate	41
19	Effet antagoniste de quelques isolats rhizosphériques vis-à-vis les phytopathogènes.	45
20	Résultat de coloration de Gram	48
21	Galerie Api 20ne lors de la lecture	48

## Liste des tableaux

N ° du tableau	Titre du tableau	N ° de page
1	Habitats de certains actinomycètes.	20
2	Mise en évidence de solubilisation de phosphate des souches rhizosphériques.	41
3	Mise en évidence de l'activité anti-phytopatogène des souches rhizosphériques contre <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>d'Aspergillus</i> , <i>Fusarium solani</i> .	43
4	La production de l'acide-3-indole acétique en présence de tryptophane par les isolats rhizosphériques.	46
5	Production de la catalase par les isolats rhizosphériques	47
6	Résultat de test d'identification de la souche (58) isolée par la galerie Api 20ne.	49

## Liste d'abréviation

**AIA:** Acide Indole-3-acétique.

**API 20NE:** Appareillage et procédés d'identification des Non Entérobactéries (galerie biochimique).

**Ca<sub>3</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>:** Phosphate tricalcique.

**LB:** Lauria bernatti broth.

**N<sub>2</sub>:** Azote atmosphérique.

**PDA:** Potato Dextrose Agar.

**PGPF:** Plant Growth-Promoting Fungi.

**PGPR:** Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

**PGPY:** Plant Growth-Promoting Yeasts.



# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents que j'aime plus que tous au monde, qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études.*

*Merci beaucoup **papa** et **maman** je vous aime beaucoup.*

*Mon cher frère Abd Eljalil, A ma chère sœur (Karima) et son époux, et ma petite Khadra, en reconnaissance de leur affection toujours constante.*

*Mon époux **SAMI** pour son aide et ses encouragements et ainsi qu'à toute ma belle famille et surtout à belle mère et beau père.*

*Les adorables bourgeons (Sejf Eddine, Meryouma, Aridj, Douaa, Abd El Hay)*

*Sans oublier ma belle fleur ma petite fille **SADJIDA***

*Mes amies surtout Ibtissem et Iméne*

*Mes camarades de promotion*

*Tous mes enseignants*

*Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.*

*Marwa.*





# Dédicace

A mon cher père

Tes conseils m'ont suivi et m'ont permis d'atteindre le bout du chemin. Sois fier de moi aujourd'hui et vois à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde.

A ma chère mère

Ma douce et tendre mère. Quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là, c'est bien grâce à toi. Que dieu te donne longue vie et te protège pour moi.

A ma tendre sœur soundes

La généreuse, au cœur d'or. Je souhaite simplement que Dieu nous accorde une longue vie et une bonne santé pour que nous puissions cheminer ensemble sur la route du destin avec amour, honnêteté, sincérité, respect mutuel, solidarité, dignité comme nous l'ont enseigné nos parents.

A mes chers frères

Salah eddine et Ala edinne j'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que vous me portez. Que Dieu vous préserve.

A toute ma famille.

A tous mes camarades de promotion, et plus particulièrement surtout Iméne et Marwa vous êtes pour moi durant ces années passées ensemble plus des amies, Vous êtes mes sœurs  
Toute ma gratitude et ma sympathie pour leurs soutien.

Ibtissem





# Dédicace

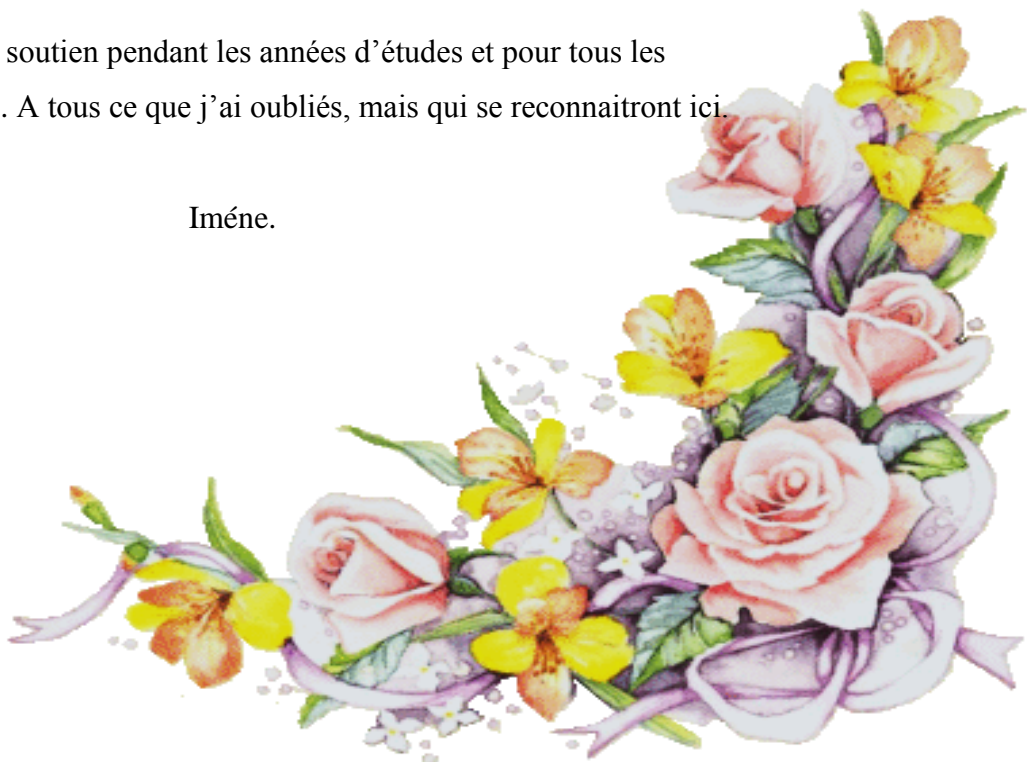
Je dédie ce travail à mes parents pour leur soutien moral et pour  
Toutes les charges assurées durant toutes ces longues années d'études.  
Que ce travail soit le symbole de ma reconnaissance de leur amour  
Infini.

Je dédie également ce mémoire à mes sœurs (Amel et Houria) et mes frères (Yazid, Saïd,  
Mohammed, Ramzi), et petite fleur Farah. Pour la confiance et l'espoir qu'ils ont mis  
En moi et pour leur encouragement incessant.

Pour les moments extraordinaires passés ensemble je tiens à remercier  
Mes amis et mes collègues surtout Ibtissem et Marwa.

Pour leur fidèle soutien pendant les années d'études et pour tous les  
Excellents souvenirs. A tous ce que j'ai oubliés, mais qui se reconnaîtront ici.

Iméne.





## Introduction

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones. Certains de ces micro-organismes, principalement les bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR [21].

L'effet bénéfique des PGPR est exercé soit par une phytostimulation et/ou une phyto-protection. Par le biais de la phytostimulation, ces bactéries peuvent augmenter la biodisponibilité de certains nutriments pour la plante tels que l'azote, le fer et le phosphate, comme elles produisent aussi différentes phytohormones telles que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines. Le phénomène de la phyto-protection est exprimé par la réduction du niveau de certaines maladies, ces bactéries peuvent agir par antagonisme en produisant des molécules inhibitrices des pathogènes, comme elles peuvent activer la résistance systémique induite de type ISR des plantes, qui augmentera la résistance des plantes à l'attaque des pathogènes, de même, les PGPR peuvent contrôler la croissance des pathogènes par la compétition pour les éléments nutritifs, par exemple, la compétition pour le carbone et la compétition pour le fer dont la biodisponibilité dans le sol est très faible [22].

L'objectif de ce travail est de réaliser un Criblage visant la sélection des bactéries promotrices de croissance de plantes isolées de la rhizosphère de la tomate par l'utilisation de trois tests, principalement : La mise en évidence et la quantification de l'indole 3-acétique acide (AIA) produit en présence de tryptophane, l'étude de l'activité antifongique des souches isolées vis-à-vis des champignons de type *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus niger*. Ainsi que la mise en évidence de la solubilisation de phosphate inorganique.

## 1- La rhizosphère

### 1-1 Définition de rhizosphère

La rhizosphère (du grec rhiza, la racine et de sphère domaine d'influence), c'est-à-dire la région du sol sous l'influence directe de la racine, ce terme a été utilisé pour la première fois par Hiltner (1904) pour qualifier la zone dans laquelle de sol sous l'influence la racine des légumineuses attire les rhizobiums du sol en prélude à l'établissement de la symbiose; il est pris maintenant dans une acception plus générale [1].

La rhizosphère est caractérisée par sa richesse en micro-organismes, et notamment en bactéries et champignons microscopiques qui se nourrissent de ces composés, ainsi que des débris issus des cellules végétales mortes.

La géométrie de la rhizosphère dépend donc de la structure du couvert végétal, des espèces considérées, de l'âge des plantes, du cortège microbien associé aux racines, et des actions racinaires considérées. Ses limites sont de ce fait difficiles à préciser. Sa limite externe se confond insensiblement avec l'ensemble du volume de sol colonisé par les racines des plantes [2].

La rhizosphère est un milieu complexe et hétérogène, où les exsudats racinaires des plantes permettent le développement d'une flore microbienne particulière. Elle représente un système dynamique et interactif, qui dépasse la simple notion d'interface entre le sol et les plantes. Elle est lieu privilégié d'interactions fortes entre monde végétal et monde minéral. Elle est un condensé des processus physiques, chimiques et biologiques qui animent les sols [1].



**Figure 01.** La rhizosphère [3].

# Chapitre I : La rhizosphère

Dans la rhizosphère sensu stricto il faut distinguer : l'endorhizosphère (intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'exorhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine par opposition au sol distant), se présentée par la Figure 1[4].

## L'endorhizosphère:

Certaines bactéries vivent au contact direct de la racine, voire même pénètrent dans les tissus rhizodermiques et corticaux, sans pour autant être parasites ou prédatrices. Ceci souligne le fait que l'interface entre la racine et la microflore s'étend à l'intérieur de la racine [1].

## Le rhizoplan

Le «rhizoplan» (RP), selon Clark (1949) désigne la surface racinaire et les bactéries qui y sont fortement adhérees.

## L'ectorhézosphère

Le «sol rhizosphérique» (SR) d'après Hiltner (1904) est défini comme «la fraction de sol sous l'influence des racines», excluant donc toute présence de ces dernières.

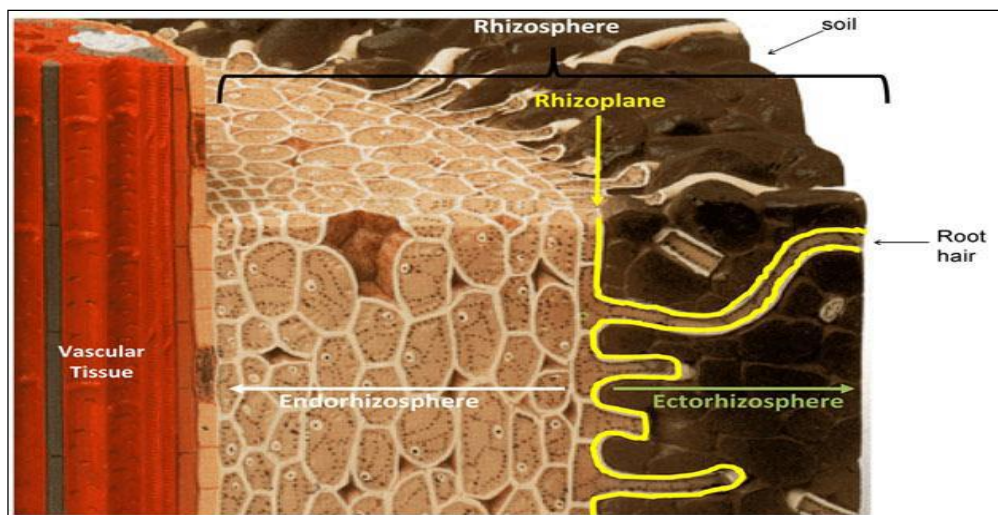


Figure 02. Structure Schématique de la rhizosphère [5].

## 1-2- Le rôle de la rhizosphère

➤ La rhizosphère joue un rôle essentiel dans les processus de phytoremédiation [6].

# Chapitre I : La rhizosphère

---

- la rhizosphère rendue compte de la stimulation de la croissance et de l'activité des communautés microbiennes autour des racines [3].
- La rhizosphère est le siège de processus physiques et chimiques spécifiques liés à l'alimentation hydrique et minérale des plantes [7].
- La rhizosphère est apparue comme le lieu privilégié des échanges de matière et d'énergie entre les plantes et le sol, un passage obligé de tous les éléments minéraux depuis le sol vers les plantes, et un lieu d'interactions fortes entre les plantes et les micro-organismes de sol [7].
- La rhizosphère est une région du sol riche en gaz carbonique et pauvre en oxygène dissous, la rhizosphère est de ce fait un site réducteur, où se développer une activité dénitrifiant, réduisant l'ion nitrate en oxyde d'azote, voir en ammoniacque [7].
- Dans la rhizosphère la synthèse de phosphatase mène à une augmentation de la disponibilité du phosphore, et en contre partie son assimilation par les plantes [2].
- La rhizosphère est une niche écologique qui éveille et stimule diverses activités microbiennes, en participant ainsi, au fonctionnement des cycles des nutriments majeurs et des oligoéléments comme le carbone, l'azote, le phosphore, le fer, etc [7].
- La rhizosphère joue un rôle singulier dans la régulation de la santé et de la nutrition des plantes, en lien avec la nature des exsudats racinaires [2].

## 1-3- Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère

D'une façon générale, l'activité microbienne dans la rhizosphère est régie par:

- des facteurs de l'environnement climatique, notamment humidité de l'air, température, radiation solaire, teneur en CO<sub>2</sub>.
- des facteurs de l'environnement édaphique, notamment : teneur du sol en eau et en oxygène, température du sol, teneur du sol en éléments assimilables par les plantes, présence de composés phytotoxiques.
- des échanges de « molécules signal entre les racines des plantes et les microorganismes qui leur sont associés » (champignons, bactéries, cyanobactéries...). Les signaux rhizosphériques influent sur l'expression génique (« **épigénétique** »). Ils sont souvent « **phytobénéfiques** » en améliorant par exemple l'architecture, la croissance et le fonctionnement du système racinaire [7].

# Chapitre I : La rhizosphère

---

## 1-4- Rhizodéposition et Exsudats

### 1-4-1- La rhizodéposition

Un processus majeur dans la rhizosphère consiste en la rhizodéposition des composés carbonés par les racines. Ce terme "rhizodéposition" est proposé pour la première fois par Shamoot, (1968) pour décrire la matière organique d'origine racinaire retrouvée dans le sol. La rhizodéposition correspond donc au transfert de carbone des racines vivantes des plantes vers le sol. Ce phénomène recouvre la production des cellules de la coiffe racinaire, la sécrétion de mucilage et la diffusion passive [2].

Il est estimé que 40 % du C assimilé par les plantes au cours de la photosynthèse est alloué au compartiment souterrain, avec des variations importantes suivant les espèces végétales et leur environnement. Un tiers de ce C permet l'élaboration de la biomasse racinaire, un second tiers est respiré par les racines, alors qu'un dernier tiers correspond à la rhizodéposition qui constitue une source d'énergie essentielle pour les microorganismes du sol [8].

### 1-4-2- Les exsudats

Les exsudats sont des composés hydrosolubles de faible poids moléculaire tels que les sucres, les acides aminés, les acides organiques, les phytosidérophores, les flavonoïdes, les hormones et les vitamines. Ils sortent de la racine en suivant le gradient de concentration entre le cytosol de la racine et la solution du sol. La part des exsudats est la plus importante dans la rhizodéposition [9].

Les exsudats racinaires permettent le développement d'une flore symbiotique qui assure une bonne croissance aux plantes, en produisant de substances bénéfiques à la croissance comme les phytohormones et des antibiotiques assurant la protection contre des phytopathogènes [3].

## 2- La flore de la rhizosphère

### 2-1-Définition

La flore rhizosphérique est constituée principalement d'une microflore très hétérogène, en fait, plusieurs études ont montré une densité et une activité microbienne très intense à proximité des racines des plantes. Elle est constituée d'un grand nombre d'espèce qui sont parfois difficiles à observer et surtout à isoler. Elle comprend des bactéries, des champignons,

# Chapitre I : La rhizosphère

---

des protozoaires, des algues, des virus, mais les bactéries sont les représentants les plus importants quantitativement [3].

La composition de la microflore rhizosphérique est contrôlée par le génome de la plante, car cette composition est favorisée par les exsudats racinaires, qui diffèrent selon les familles et les espèces des plantes [3].

## **2-2- Les types de la flore**

### **2-2-1- Les algues**

Leur chlorophylle les rend autotrophes, sont surtout présentes sur la surface du sol ou dans ses deux ou trois premiers centimètres du sol. Il leur faut, en effet, pour la photosynthèse, recevoir un minimum d'éclairage. Certaines algues hétérotrophes (Euglènes) peuvent vivre plus profondément. Beaucoup de ces algues sont entourées d'une couche mucilagineuse qui abrite de nombreuses bactéries [8].

### **2-2-2- Les actinomycètes**

Ce sont des bactéries filamenteuses, et qui participent principalement dans la protection des plantes contre les différents agresseurs [10].

### **2-2-3- Les protozoaires**

Les protozoaires sont particulièrement abondants dans les premiers dix centimètres du sol. Ils sont d'autant plus nombreux que les sols sont humides et riches en matières organiques (3 à 400 kg à l'hectare, soit 1 à 2 millions par gramme de terre. Les protozoaires comportent surtout des consommateurs de bactéries ou des prédateurs d'autres protozoaires (amibes, amibes à thèque, flagellés, ciliés). Les protozoaires sont des acteurs essentiels dans la régulation des flores bactériennes dont ils assurent surtout le rajeunissement des populations [8].

### **2-2-4- La flore de décomposition**

Elle prolifère près de toute matière organique inerte (cadavres d'animaux, débris végétales) enfouie" dans le sol frais et la décompose pour produire, par une série de réactions chimiques complexes, de l'humus. L'action de la flore de décomposition peut être résumée par la figure 3.

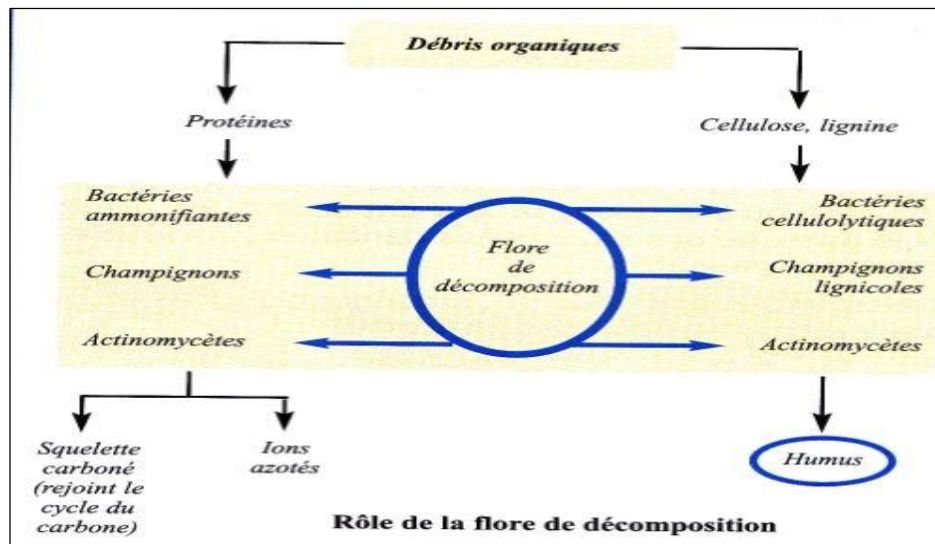


Figure 03. La flore de décomposition [11].

## 2-2-5- La flore de minéralisation

Elle est présente dans la rhizosphère, c'est -à- dire à la surface des racelles des plantes en croissance ou en germination. Celles-ci ont besoin d'ions nitrate  $\text{NO}_3^-$  pour se développer. La flore de minéralisation en fournit par la transformation lente de l'humus selon la figure 4.

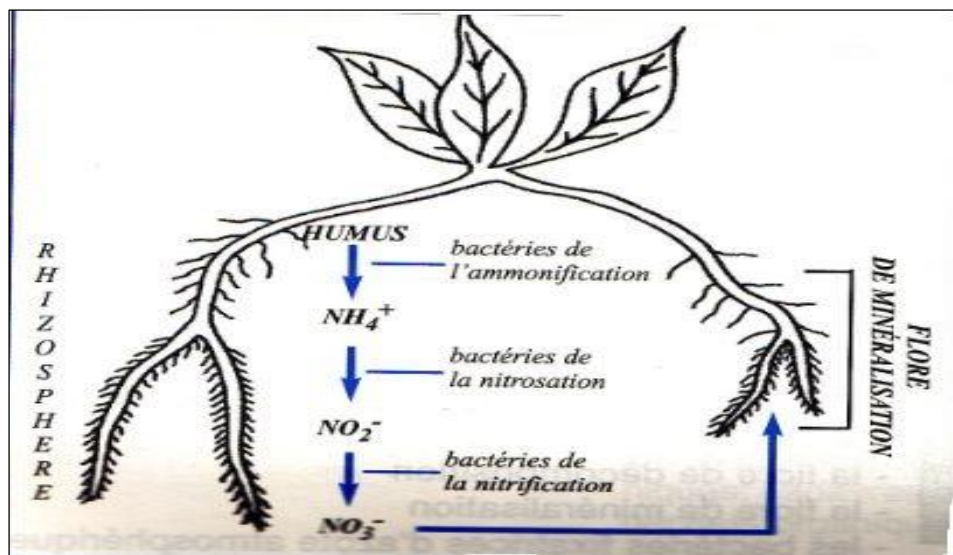


Figure 04. La flore de minéralisation [11].

## 2-2-6- Les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique

Certaines bactéries ont la capacité de transformer l'azote atmosphérique (inutilisables pour les plantes) en ions ammonium ou en nitrates. Les bactéries du genre *Rhizobium* ne peuvent effectuer cette transformation qu'associées à une plante de la famille des légumineuses.

# Chapitre I : La rhizosphère

---

Elles pénètrent dans sa racine et la plante réagit en produisant une excroissance de tissu plus ou moins sphérique : ce sont les nodosités renfermant les bactéries. Leur activité permettra de transformer l'azote en ions ammonium ou (et) nitrate assimilables par les végétales.

Certaines bactéries appartenant aux genres *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter* peuvent, quant à elles, fixer l'azote atmosphérique de façon autonome (sans dépendre de l'association avec une plante) [11].

## 2-3- Les facteurs favorisant la flore de rhizosphère

- l'aération: la plupart des micro-organismes utiles ont besoin d'air, donc ils sont aérobies.
- l'humidité (même niveau pour les racines que pour les micro-organismes). Elle doit être en moyenne de 18 à 20 %.
- la température: - activité nulle à 0°C.
  - moyenne à 10 - 15°C.
  - optimale à 30°C.
- le pH (optimum de 6 à 7.5) : voisin de la neutralité. Si trop acide :destruction de la flore.
- la présence de calcium échangeable (pour neutraliser les acides organiques formés lors de l'activité microbienne).
- la quantité de matières organiques: un apport stimule la flore du sol mais une quantité élevée peut-être un signe de mauvaise la décomposition.
- la présence de la faune.
- enfin, le mode d'exploitation peut plus ou moins favoriser l'activité de la flore (et de la faune) du sol [11].

## 3- La faune du sol

### 3-1- Définition

La faune du sol est représentée par de nombreux taxons, comprenant eux – même des centaines, voire des milliers d'espèces, Cela représente donc une source de biodiversité non négligeable qu'il convient de connaître pour mieux la gérer [8].

La faune du sol est très variée. La plupart de ses représentants sont des animaux microscopiques (quelques dixièmes de millimètres).





**Figure 05.** La faune du sol [5].

En fonction de la taille des espèces, il existe plusieurs classes de la faune: macrofaune , mésafaune ou microfaune.

**La microfaune :** ( $\leq 0.2\text{mm}$ ) regroupe les principalement des micro-organismes ayant besoin d'eau liquide pour vivre. On trouve des protozoaires, grande consommateur des bactéries, ils induisent le maintien de la jeunesse des populations de bactéries, celle-ci devant se reproduire pour pallier à cette prédation. On peut observer des métazoaires [12].

**La mésafaune :** (0,2 mm à 4 mm) rassemble les microarthropodes: Acariens et Collemboles grouillent dans le sol, à raison de plusieurs milliers par mètre carré. Pseudoscorpions, Protoures, Diploures et petits Myriapodes vivent également dans le sol. Chez les vers, de grands Nématodes et les Enchytréides entrent dans cette catégorie [12].

**La macrofaune :** (4 mm à 80 mm) est composée des animaux comme les vers de terre , des larves d'insectes, des insectes qui habitent le sol toute leur vie comme les Fourmis ou certains Carabes, des Cloportes, des Myriapodes, des Limaces et Escargots, des Araignées et Opilions [13].

**La mégafaune :**(80 mm à 1.60 m) est constituée par des reptiles, des petits mammifères et des amphibiens. Ils interviennent dans la dynamique du sol par le brassage qu'ils provoquent sur leur passage [12].

# Chapitre I : La rhizosphère

## 3-2- Rôles généraux de la faune

### 3-2-1- Rôle physique

Cinq effets mécaniques majeurs de la faune du sol ont été mis en évidence: le macrobrassage, le microbrassage, la formation des galeries, la fragmentation, la formation d'agrégats [1].

### 3-2-2- Rôle chimique

#### 3-2-2-1- Les effets chimiques directs

La faune agit sur la composition chimique du sol également par ses excréta qui, en six mois, produiraient un flux d'azote équivalent à celui exporté par la fénaison [1].

#### 3-2-2-2- Les effets chimiques indirects

Parmi les effets chimiques indirects de la faune du sol, celui des protozoaires est important. Ils sont capables de minéraliser l'azote, le phosphore et le soufre à partir de leur nourriture, c'est à dire des bactéries qu'ils consomment en quantités considérables. Les amibes prédatrices augmentent ainsi la quantité de nitrate directement utilisable par la plante dans la rhizosphère [1].

### 3-2-3- Rôle biologique

Il règne dans le sol un équilibre complexe et dynamique entre les différents compartiments des réseaux alimentaires. Cet équilibre est régi d'une part par les conditions physico-chimiques du milieu, de l'autre par les facteurs biotiques (les interactions entre les êtres vivants) [1].

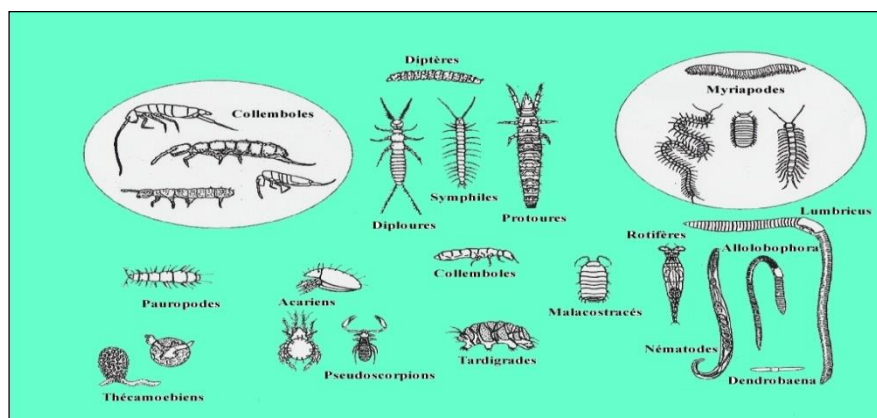


Figure 06. Quelques représentants de la faune du sol [1].

## 4- Les différentes interactions dans la rhizosphère

### 4-1- Interaction microorganisme- microorganisme

Il existe différentes interactions dans la rhizosphère (mutualisme, compétition, symbiose, parasitisme, prédation), qui constituent le moteur des différents processus qui se déroulent entre les microorganismes et les plantes [8].

#### 4-1-1- Mutualisme

Le mutualisme ou symbiose est une association mutuellement avantageuse aux microorganismes partenaires, exemple : de *Proteris vulgaris* qui a besoin de biotine, mais qui synthétise l'acide nicotinique requis par *Bacillus polymyxa* qui le transforme en biotine [2].

#### 4-1-2- Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance. L'effet sélectif des exsudats racinaires sur la microflore serait le résultat de la compétition qui oppose des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide, ces dernières sont particulièrement favorisées dans la rhizosphère [2].

#### 4-1-3- Commensalisme

Définit une interaction bénéfique pour l'un des partenaires et qui n'est ni avantageuse ni défavorable pour le second [14].

#### 4-1-4- Parasitisme

C'est une relation biologique symbiotique dont un des protagonistes (le parasite) tire profit (en se nourrissant, en s'abritant ou en se reproduisant) aux dépens d'un hôte. Les organismes qui ne sont pas des parasites sont qualifiés de « libres » [3].

#### 4-1-5- Antagonisme

En écologie, le terme d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte. L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition (soit les éléments nutritifs,

# Chapitre I : La rhizosphère

---

l'espace ou les autres facteurs environnementaux), un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose [15].

Parfois l'interaction est pénalisante pour un partenaire et est sans effet sur le second [14].

## 4-1-6- Symbiose

Plus que d'autre processus, le fonctionnement de symbiose repose sur l'interaction étroite entre les trois composantes que sont le sol, les micro-organismes du sol et la plante. Le sol détermine les conditions physico-chimiques, dont certaines sont indispensables à l'établissement de la symbiose.

La symbiose entre bactéries de la famille des rhizobiacées (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*) et les plantes de la famille des fabacées, anciennement familles des Légumineuses est la plus connue et la étudié. Cette association forme des nodosités sur des racines. Certaines bactéries du genre *Rhizobium* ont la propriété de fixer l'azote atmosphérique. La plante fournit le gîte, sous forme de la nodosité, et le couvert, sous forme de sucre et d'acides aminés. En fixant l'azote, La bactérie fournit à la plante un nutriment qui favorise sa croissance dans la plupart des sols non cultivés.

La symbiose rhizobia-légumineuse a été utilisée dans les systèmes de rotation de cultures pour augmenter la fertilité du sol bien avant l'identification des rhizobia par Hellriegel et Wilfarth en 1888 [7].

## 4-2- Interactions microorganisme –plante

### 4-2-1- Induction de la croissance des plantes

#### 4-2-1-1- Les champignons bénéfiques ou les PGPF

Des champignons appelés PGPF “ Plant Growth-Promoting Fungi” 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” [16].

# Chapitre I : La rhizosphère

---

## 4-2-1-2- Les bactéries promotrices la croissance des plantes

Les bactéries associées aux racines peuvent agir fortement sur la nutrition de la plante grâce à des nombreux mécanismes impliqués dans les relations mutualistes ; tel est le cas des PGPR.

Les PGPR agissent sur la croissance et le développement du végétal à deux niveaux :

- **par voie indirecte**, par réduction du nombre des phytopathogènes ou en prévention de leur développement.
- **par voie directe**, par l'augmentation de la biomasse végétale et du prélèvement des nutriments grâce à la production d'hormones de croissance végétale (AIA, gibbérelline, ou cytokinine), la solubilisation du phosphore, la production de sidérophores, d'enzymes spécifiques ou la fixation de l'azote atmosphérique [17].

## 4-3- Interactions champignons – plantes

Les champignons sont des microorganismes parasites des végétaux dont les dimensions des spores se situent entre 10-100 microns. Elles sont caractérisées par un mycélium, formé de filaments nommés hyphes, Les grands groupes de champignons sont :

### 4-3-1- Archimycètes

Ils sont très primitifs, liés à la présence d'eau, car les zoospores flagellées ne se trouvent que dans la terre [18].

### 4-3-2- Phycomycètes

Les Phycomycètes possèdent un mycélium bien développé mais pas cloisonné. Parmi les principaux parasites obligatoires des plantes cultivées, on compte de nombreux Phycomycètes

- *Peronospora*, mildiou du tabac, du chou.
- *Plasmopara*, mildiou de la vigne.
- *Bremia*, mildiou de la laitue [18].

# Chapitre I : La rhizosphère

---

## 4-3-3- Ascomycètes

Ils possèdent un mycélium cloisonné. Parmi les principaux parasites, citons :

- Les oïdiums
- Erysiphe, oïdiums des céréales.
- Unicinula, oïdiums. de la vigne.
- Podosphaera, oïdiums du pommier.
- Tous parasites obligatoires [18].

## 4-3-4- Basidiomycète

On compte parmi les Basidiomycète les rouilles, les charbons et les caries ainsi que les champignons à chapeau [18].

## 4-3-5- Mycorhizes

Les mycorhizes (du grec *myco* ou « champignon » et *rhiza* ou « racines ») sont des champignons symbiotiques associés aux racines de 90 % d'espèces de plantes. La symbiose est mutualiste car chacun des partenaires tire parti de cette association qui existe depuis 400 millions d'années, constituant ainsi un des plus vieux partenariats bénéfiques [18].

Les Mycorhizes sont fréquents dans la nature. Cette association est bénéfique pour la plante à plusieurs titres :

- Elle accroît la longévité des racines nourricières.
- Elle facilite l'absorption des nutriments.
- Elle augmente l'absorption spécifique des ions.
- Dans certaines cas, elle augmente la résistance des plantes aux pathogènes [14].

Le champignon assure alors une continuité biophysique entre le système racinaire de la plante et le sol, cette association symbiotique mycorhizienne consiste en association d'un champignon avec une plante- hôte. On distingue plusieurs grands types d'association [7].

Les plantes mycorhiziennes sont très souvent résistantes aux différents stress du milieu, comme la transplantation, les maladies, la sécheresse, la salinité et un environnement toxique (par la présence de métaux lourds, d'hydrocarbures, etc.). Ces effets sont dus à l'amélioration

## Chapitre I : La rhizosphère

---

de l'acquisition d'eau et d'éléments nutritifs ainsi qu'à l'interaction avec d'autres microorganismes bénéfiques.

### **Ectomycorrhizes**

Ecto traduit le fait que les hyphes mycéliens progressent strictement entre les cellules du cortex racinaire [19].

Les ectomycorrhizes : sont des champignons qui forment des associations principalement avec des conifères (pin, épinette, etc.) dans des écosystèmes forestiers. Le nom d'Ectomycorrhizes vient du fait que les champignons forment certaines structures caractéristiques comme le manchon qui change la morphologie des racines des plantes hôtes. Ces champignons sont les plus faciles à détecter vu la production de carpophores, les champignons qu'on voit traditionnellement lors d'une promenade en forêt ou lors de nos achats à l'épicerie (morilles, truffes, etc.) [14].

Le champignon occupe les espèces intercellulaires de l'épiderme et la région corticale mais ne se développe jamais dans les cellules des racines [14].

Dans la Symbiose ectomycorhizienne les hyphes fongiques forment à la surface de la racine un feutrage dense, appelé manteau mycorhizien. Coté sol les hyphes de la racine [8].



**Figure 07.** Ectomycorrhizes [8].

# Chapitre I : La rhizosphère

---

## Endomycorhizes

Endo fait référence au fait que les hyphes franchissent les parois et « repoussent » la membrane plasmique des cellules hôtes, sans pour autant pénétrer le protoplaste [19]. Les associations endomycorhiziennes sont caractérisées par un envahissement important des cellules corticales par des hyphes de champignons qui s'étendent à l'extérieur des racines. Cette interaction plante/ champignons se retrouve chez des plantes comme les orchidées et les azalées. Le champignon forme des structures intracellulaires appelées vésicules ou arbuscules dont est tiré le nom de mycorhize vésiculo-arbusculaire. Les champignons impliqués dans ces relations sont difficiles ou impossibles à cultiver indépendamment de la plante [18].

Ces champignons sont abondants, mais ils sont difficiles à observer par leur taille, on utilise une technique de coloration spéciale pour pouvoir les observer sous microscope [9].



**Figure 08.** Mycorhizes arbusculaires [20].



### 1- Bactéries promotrices de croissance des plantes

Les PGPR, abréviation de Plant Growth Promoting Rhizobacteria, est le terme générique qui décrit les bactéries de la rhizosphère bénéfiques à la croissance et à la santé des plantes. On distingue deux grands groupes de PGPR : Les phytostimulatrices et les Phytoprotectrices [22].

**Les PGPR phytostimulatrices** : Elles influencent la croissance des plantes par :

- En améliorant la biodisponibilité de certains nutriments par la fixation de l'azote atmosphérique, ou par solubilisation du phosphate.
- En synthétisant des phytohormones comme des auxines, cytokinines, gibbérellines.
- En modulant le développement des plantes, grâce à une activité 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase, qui va entraîner une élongation racinaire.
- En facilitant la mise en place ou le fonctionnement des symbioses mutualistes entre les racines et les bactéries fixatrices d'azote ou les champignons mycorhiziens [22].

**Les PGPR phytoprotectrices** : Elles favorisent la croissance des plantes en réduisant le niveau de certaines maladies. Pour cela, elles peuvent agir :

- Par antagonisme en produisant des antibiotiques délétères pour les pathogènes.
- Par interférence avec des signaux, en détruisant les molécules signal des pathogènes.
- En activant la résistance systémique induite de type ISR des plantes, qui augmentera la résistance plantes à l'attaque des pathogènes.
- En contrôlant la croissance des pathogènes par la compétition pour les éléments nutritifs, comme par exemple, la compétition pour le carbone et la compétition pour le fer dont la biodisponibilité dans le sol est très faible [22].

### 2- Les grands types des Bactéries promotrices de croissance des plantes

#### 2-1- Les actinomycètes

##### 2-1-1-Définition

Actinomycètes du grec akitino, mycètes « champignons » ou champignons rayonnant [23]. Les actinomycètes constituent l'ordre des actinomycétales Ce sont des bactéries filamenteuses, septes, ramifiées, prenant généralement le Gram positif, possédant un coefficient de chargaff (GC%) compris entre 60-70%. La plupart d'entre eux sont toujours immobiles, leur croissance est lente avec un temps de génération de 2 à 3 heures, ils croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines. Ils sont abondamment distribués dans la nature. Les actinomycètes sont importants en raison surtout de leur rôle dans la fertilisation des sols, synthèse de composés complexes comme les antibiotiques, les vitamines, les stéroïdes, et aussi participent activement à l'humification en s'attaquant à la lignine ect, certains actinomycètes (*Francia*) vivent en symbiose avec diverses espèces végétales dont l'aulne [24].

En générale, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe. Et aussi moins nombreux que les autres bactéries mais plus nombreux que les champignons [24].

##### 2-1-2- Propriétés générales des actinomycètes

###### 2-1-2-1- Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second: comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier [25].

Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu
- des colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

- des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (Thermoactinomyces) hautement résistantes à la chaleur et autres adversités. Ces endospores sont semblables à celles des *Bacillus*. D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges qui peuvent contenir des spores mobiles à l'aide de flagelles (Actinoplanes) ou des spores immobiles tel que le genre *Streptosporangium* [26].

### 2-1-2-2 -Physiologie

Les actinomycètes sont des bactéries à coloration de Gram positive, généralement aérobies à métabolisme oxydatif, plus rarement anaérobies à métabolisme fermentatif. Organismes hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-autotrophique. Certaines ont des exigences nutritionnelles telles que les vitamines et certains acides aminés. Ils colonisent fréquemment les substrats insolubles tel que le charbon par pénétration mécanique de la matrice et peuvent dégrader les protéines, la cellulose et d'autres matières organiques comme la paraffine et les résidus des plantes dans le sol [27].

### 2-1-2-3- Ecologie

Les actinomycètes sont très répandus dans la nature. Ils sont plus fréquents dans le sol et dans le compost végétal, et se retrouvent également dans les fumiers, au fond des lacs et des rivières, dans les produits alimentaires, où ils peuvent causer leur détérioration, et dans l'air. Les actinomycètes ont été isolés de l'eau de mer et de la boue du fond de la mer, bien que la mer ne semble pas être un habitat favorable pour eux. Certaines espèces d'Actinomycètes et de *Nocardia*, sont des parasites des plantes et des animaux [22].

Certaines espèces d'actinomycètes semblent préférer certains habitats par rapport à d'autres, quelques exemples sont représentés dans le tableau N°3 :

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

**Tableau N° 1.** Habitats de certains actinomycètes [28].

<b>Actinomycètes</b>	<b>Habitats</b>
<i>Actinoplanes</i>	l'eau douce, la litière végétale, le sol.
<i>Frankia</i>	les nodules racinaires des non-légumineuses
<i>Micromonospora</i>	l'eau douce, les sédiments, les sols humides
<i>Nocardia amarae</i>	les boues activées
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	les déjections animales, l'eau, le sol
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	moisi du foin.
<i>Streptomyces</i>	le sol, la litière végétale, l'eau
<i>Thermoactinomyces</i>	le compost

### **2-2-Pseudomonas**

#### **2-2-1-Définition**

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux [18].

Le genre *Pseudomonas* est le mieux étudié et caractérisé de tout le groupe. Il est très répandu dans la nature. Plusieurs espèces résident dans le sol, dans l'eau et sur des surfaces comme la peau humaine. Les membres du genre *Pseudomonas* montrant une grande adaptabilité nutritionnelle. En raison de cette capacité d'adaptabilité nutritionnelle, les espèces *Pseudomonas* sont très importantes pour la dégradation des composés organiques dans le sol et dans environnements aquatiques. Certaines espèces de *Pseudomonas* sont des pathogènes des plantes comme *Pseudomonas syingae* [14].

Elles possèdent aussi une grande tolérance dans les gammes de température environnant bien qu'ayant une température optimale de croissance située entre 30 et 35 °C (mésophile), elles sont capables de se développer à des températures entre 4 et 42 °C en ralentissant leur métabolisme. Leur croissance n'est donc pas totalement entravée par les locaux réfrigérés et les incubateurs [29].



**Figure 09.** Représentation schématique de *Pseudomonas* [11].

### 2-2-2- Habitat

Ces bactéries, largement répandues dans l'environnement, vivent dans le sol et l'eau. Elles se retrouvent sur les plantes, dans les matières organiques non vivantes (denrées alimentaires), entraînant, parfois, leur altération organoleptique .

Elles occupent des niches écologiques variées, mais se retrouvent plus particulièrement dans les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer, les eaux thermales. Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux riches en matières organiques (en particulier les eaux stagnantes), elles se développent sur tous les milieux usuels, même les plus simples. Elles sont alcalinophiles [29].

### 2-2-3- Classification

Règne : Bacteria.

Division : Proteobacteria.

Classe : Gammaproteobacteria.

Ordre : Pseudomonadales.

Famille : Pseudomonadaceae. [12].

### 2-2-4- Caractéristique

- ce sont des bactéries bâtonnet droite [11].
- Un ou deux flagelle, conditionné mobilité [29].
- Peu exigeantes, cultivant à 30 °C [29].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

- Résistance de l'antibiotique [29].
- dépourvus de spores et de capsules [29].
- Aérobie obligatoire, Fluorescent, Gram-négative, mobiles et a sporulées [29].
- Elles ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe oxydatif [30].
- La taille 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long [29].
- leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable [31].
- De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques [32].

### 2-2-5- Quelques Espèces appartenant au genre *Pseudomonas*

*Pseudomonas asplenii*, *Pseudomonas aurantiaca*, *Pseudomonas avellanae*, *Pseudomonas azotifigens*, *Pseudomonas azotoformans*, *Pseudomonas balearica*, *Pseudomonas beijerinckii*, *Pseudomonas beteli*, *Pseudomonas boreopolis*[29].

### 2-3- Les rhizobia

#### 2-3-1- Définition

Les rhizobia sont des bactéries du sol, appartenant aux genres *rhizobium*, *bradyrhizobium*, *sinorrhizobium*, *allorhizobium*, *mesorrhizobium*, *Azorhizobium*, sont communément connues pour leur importance environnementale et agricole et surtout leur effective implication l'azote atmosphérique [33]. *Rhizobium* SS. Peut vivre librement ou en association symbiotique fixatrice d'azote avec des plantes légumineuses [16].

#### 2-3-2- Habitat

L'habitat naturel de *rhizobium* s'est étendu aux tissus racinaires des plantes non légumineuses et notamment des graminées. Ainsi, plusieurs souches rhizobiales appartenant à ces différents genres, ont été isolées des racines de différentes plantes telles le maïs et la salade [34].

#### 2-3-3- Caractéristique

- Sont des bactéries : aérobies, Gram négatif, Mobiles [35].
- Produisent de grandes quantités de dépôts visqueux extracellulaires [36].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

- Métabolisent le glucose par la voie d'Enter –Doudoroff [36].
- Fixent  $N_2$  en condition microaérophiles [36].
- Certaines espèces croissent comme des chimioautotrophes pour  $H_2$  [36].
- Induisent la formation de nodosités racinaires avec les plantes légumineuses [33].
- Capable de se développer en milieu libre sur substrats organiques mais sans assimiler  $N_2$  [34].
- Non sporulant [33].
- Les nodules ne sont pas toujours portés par les racines [34].

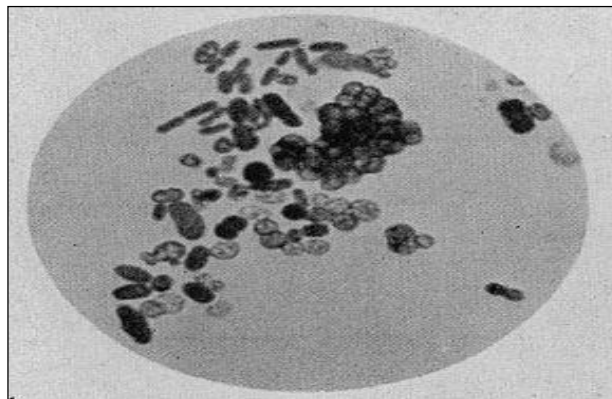
### 2-4- Azotobacter

#### 2-4-1-Définition

Est un genre de bactéries appartenant à la classe des *Gammaproteobacteria*. Les cellules sont ovoïdes et relativement larges (2 à 4  $\mu m$ , jusqu'à 6  $\mu m$ ). Ces bactéries sont des aérobies stricts, hétérotrophes et présentent la capacité de fixer l'azote atmosphérique. En l'absence de nourriture, la cellule peut s'entourer d'une enveloppe épaisse résistant à la sécheresse : cyste ou kyste. Ceux-ci sont remplis de poly- $\beta$ -hydroxybutyrates (PHB) qui sont utilisés par les bactéries en cas de stress environnementaux comme source de stockage d'énergie [37].

#### 2-4-2-Habitat

Les Azotobacter peuvent être isolés du sol et de l'eau. Dans le sol, ces bactéries sont présentes en quantité importante au niveau de la rhizosphère, à proximité des racines des plantes [37].



**Figure 10.** Représentation schématique de l'azotobacter [22].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

### 2-5- Bacillus

#### 2-5-1- Définition

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (*Bacillaceae*), l'ordre des bacillales (*Bacillales*), la classe des bacilles (*Bacillus*), le phylum des firmicutes (*Firmicutes*), de forme bacilles, les dimensions de ces bactéries sont variables ; elles peuvent aller de  $(0.5 \times 1.2 \mu\text{m})$  à  $(2.5 \times 10 \mu\text{m})$ . Elles sont aérobies ou aéro-anaérobies facultatives, et tirent leur énergie par respiration ou fermentation. Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. Celles-ci donneront naissance à de nouvelles bactéries en cas de conditions favorables [38].

Les *Bacillus* sont hétérotrophes, saprophytes et ubiquitaires. Elles sont fréquemment retrouvées dans le sol où certaines espèces ont un rôle dans le cycle du carbone et de l'azote. On peut trouver des *Bacillus* dans des denrées alimentaires [38].



**Figure 11.** Représentation schématique du genre *Bacillus* [14].

#### 2-5-2-Habitat

Les *Bacillus* sont des germes de l'environnement dont l'habitat principal est le sol où ils joueraient un rôle dans les cycles du carbone et de l'azote. Les diverses espèces peuvent occuper des niches écologiques très variées (l'eau de mer, l'eau douce et les plantes), certaines espèces sont psychrophiles (croissance à  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) d'autres thermophiles (croissance à  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), d'autres acidophiles (pH 2) et d'autres alcalinophiles (pH 10) [39].



## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

### 2-5-3- Caractéristiques

- Les espèces du genre *Bacillus* sont des bacilles rectilignes, à extrémités carrées ou arrondies, de taille variable (de 0,5 x 1,2 µm jusqu'à 2,5 x 10 µm) [39].
- sporulés, à Gram positif, généralement mobiles, mais la mobilité est variable selon les souches, capsulés et aérobie [39].
- La plupart des espèces donne des colonies d'un diamètre variable selon la quantité de nutriments disponibles [39].
- Certaines espèces produisent des pigments lorsqu'elles sont cultivées sur des milieux particuliers (pigment rouge pour *Bacillus cereus*, pigment jaune pour *Bacillus fastidiosus*, rose pour *Bacillus sphaericus*, jaune, orange, brun ou rose pour *Bacillus subtilis*, ...) [38].
- Bactéries petites taille, Aérobie obligatoire, Forment des endospore, Producteur de granmicidine [39].
- Production de divers antibiotiques et enzymes hydrolytiques [40].
- Protection contre les champignons et les bactéries pathogènes [40].

### 2-5-4- Classification

La classification la plus utilisée se fonde sur la forme de la spore et distingue 3 groupes :

- *Bacillus* à spore ovale non déformante
- *Bacillus* à spore ovale déformante
- *Bacillus* à spore ronde déformante [39].

## 3- Les différents facteurs influence dans la croissance des plantes

### 3-1- Les hormones végétales

#### 3-1-1- Définition

Les hormones végétales (ou phytohormones) sont des substances de croissance circulant à l'intérieur de la plante et agissant à très faibles doses sur de nombreuses fonctions : dormance, germination, croissance, floraison, fructification [41]. La plupart des phytohormones sont dans les cellules, sous formes libres en équilibre avec des formes conjuguées [38].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

### 3-1- 2- Les principaux groupes d'hormones

#### 3-1-2-1- L'auxine

##### A- Définition

L'auxine a été la première hormone végétale identifiée, dans les années 1920 [42]. Elle est synthétisée au niveau des bourgeons apicaux, puis transportée par les tissus vivants jusqu'aux racines où elle s'accumule. Elle agit sur l'élongation des cellules, stimule les mitoses des méristèmes secondaires et le développement du péricarpe des fruits. En agriculture, les auxines de synthèse (AIA, AIB, ANA, 2,4-D) sont utilisées principalement comme désherbants et comme hormones de bouturage [42].

##### B- Rôle

- Favorise la croissance (élongation des cellules) [42].
- Inhibe la croissance des bourgeons latéraux (dormance apicale) [42].
- Empêche la chute des feuilles et des fruits [42].
- Peut contrôler l'abscission des fruits [36].
- Élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants [43].
- Développement des tiges et des racines : croissance des bourgeons auxiliaires [36].
- Développement des fleurs et des fruits [36].

#### 3-1-2-2- Les gibbérellines

##### A- Définition

Sont produites à la fois par les champignons et les plantes supérieures, le seul groupe d'hormone végétale qui peut être caractérisées par leur structure chimique plutôt que par leur activité biologique. Les gibbérellines appartiennent à une grande famille chimique dont la structure de base est l'entkaurène. Elles stimulent l'allongement des tiges, la croissance des feuilles et des fruits, et lèvent la dormance des semences et des bourgeons [42]. Les gibbérellines présentent des formes conjuguées (souvent avec du glucose), qui constituent des réserves temporaires constatées dans différents organes : graines de Haricot, de Tomate, de Céréale [41].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

Les gibbérellines artificielles sont utilisées pour obtenir des fruits sans fécondation, pour provoquer l'induction florale ou encore pour lever la dormance de certaines graines. Des inhibiteurs de gibbérellines (antigibbérellines) sont utilisés pour réduire l'allongement des cellules et donc la vitesse de croissance [42].

### **B- Rôle**

- favorisent la croissance (élongation des cellules et stimulation des divisions cellulaires) [42].
- lèvent la dormance des bourgeons et des graines [42].

### **3-1-2-3- Les cytokinines**

#### **A- Définition**

Sont des composés relativement simples qui agissent comme des facteurs de croissance [35]. Et produites principalement dans les racines puis transportées dans l'ensemble de la plante. Elles sont présentes sur les sites d'action de L'AIA, et peuvent interagir avec cette dernière, et aussi sont souvent synthétisées sur place [44].

La première cytokinine naturelle a été extraite en 1964 des semences de maïs [41]. Les cytokinines sont produites principalement par les racines. Elles agissent fréquemment en association avec d'autres hormones, en particulier l'auxine. Elles stimulent la division cellulaires et la synthèse de protéines. Le rôle des cytokinines sur la croissance des fruits a été démontré chez certaines espèces (bananes, tomates, pommes). En culture in vitro, les cytokinines sont utilisées pour stimuler le bourgeonnement [42].

#### **B- Rôle**

- favorisent la croissance (stimulation des divisions cellulaires) [42].
- lèvent la dormance apicale [42].
- Mobilisation des nutriments et sénescence : Lorsqu'une feuille adulte est détachée de la plante elle subit un processus nommé sénescence. la sénescence se caractérise par une dégradation des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules. la sénescence est la conséquence normale du vieillissement et se produira malgré le maintien d'un apport d'eau et de sels minéraux [36].
- Contrôler la prolifération des cellules végétales [35].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

### 3-1-2-4- L'acide abscissique

#### A- Définition

Inhibe de nombreux phénomènes de croissance et de développement, et prolonge la dormance des bourgeons et des graines. Cette hormone, appelée parfois hormone de détresse ou de stress, entre en action chaque fois que les conditions environnementales du végétal lui sont défavorables (froid, blessure) en contrôlant l'ouverture et la fermeture des stomates [42].

#### B- Rôle

- ralentit la croissance (action antagoniste des trois précédentes) [42].
- maintient la dormance de bourgeons et des graines [42].
- stimule également l'accumulation de protéines au cours des derniers stades de développement de l'embryon [36].
- c'est un moyen de régulation de l'équilibre hydrique de la plante, puisque la concentration d'ABA est habituellement très faible dans des plantes bien hydratées [36].
- régule de la germination des graines [36].

### 3-1-2-5- L'éthylène

#### A- Définition

C'est un hydrocarbure gazeux simple dont la formule chimique est  $H_2C=CH_2$ . [43]. sont produit en quantité importante par les fleurs à la floraison et par les fruits lors du mûrissement. Il provoque la chute des feuilles et des fruits et active en générale leur maturation. L'application d'éthéphon a des effets très divers (nanification, induction florale) [42].

L'action de l'éthylène est inhibée par les sels d'argent. Cette action est spécifique, persistante et non toxique. Ainsi un traitement par le thiosulfate d'argent ( $AgS_2O_3$ ) .augmente considérablement la durée de vie des fleurs coupées [41].

L'effet physiologique de L'éthylène sont obtenus pour des concentrations dans l'air allant de  $0.01$  à  $10\mu l l^{-1}$  .Ils concernent de nombreux phénomènes [41].

La production d'éthylène est facile à déceler puisque ce gaz est émis hors des tissus [41].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

### B- Rôle

- Accélère la maturation des fruits [42].
- Provoque la chute des feuilles et des fruits [42].
- Développement végétatif : Il a été montré que l'éthylène stimulait l'allongement des tiges, des pétioles, des racines et des structures florales des plantes aquatique ou semi- aquatique [36].

### 3-2- Production des sidérophores

Le mot sidérophores, issu du grec, signifie sidêros fer et phore :porteur.») sont des chélateurs de fer synthétisés et sécrétés notamment par les micro-organismes pour leur permettre de puiser le fer essentiel à leur développement .L'utilisation des sidérophores représente chez les bactéries l'un des systèmes les plus efficaces pour l'acquisition du fer [45].

Les sidérophores sont des petites molécules capables de chélater le métal avec une très haute affinité [35]. et aussi sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, compris entre 200 et 2000 daltons, dont le rôle set de solubiliser, de chélater et d'extraire le fer ferrique de nombreux complexes minéraux ou organiques et de le rendre ainsi accessible aux microorganismes [45].

#### 3-2-1- Caractéristiques des sidérophores

La caractéristique majeure des sidérophores est leur très haute affinité pour les ions ferriques. En effet, l'entérobactine a une constante d'affinité de  $10^{-49}$  M. Cette chélation se fait par des hétéroatomes oxygénés et azotés, hautement électronégatifs, susceptibles d'entrer en interaction avec des ions métalliques [46].

Les sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation d'ions ferriques par des microorganismes aérobies, tels que les bactéries, certains champignons mais aussi organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) en réponse à des conditions de carence en fer [47].

Les quelques exceptions sont les bactéries anaérobies et quelques levures comme *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, et *Cryptococcus neoformans* . Toutefois, ces levures peuvent utiliser les sidérophores produits par d'autres organismes [45].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

Les sidérophores sont très importants pour la croissance et la survie des bactéries dans le sol et les environnements aqueux. Dans la rhizosphère, la concentration des sidérophores est estimée de quelques micromolaires à quelques milli molaires. Les sidérophores sont aussi importants pour la virulence de nombreux pathogènes dans les modèles animaux des maladies [47].

Ils servent de molécules signal contrôlant l'expression pour la production du sidérophores lui-même, mais aussi pour la production d'autres facteurs de virulence [48].

Après sécrétion par la bactérie, les sidérophores chélatent avec une haute affinité le fer dans l'environnement extracellulaire, et le transportent via des voies d'assimilation spécifiques [49].

### 3-2-2- Rôle des sidérophores

Le rôle des sidérophores bactériens dans la rhizosphère des plantes poussant sur des sols métallifères n'a pas été clairement élucidé :

- La production de sidérophores joue un rôle important dans la régulation des interactions entre microorganismes au sein des communautés microbiennes de la rhizosphère, avec des retombées sur la santé des plantes [50].
- Les sidérophores, essentiellement présents dans la rhizosphère, n'augmentent pas seulement la solubilité du  $Fe_3$  en le désorbant des phases solides mais également celle d'ions métalliques divalents [51].

Par ailleurs, la présence de métaux dans le sol stimule en retour la production des sidérophores.

Il a été prouvé que les sidérophores bactériens pouvaient être utilisés par les plantes le concombre (*Cucumbers sativa*) peut utiliser la FOB (ferroxiamine B), un sidérophore de type hydroxamate, pour restaurer sa synthèse chlorophyllienne dans un milieu carencé en Fe, ce qui a pour conséquence de stimuler la production de biomasse. Le complexe Fe-FOB est utilisé préférentiellement au Fe-EDTA ou aux phytosidérophores et est rapidement transloqué vers les zones à croissance rapide carencées en Fe [52].

Des conclusions identiques ont été présentées par Cline et al. (1984) lors d'une étude sur le prélèvement d'hydroxamates par le tournesol et le sorgho. De même, des sidérophores

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

produits par des *Pseudomonas* fluorescents peuvent être impliqués dans le prélèvement de Fe par les tomates, les œillets, l'avoine, la vigne et le maïs et enfin l'arachide, accompagné d'une disparition du phénomène de chlorose [53].

Relativement peu d'études se sont intéressées à l'augmentation du prélèvement de métaux en inoculant le sol avec des microorganismes producteurs de sidérophores. Dubbin et Ander (2003) ont émis l'hypothèse que les sidérophores de type FOB, largement répandus dans le sol pouvaient jouer un rôle dans l'accumulation de Pb par les plantes. Une autre étude a montré qu'un inoculum mixte de bactéries, inoculées dans un substrat artificiel à base de sable a permis de multiplier par 2 à la fois le prélèvement de Zn par *T. Caerulescens* et la biomasse végétale. Une des hypothèses émises par les auteurs est que cette augmentation est due à la production de substances chélatantes métallophores, de type sidérophore par *Pseudomonas* et *Entérobactérie* [55].

### 3-3- Solubilisation des phosphates

Le phosphore joue un rôle essentiel dans le transfert de l'énergie nécessaire à la croissance et à l'amélioration de la productivité des plantes. C'est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Sa concentration dans les sols, varie de 200 à 5000 ppm soit 0,02 à 0,5% [56].

L'enrichissement du sol en P, suite à des applications de fertilisants, dépend des caractéristiques physicochimiques de ce sol. Dans les sols acides, les oxydes libres et les hydroxydes d'aluminium et de fer fixent le phosphate, tandis que dans les sols alcalins, il est fixé par le calcium, ce qui rend le fertilisant peu efficace.

Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des micro-organismes du sol. Plusieurs rhizobactéries promotrices de la croissance telles que les rhizobia, les *Pseudomonas* et les *Bacillus*, ont été décrites comme étant des bactéries solubilisatrices du phosphate (PSB) [57].

Cependant, de nombreux micro-organismes libèrent dans leurs milieux des acides organiques en l'occurrence l'acide lactique, gluconique, isovalérique, isobutyrique, acétique, glycolique, oxalique, malonique et succinique [58].

## Chapitre II : Les rhizobactéries

---

La production des acides organiques est considérée mécanisme pour la solubilisation du phosphate par les bactéries. Les effets bénéfiques de l'inoculation des cultures avec des microorganismes solubilisant le phosphate, ont été décrits par plusieurs auteurs.

Plusieurs publications ont rapporté que les souches de *Rhizo Bradyrhizobium* solubilisant le phosphate, améliorent considérablement la croissance et la teneur en phosphore des plantes aussi bien chez les légumineuses que chez les non légumineuses [59].

Certaines rhizobactéries solubilisatrices de phosphore peuvent augmenter la concentration en Ni dans les feuilles d'*Alyssum murale* jusqu'à 32%. De même, les bactéries solubilisatrices de K et P (du genre *Bacillus*) permettent d'augmenter la résistance de *Brassica juncea* à Pb et Zn, bien que leur prélèvement par la plante ne soit pas accru [60].

Ainsi, et comme approche alternative pour améliorer la nutrition phosphatée des plantes, suggèrent l'utilisation des bactéries solubilisatrices de phosphates en tant qu'inoculum microbien seul ou en Co-inoculation avec d'autres micro-organismes sélectionnés pour d'autres fonctions bénéfiques [57].

### 3-4- Fixation d'azote

Certaines bactéries, c'est-à-dire capable de réduire l'azote moléculaire (diazote,  $N_2$ ) avec une efficacité plus ou moins grande, peuvent établir une symbiose avec certaines végétaux et leur conférer ainsi un avantage important pour la nutrition azotée.

La plante fournit les assimilats carbonés aux bactéries, et les bactéries fournissent l'azote à la plante. Ces bactéries convertissent l'azote moléculaire en ammoniacque ( $NH_3$ ) grâce à une enzyme, la nitrogénase. La nitrogénase est un complexe enzymatique formé de deux métalloprotéines : la dinitrogénase réductase, homodimère de deux chaînes identiques (32KDa), contenant un centre 4Fe-4S, et la dinitrogénase, hétérotétramère constitué de deux chaînes  $\alpha$  (59KDa) et B (54KDa), de 4 centre 4Fe- 4S et de deux cofacteurs contenant du fer, du soufre et du molybdène (FeMo-Co), impliqués dans le processus de réduction du diazote [22].



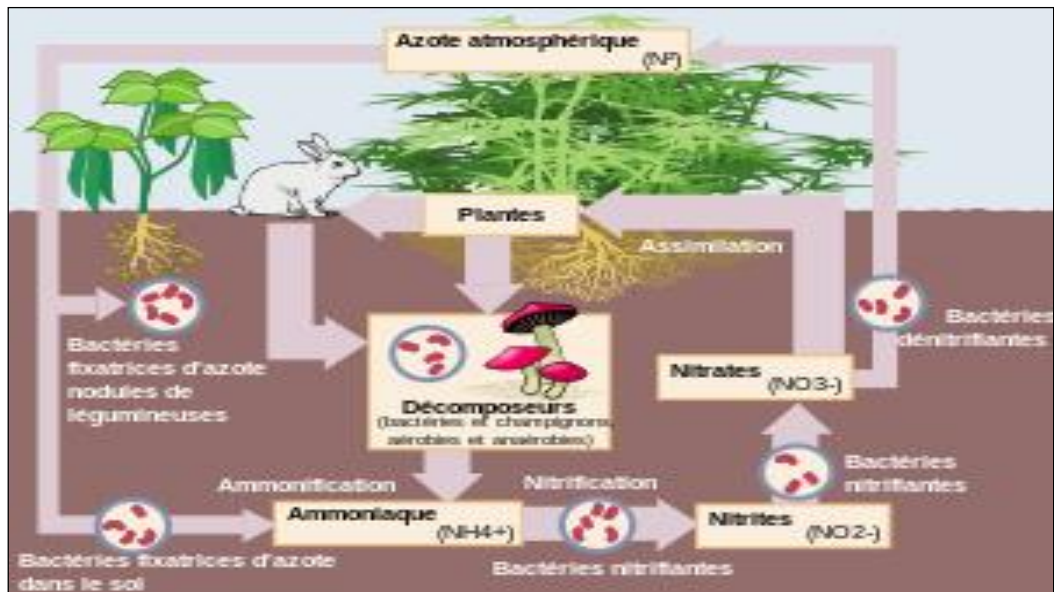


Figure 12. Cycle de l'azote dans le sol [6].

# Matériel et méthodes

---

Ce travail de recherche, rentrant dans le cadre d'un projet de fin d'étude, a été réalisé pendant une période de quatre mois. Il est basé principalement sur un screening à partir de 60 isolats rhizosphériques dans le but de sélectionner des bactéries promotrices de croissance de plantes. Le travail est subdivisé principalement en parties: l'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique, contre quelques champignons : *Fusarium oxysporum*, et *Fusarium solani* et *Aspergillus niger* par l'utilisation de la technique des cylindres d'agar, la capacité des souches de solubiliser le phosphate inorganique sur un milieu solide, et la quantification de la production de AIA.

## 1- Matériel biologique et produits chimiques

Notre étude a porté sur des isolats rhizosphériques non-identifiées isolées à partir de rhizosphère des tomates, par les méthodes du microbiologique classique on utilisant le milieu B de King. Les souches sont fournies par le laboratoire de Génie microbiologique et ses applications de l'université de Constantine, alors que le travail est réalisé dans les laboratoires de microbiologies de l'université 8 Mai 1945, Guelma.

## 2-Méthodologie

### 2-1- Solubilisation de phosphate

La capacité des souches isolées à dissoudre le phosphate tricalcique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  a été testé selon la méthode de Pikovskaya [64]. Les bactéries isolées sont ensemencées par spots sur le milieu de culture de Pikovskaya (Annexe 2) contenant le phosphate tricalcique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphore. Les boîtes sont incubées à 30°C. La lecture des résultats est faite après 7 jours par mesure du diamètre de solubilisation (halo + colonie) et celui de la colonie bactérienne. Pour évaluer les résultats, l'indice de solubilisation est calculé par la formule suivante :  $\text{SI} = (\text{DC} + \text{DH}) / \text{DC}$ .

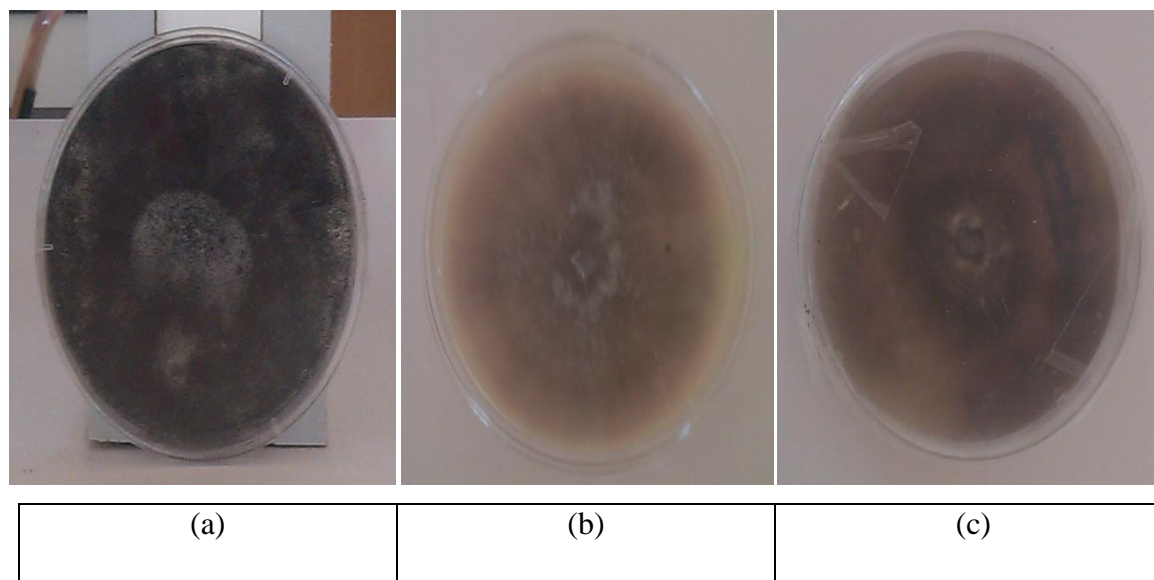
### 2-2- Inhibition des phytopathogènes

Ce test est effectué pour vérifier l'existence d'une éventuelle action inhibitrice des isolats rhizosphériques vis-à-vis des agents phytopathogènes: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus niger*.

## Matériel et méthodes

---

La culture *in vitro* des différents champignons est réalisée sur milieu PDA (annexe 2) La croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores sont maximales après 5 à 7 jours à 30 °C (figure 13) [62].



**Figure 13.** Culture des champignons phytopathogènes sur milieu PDA (a: *Aspergillus niger*, b: *Fusarium oxysporum*, c: *Fusarium solani*)

Pour la réalisation de ce test, un cylindre de 8 mm de diamètre de chaque champignon est prélevé avec un embout stérile et placé au centre de boîte de Pétri contenant le milieu PDA, ensuite, à une distance de 3 cm de cylindre de champignon une culture des isolats bactériennes est ensemencée par spot sur les cinq coins de la boîte de Pétri. Les boîtes ne contenant que le disque de champignon sont utilisées comme témoin. Toutes les boîtes sont incubées à 30°C pendant 3 jours.

L'axe de croissance des colonies mycéliennes des champignons pathogènes en présence des isolats rhizosphériques est mesuré pour chaque isolat et ensuite comparé avec la boîte témoin [63].

La lecture des résultats est réalisée par mesure de l'axe de croissance de champignons, les résultats sont exprimés selon la formule suivante:  $I = [(C-T)/C] * 100$

**I :** Pourcentage d'inhibition

**C :** axe de croissance de champignon dans la boîte témoin.

**T :** axe de croissance de champignon dans la boîte test.

## Matériel et méthodes

---

### 2-3- Production et dosage d'auxines

Dans ce cas l'auxine quantifiée est principalement (AIA), la quantité de l'AIA est évaluée par une méthode colorimétrique [65]. Où la culture des isolats est réalisée dans le bouillon LB (annexe 2) en présence de tryptophane.

#### 2-3-1-Préparation de la solution de tryptophane

Le tryptophane est un acide aminé sensible à la chaleur, de ce fait, la stérilisation est réalisée par filtration, dans notre cas « des filtres à seringue ». Le tryptophane est dissocié dans le bouillon de fermentation pour former une solution mère de 500 µg/ml. Cette solution est filtrée à travers des filtres à seringue de 0,2 µm de porosité. Cette solution est conservée dans un flacon ambrée à 4°C jusqu'à l'utilisation pour une durée maximale de 15 jours.

#### 2-3-2- Fermentation et production de l'indole -3-acide acétique

Le dosage de l'auxine est réalisé par l'ajout de 1ml de solution de tryptophane à 4ml de milieu LB, chaque tube est ensuite inoculé avec 20 µl d'une suspension bactérienne de 24h. Après inoculation et homogénéisation, les tubes sont incubés dans l'étuve à 30°C pendant 72h.

Après incubation, le contenu de chaque tube est centrifugé à 3700 g pendant 15 min. ensuite le surnageant de chaque tube est récupéré. Pour le dosage de l'AIA 1ml de surnageant est mélangé avec 2ml de réactif de Salkowski (annexe 2). Les tubes sont incubés pendant 1h à l'obscurité à une température ambiante. L'absorbance est mesuré à 530 nm.

Les concentrations de l'AIA sont déduites à partir d'un courbe étalonnage préparé par l'AIA standard (annexe 3) [65].

### 2-4- Identification biochimique des souches

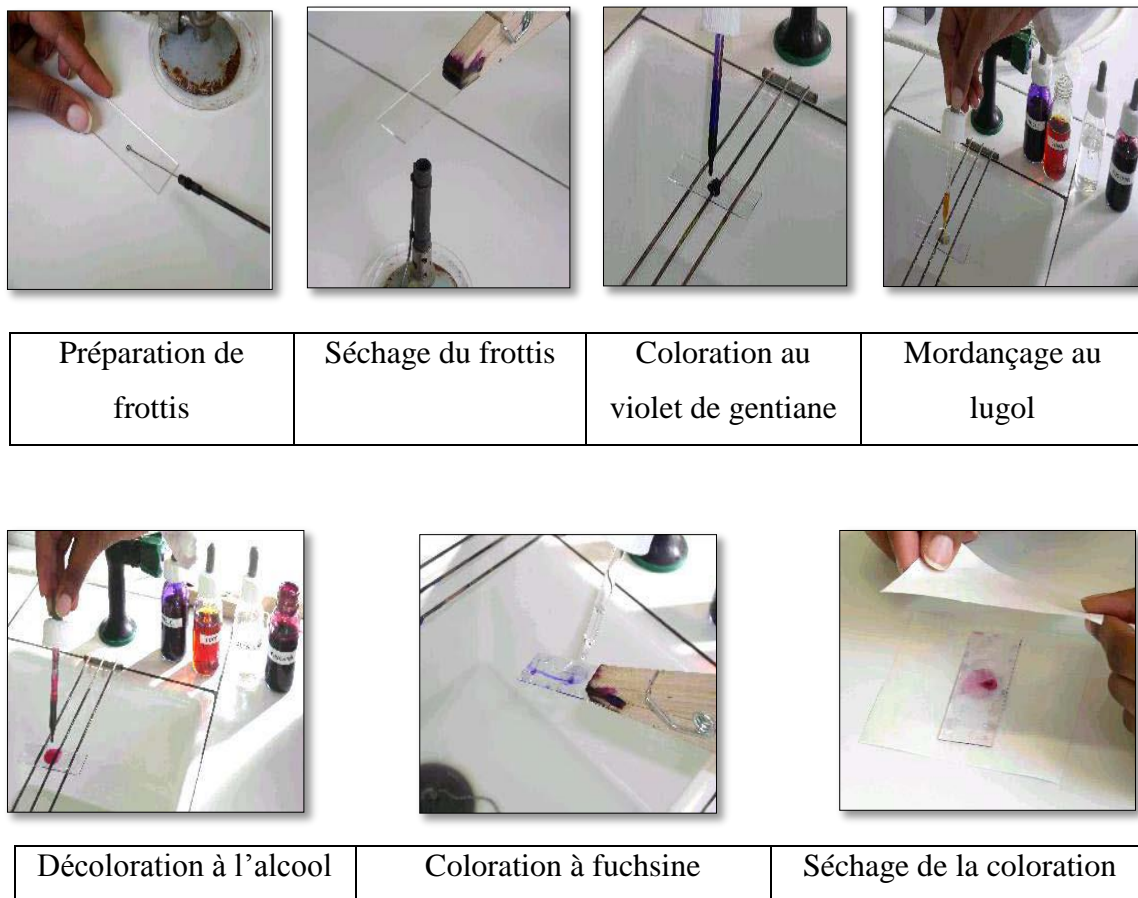
La caractérisation de quelques souches isolées est déterminée par l'observation microscopique (coloration de Gram, forme, mode de groupement) ensuite les tests biochimiques réalisés sont : test de l'oxydase, test de la catalase, et l'identification phénotypique par la galerie API 20ne.

## Matériel et méthodes

### 2-4-1- Coloration de Gram

La coloration de Gram c'est une technique traditionnelle utilisée au cours de l'identification des souches pour distinguer les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.

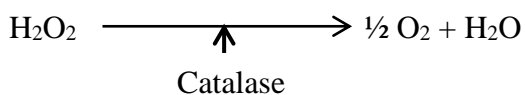
C'est la coloration qui se base sur l'affinité des souches fixées en colorants (violet de gentiane et fuchine) selon la nature de leur paroi, dont le résultat final est des cellules colorées en rose (bactéries à Gram négatif) et d'autres colorées en violet (bactéries à Gram positif) [62].



**Figure 14.** Les étapes de la coloration de Gram

### 2-4-2- Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) formé comme sous-produit de processus métaboliques. Elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui se dégage selon:

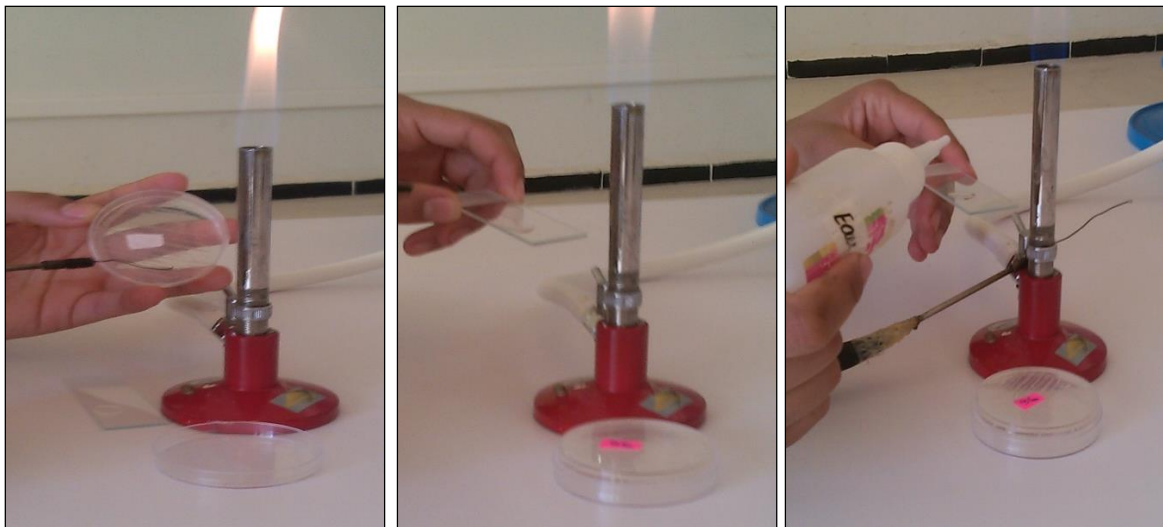


## Matériel et méthodes

---

Pour mettre en évidence cette enzyme une colonie est prélevée à partir de la boîte de Pétri et déposée au centre d'une lame propre, ensuite quelques gouttes de  $H_2O_2$  sont ajoutées sur cette colonie.

Après quelques secondes le dégagement des bulles de gaz indique la présence de la catalase et qu'il y a eu destruction du peroxyde d'hydrogène et libération d'oxygène, alors que l'absence des bulles indique l'absence de l'enzyme [63].



**Figure 15.** Les étapes de réalisation du test de catalase

### 2-4-3- Test d'oxydase

L'oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo- réduction impliquant une molécule d' $O_2$  comme accepteur d'électron. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau ou en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.

Cette recherche consiste à utiliser des disques (OX) commercialisés par l'institut Pasteur. Une fois déposée une colonie sur le disque, une couleur violette est apparait avec les bactéries qui possèdent cette enzyme [63].



**Figure 16.** Réalisation du test de l'oxydase

### 2-4-4- La galerie API 20NE

La galerie API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles Gram négatifs et non entérobactéries et non fastidieux. (EXP ; *Pseudomonas*, *Actinobacter*).

Cette galerie comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydrate. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui constitue les milieux. L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

#### 2-4-4-1- Préparation de la galerie

- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation.

#### 2-4-4-2- Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture jeune (18-24h), on réalise une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- Mettre 0.2 ml de suspension bactérienne à l'aide d'une pipette dans l'API medium.

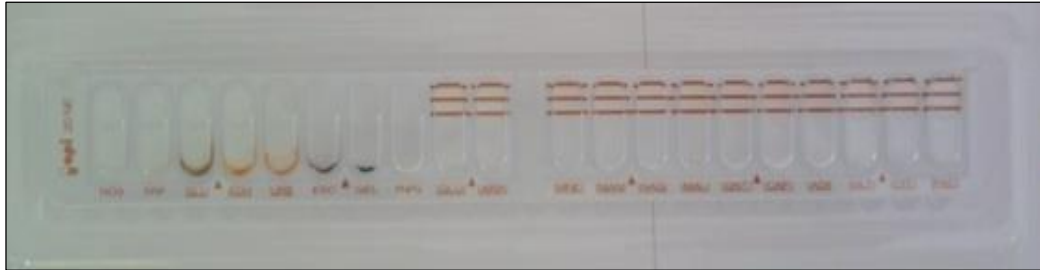
#### 2-4-4-3- Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests : NO<sub>3</sub> à PNPG.
- Les tests GLU, ADH, URE, vont être complétés avec l'huile de vaseline.
- Remplir les tubes et les cupules des tests de : /GLU/, à/PAC/.

## Matériel et méthodes

---

- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37°C pendant 24 heures.  
Après l'incubation, on réalise le test NO<sub>3</sub> et le test TRP:
- Dans la cupule NO<sub>3</sub> des gouttes de réactifs Nit 1 et Nit 2 sont ajoutées, après 5 minutes on ajoute Zn pour 5 minutes.
- Dans la cupule de TRP on ajoute des gouttes de réactifs de Kovacs [66].



**Figure 17.** Présentation de l'API 20 NE

### 2-5-Analyse statistique

Pour certains tests, une analyse de la variance à un seul facteur est réalisée en utilisant XLstat-Pro.7.1.



## **Table de matières**

- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Liste des abréviations

## **Introduction .....1**

## **Chapitre I : La rhizosphère**

1- La rhizosphère.....	2
1-1- Définition de rhizosphère.....	2
1-2- Le role de la rhizosphère.....	3
1-3- Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère.....	4
1-4- Rhizodéposition.....	5
1-4-1- La rhizodéposition.....	5
1-4-2- Les exsudats.....	5
2- La flore de la rhizosphère.....	5
2-1- Définition.....	5
2-2- Les types de la flore.....	6
2-2-1- Les algues.....	6
2-2-2- Les actinomycètes.....	6
2-2-3- Les protozoaires.....	6
2-2-4- La flore de décomposition.....	6
2-2-5- La flore de minéralisation.....	7
2-2-6- Les bactéries fixatrices l'azote atmosphérique.....	7
2-3- Les facteurs favorisant la flore de rhizosphère.....	8
3- La faune du sol.....	8
3-1- Définition.....	8
3-2- Rôle généraux de la faune.....	10
3-2-1- Rôle physique.....	10
3-2-2- Rôle chimique.....	10
3-2-3- Rôle biologique.....	10
4- Les différentes interactions dans la rhizosphère.....	11

4-1- Interaction microorganismes – microorganismes.....	11
4-1-1- Mutualisme.....	11
4-1-2- Compétition.....	11
4-1-3- Commensalisme.....	11
4-1-4- Parasitisme.....	11
4-1-5- Antagonisme.....	11
4-1-6- Symbiose.....	12
4-2- Interaction microorganisme – plante.....	12
4-2-1- Induction de la croissance des plantes.....	12
4-3- Interaction champignons – plantes.....	13
4-3-1- Archimycètes.....	13
4-3-2- Phycomycètes.....	13
4-3-3- Ascomycètes.....	13
4-3-4- Basidiomycètes.....	14
4-3-5- Mycorhize.....	14

## **Chapitre II : Les Rhizobactéries**

1- Bactéries promotrices de croissance des plantes.....	17
2- Les grand types de PGPR.....	18
2-1- Les actinomycètes.....	18
2-1-1- Définition.....	18
2-1-2- Propriétés générales des actinomycètes.....	18
2-2- Pseudomonas.....	20
2-2-1- Définition.....	20
2-2-2- Habitat.....	21
2-2-3- Classification.....	21
2-2-4- Caractéristique.....	21
2-2-5- Quelques Espèces appartenant au genre Pseudomonas.....	22
2-3- Les rhizobia.....	22
2-3-1- Définition.....	22
2-3-2- Habitat.....	22
2-3-3- Caractéristique.....	22
2-4- Azotobacter.....	23

2-4-1- Définition.....	23
2-4-2- Habitat.....	23
2-5- Bacillus.....	24
2-5-1- Définition.....	24
2-5-2- Habitat.....	24
2-5-3- Caractéristique.....	25
2-5-4- Classification.....	25
3- Les différents facteurs influences dans la croissance des plantes.....	25
3-1- Les hormones végétales.....	25
3-1-1- Définition.....	25
3-1-2- Les principaux groupes d'hormones.....	26
3-1-2-1- L'auxine.....	26
3-1-2-2- Les gibbérellines.....	26
3-1-2-3- Les cytokinines.....	27
3-1-2-4- L'acide abscissique.....	28
3-1-2-5- L'éthylène.....	28
3-2- Production des sidérophores.....	29
3-2-1- Caractéristiques des sidérophores.....	29
3-2-2- Le rôle des sidérophores.....	30
3-3- Solubilisation de phosphate.....	31
3-4- Fixation d'azote.....	32

## **Matériel et méthodes**

1- Matériel biologique et produits chimiques.....	34
2- Méthodologie.....	34
2-1- Solubilisation de phosphate.....	34
2-2- Inhibition des phytopathogènes.....	34
2-3- Production et dosage d'auxines.....	36
2-3-1- Préparation de solution de tryptophane.....	36
2-3-2- Fermentation et production de l'indole -3- acide acétique.....	36
2-4- Identification des souches.....	36
2-4-1- Coloration de Gram.....	37
2-4-2- Test de catalase.....	38

2-4-3- Test d'oxydase.....	38
2-4-4- La galerie API 20NE.....	39
2-5- Analyse statistique.....	40

## **Résultat et discussions**

1- Solubilisation de phosphate.....	41
2- Inhibition de phytopathogènes.....	43
3- Production des auxines.....	46
4- Identification des souches.....	47
4-1- Production de la catalase.....	47
4-2- Coloration de Gram.....	47
4-3- Recherche d'oxydase.....	48
4-4- Identification phénotypique par la galerie API 20NE.....	48

<b>Conclusion.....</b>	<b>50</b>
------------------------	-----------

<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>51</b>
---	-----------

**Annexes**

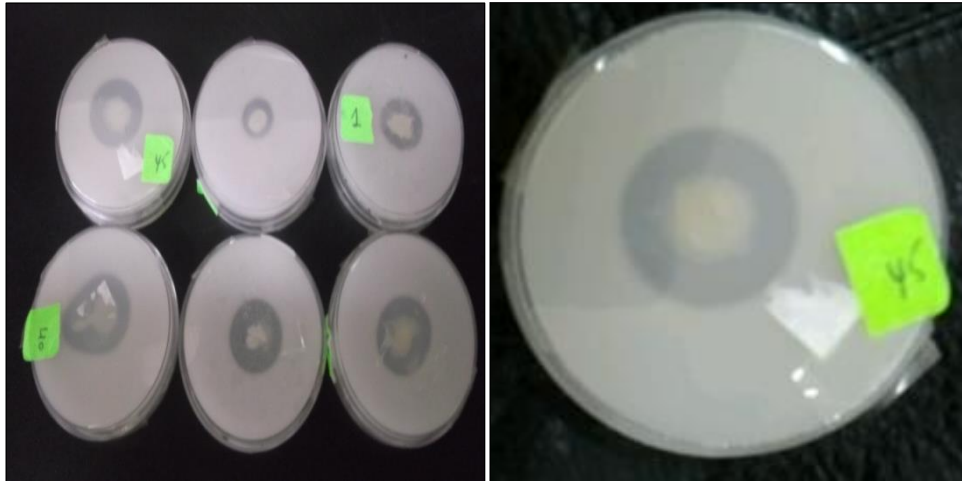
**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

### 1-Solubilisation de phosphate

La solubilisation de phosphate est exprimée par un halo clair autour des colonies après croissance (figure 18).



**Figure 18.** La solubilisation de phosphate par quelques souches étudiées.

Parmi les 60 isolats testées, 18 ont donnée une solubilisation de phosphates inorganique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), soit un pourcentage de 30%. Les résultats du test de solubilisation de phosphate de ces isolats sont représentés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Solubilisation du phosphate par les isolats rhizosphériques sur le milieu solide Pikovskaya.

isolats	Diamètre de colonie (mm)	Diamètre de l'halo (mm)	SI
Isolat 1	10	18	2,8
Isolat 7	11	21	2,90
Isolat 16	4	10	3,5
Isolat 19	9	13	2,44
Isolat 21	5	10	3
Isolat 23	7	20	3,8
Isolat 30	9	12	2,33
Isolat 31	9	21	3,33

## Résultats et discussion

---

(Suite) **Tableau 2.** Solubilisation du phosphate par les isolats rhizosphériques sur le milieu solide Pikovskaya.

Souche	Diamètre de colonie (mm)	Diamètre de l'halo (mm)	SI
Isolat 32	7	13	2,85
Isolat 38	9	17	2,88
Isolat 40	10	28	3,8
Isolat 42	9	12	2,33
Isolat 43	8	16	3
Isolat 45	11	22	3
Isolat 46	7	14	3
Isolat 47	10	14	2,4
Isolat 54	11	22	3
Isolat 55	10	15	3

La variation du diamètre de cet halo montre qu'il y a une variabilité dans le pouvoir de solubilisation du phosphate entre les isolats testés. Les indices de solubilisation calculés ont permis la comparaison entre des isolats, dont la solubilisation la plus élevée est observée avec les isolats 23 et 40 avec un indice de 3,8.

Après l'azote, le phosphore est l'élément le plus limitant pour les plantes qui sont capables seulement d'absorber par des bactéries rhizosphériques qui sont capables de solubiliser le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et l'acide 2- céto gluconique, Elles sont aussi capables de minéraliser le phosphate organique par l'excrétion des enzymes extracellulaires telles les phosphatases [3].

La solubilisation du phosphate est généralement liée à la production d'un mélange de plusieurs acides organiques dont les qualités et les quantités varient selon l'isolat. Principalement, les acides organiques les plus produits sont : l'acide gluconique, l'acide oxalique et l'acide citrique,... cependant, l'acide organique le plus puissant dans la solubilisation est l'acide citrique. Ces résultats sont en accord avec ceux de, indiquant que la solubilisation de différentes sources de phosphore par *Penicillium rugulosum* et sa souche mutante Mps<sup>++</sup>, est principalement due à la production d'acides organiques à faible poids moléculaire. Ils ont aussi indiqué que l'acide citrique semblait être le principal acide en cause [29].

## Résultats et discussion

### 2- Inhibition de phytopathogène

Dans cette étude, on a pu vérifier la capacité des isolats rhizosphériques à inhiber la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* et de *Fusarium solani*. Les résultats de test d'antagonisme des isolats contre ces trois champignons sont résumés dans le tableau suivant.

**Tableau 3.** Mise en évidence de l'activité anti-phytopatogène des isolats rhizosphériques contre *Fusarium oxysporum*, d'*Aspergillus niger* et *Fusarium solani*.

Souche	Les champignons test		
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium solani</i>
Isolat 1	73	0	57
Isolat 2	73	51	55
Isolat 3	71	64	44
Isolat 4	71	0	48
Isolat 5	57	0	35
Isolat 6	60	0	53
Isolat 7	60	0	31
Isolat 8	62	0	51
Isolat 9	57	0	51
Isolat 10	48	0	55
Isolat 11	67	0	60
Isolat 12	58	0	60
Isolat 13	69	0	57
Isolat 14	73	0	60
Isolat 15	67	0	55
Isolat 16	67	0	53
Isolat 17	62	0	57
Isolat 18	60	0	55
Isolat 19	64	0	51
Isolat 20	67	0	55
Isolat 21	58	0	53
Isolat 22	58	0	53
Isolat 23	64	0	55
Isolat 24	67	0	51
Isolat 25	69	0	53
Isolat 26	67	0	53
Isolat 27	69	0	53
Isolat 28	62	31	51
Isolat 29	60	0	57
Isolat 30	68	0	53
Isolat 31	60	0	51

## Résultats et discussion

---

(suite) **Tableau 3.** Mise en évidence de l'activité anti-phytopatogène des isolats rhizosphériques contre *Fusarium oxysporum*, *d'Aspergillus niger*, *Fusarium solani*.

Isolat 32	55	0	42
Isolat 33	28	0	48
Isolat 34	64	42	55
Isolat 35	62	0	56
Isolat 36	64	0	57
Isolat 37	64	0	58
Isolat 38	76	0	59
Isolat 39	67	0	60
Isolat 40	62	0	33
Isolat 41	67	0	0
Isolat 42	64	0	0
Isolat 43	62	0	55
Isolat 44	67	0	57
Isolat 45	62	67	55
Isolat 46	60	67	30
Isolat 47	64	71	48
Isolat 48	64	0	42
Isolat 49	64	31	46
Isolat 50	82	53	98
Isolat 51	80	0	98
Isolat 52	87	0	44
Isolat 53	84	67	42
Isolat 54	89	0	42
Isolat 55	67	0	48
Isolat 56	58	44	55
Isolat 57	64	47	55
Isolat 58	67	0	57
Isolat 59	58	82	57
Isolat 60	69	0	53

Les résultats illustrés dans le tableau montrent que la plupart des isolats étudiées possèdent une activité inhibitrice contre *Fusarium oxysporum* avec un pourcentage minimal de 28% (isolat 32) et un pourcentage maximal 89% (isolat 55).

Seulement 14 isolats (23%) ont une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger*. dont l'inhibition la plus importante est enregistrée pour les isolats 48 et 60 avec des pourcentages de 82et 71% respectivement.

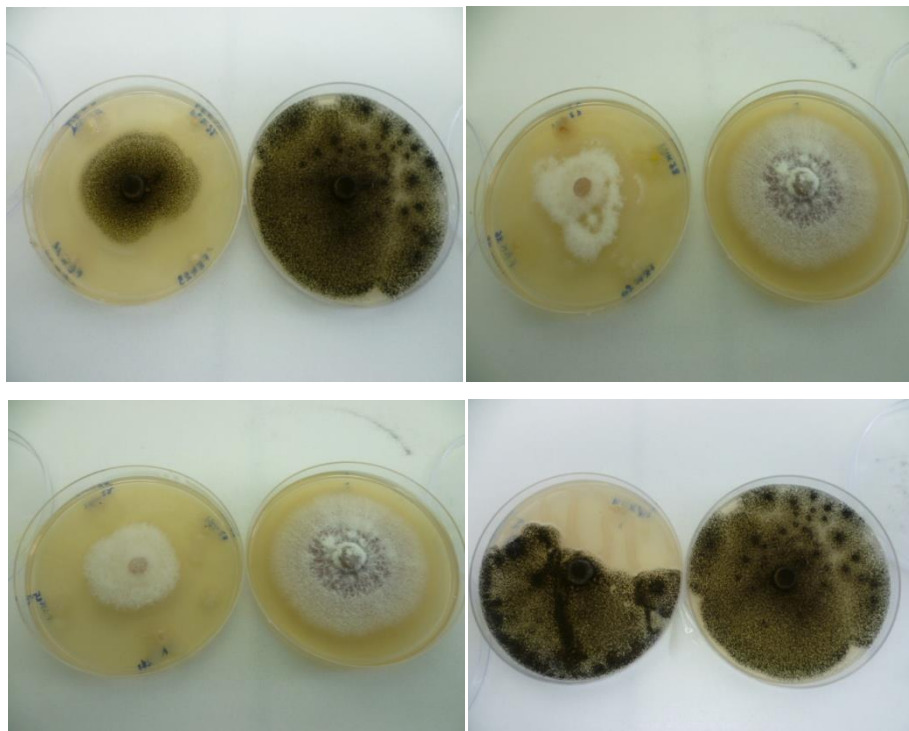


## Résultats et discussion

---

Plus de 40 isolats (68%) possèdent une activité inhibitrice contre *Fusarium solani* avec un pourcentage d'inhibition supérieur à 50%. Par contre les souches 41 et 42 n'ont aucune activité antifongique contre ce champignon. Les autres isolats ont des pourcentages d'inhibition situés entre 31 et 98%.

Comme elle montre la (figure19), la structure de des champignons phytopathogènes est apparait altérée et désorganisée suggérant la sécrétion de molécules extracellulaires inhibitrices et de défense par les isolats bactériens.



**Figure 19.** Effet antagoniste de quelques isolats rhizosphériques vis-à-vis les phytopathogènes.

Selon la littérature, cette inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes, comme elle peut être liée à la production d'une large gamme de métabolites secondaires et de sidérophores, en plus d'enzymes dégradant les parois cellulaires. Les plus caractérisées de ces métabolites secondaires sont les: phénazines, phloroglucinols, pyolutéorine, pyrrolnitrine, lipopeptides, le cyanure d'hydrogène, les acides organiques, les sidérophores [62].

Les rhizobactéries qui possèdent ce type d'activité ont un grand rôle économique, aujourd'hui il ya une large gamme de produit qui sont même commercialisés à base de micro-

## Résultats et discussion

---

organismes qui sont utilisés comme des agents de la lutte biologique qui consiste à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme. La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme.

### 3- Production des auxines

Les résultats de la production de l'AIA en présence de tryptophane à une concentration de 100 µg/ml sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** La production de l'acide-3-indole acétique en présence de tryptophane par les isolats rhizosphériques.

Souches	Production de l'AIA en µg/ml	Classification de Newman-Keuls. (P >5%)
Isolat 1	10,24 ± 3,7	A
Isolat 2	7,07 ± 4,2	A
Isolat 3	10,69 ± 0	A
Isolat 4	12,09 ± 0,63	A
Isolat 5	7,04 ± 4,18	A
Isolat 8	12,37 ± 0,48	A
Isolat 9	12,78 ± 0,38	A
Isolat 10	11,72 ± 0,81	A

En réalité ce test est réalisé seulement pour un nombre limité d'isolats (les isolats présentés dans le tableau 4) à cause d'un problème technique (spectrophotomètre en panne). L'analyse statistique à un seuil de 5% montre une différence non significative entre les différentes productions de l'AIA par les isolats étudiées, la production est comprise entre 7,04 et 12,78 µg/ml.

Les rhizobactéries produisant l'AIA sont connues pour leurs capacités à augmenter la croissance et la longueur des racines, cet effet résulte en une surface racinaire plus grande, et une accessibilité pour plus de nutriments pour la plante.

## Résultats et discussion

---

Selon la littérature, la production de l'AIA par les rhizobactéries est réalisée selon différentes voies, dont la plupart utilisent le tryptophane des exsudats racinaires comme précurseur de production, les voies les plus répandues qui utilisent le tryptophane sont : la voie de l'indole-3-acetamide, la voie de Tryptamine, la voie de Tryptophane oxydase en chaîne latérale et la voie de Indole-3-acetonitrile [42].

### 4-Identification des souches

#### 4-1-Production de la catalase

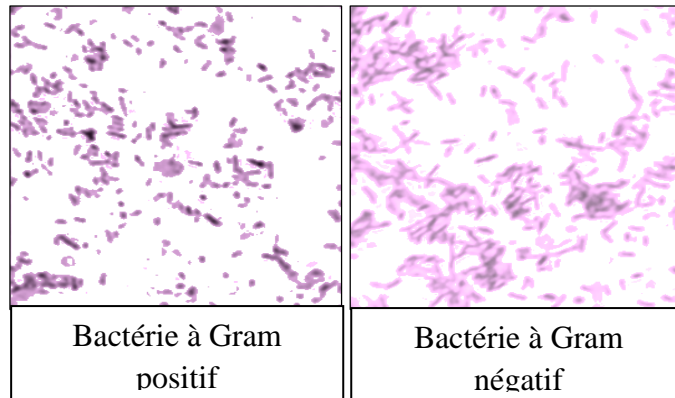
Après avoir effectué le test catalase l'apparition des bulles d'air lors de l'addition de l'eau oxygénée a révélé la présence de la catalase (catalase +). Le tableau ci dessous présente les résultats. Selon ce tableau 51 isolats produisent la catalase.

**Tableau 5.** Production de la catalase par les isolats rhizosphériques

Souche	Catalase	Souche	Catalase	Souche	Catalase	Souche	Catalase
Isolat 1	+	Isolat 16	+	Isolat 31	+	Isolat 46	+
Isolat 2	+	Isolat 17	+	Isolat 32	+	Isolat 47	+
Isolat 3	+	Isolat 18	-	Isolat 33	+	Isolat 48	+
Isolat 4	-	Isolat 19	+	Isolat 34	+	Isolat 49	-
Isolat 5	+	Isolat 20	+	Isolat 35	+	Isolat 50	+
Isolat 6	+	Isolat 21	+	Isolat 36	+	Isolat 51	-
Isolat 7	+	Isolat 22	+	Isolat 37	+	Isolat 52	+
Isolat 8	+	Isolat 23	+	Isolat 38	+	Isolat 53	+
Isolat 9	-	Isolat 24	+	Isolat 39	+	Isolat 54	+
Isolat 10	+	Isolat 25	-	Isolat 40	+	Isolat 55	+
Isolat 11	+	Isolat 26	+	Isolat 41	-	Isolat 56	+
Isolat 12	+	Isolat 27	+	Isolat 42	-	Isolat 57	+
Isolat 13	+	Isolat 28	+	Isolat 43	+	Isolat 58	+
Isolat 14	+	Isolat 29	+	Isolat 44	+	Isolat 59	-
Isolat 15	+	Isolat 30	+	Isolat 45	+	Isolat 60	+

#### 4-2- Coloration de Gram

L'observation des souches au microscope après la coloration de Gram a révélée la présence de deux formes bacilles et coques certaines à Gram positif 31 souches (colorées en violette) et d'autre à Gram négatif 29 souches colorées en rose).



**Figure 20.** Coloration de Gram

### 4-3- Recherche de l'oxydase

Le test d'oxydase est réalisé juste aux bactéries qui présentent un Gram négatif et une morphologie de bacille. Ce test est indispensable pour le choix de la galerie Api utilisée, en réalité, ce test sépare les bacilles à oxydase négatif qui sont considérées phénotypiquement comme des entérobactéries pour lesquels la galerie Api 20e est utilisée, par rapport aux autres bacilles à oxydase positif pour lesquels la galerie api 20ne est utilisée pour l'orientation phénotypique vers les genres et les espèces. Parmi les 10 souches on trouve 6 souches à oxydase positive, et le reste négative.

### 4-4- Identification phénotypique par la galerie Api 20NE

Seulement trois souches sont identifiées par l'utilisation de la galerie Api 20ne. L'identification a révélée que des souches appartiennent phénotypiquement à l'espèce de seulement *Pseudomonas fluorescents* (isolat 58 et 51), et *Aeromonas hydrophila*. (Isolat 60).



**Figure 21.** Galerie Api 20NE lors de la lecture

## Résultats et discussion

---

**Tableau 6.** Résultat de test d'identification de la souche (58) isolée par la galerie Api 20 NE.

Test	Résultats	
NO3	+	+
TRP	-	-
GLU	-	-
ADH	+	+
URE	-	-
ESC	+	+
GEL	+	+
PNG	-	-
GLU	+	+
ARA	+	+
MNE	+	+
MAN	-	-
NAG	+	+
MAL	+	+
GNT	+	+
CAP	-	-
ADI	-	-
MLT	+	+
CIT	-	-
PAC	-	-
OX	+	+
<b>Identification</b>	<i>Pseudomonas fluorescent</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>

## Conclusion

---

L'augmentation de l'utilisation d'un certain nombre de molécules chimiques comme stimulateur de croissance ou de lutte contre des différents agresseurs a eu des effets négatifs sur la santé humaine ainsi que sur la flore du sol et sur l'environnement ce qui a poussé à trouver des alternatives biologiques avec un minimum d'effets négatifs. Ce travail a permis l'étude de l'activité anti-phytopathogène contre trois champignons : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*, et de quantifier la production de l'AIA et la solubilisation de phosphate. Les souches testées sont apparues intéressantes par rapport aux résultats obtenus, parmi les 60 souches testées, 18 isolats ont donné une solubilisation de phosphates inorganique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). La plupart des souches étudiées possèdent une activité antifongique, contre *Fusarium oxysporum* des pourcentages de 28 jusqu'au 89% sont enregistrés (isolat 55). Seulement 14 souches ont eu une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger*. Plus de 40 souches possèdent une activité inhibitrice contre *Fusarium solani* avec un pourcentage d'inhibition supérieur à 50%. La production de l'AIA est comprise entre 7,04 et 12,78  $\mu\text{g/ml}$ . L'utilisation de la galerie Api 20ne a permis l'identification phénotypique de *Pseudomonas fluorescens* et *Aeromonas hydrophila*.

Dans le but de progresser dans cette étude il serait souhaitable dans les prochains travaux de :

- Tester les souches sélectionnées pour leur capacité à stimuler la croissance ou à protéger les plantes, principalement les tomates. Utiliser des techniques et des systèmes pour découvrir les molécules responsables de la solubilisation de phosphate.
- Etablir d'autres tests importants comme la capacité à produire des sidérophores.
- Faire des études profondes sur les mécanismes utilisés par les souches.

## Références bibliographiques

---

- [1]. **J. M. Gobat, M. Aragno, W. Matthez.** (2003). Le sol vivant : Bases de pédologie biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires, Lausan. 5-6p.
- [2]. **Maalem Ahlem, Sansri Dalal.** (2014). Activité anti-phytopathogènes de quelques souches rhizosphériques appartenant aux groupes des actinomycètes filamenteux et des *Pseudomonas spp* fluorescents. Université 8 mai 1945 Guelma. 23-24p.
- [3]. **Braghta hamida, Merabet hadjer.** (2014). Thème : Etude de la capacité de quelques isolats rhizosphériques à produire des molécules bioactives contre le phytopatogène *Fusarium oxysporum*. Université Guelma. 20-24p.
- [4]. **Gray, Smith.** (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* **37**:395- 412
- [5]. **David h, Mc near Jr.** (2013). The rhizosphere, roots, soil and everything in between. *Nature education knowledge.* 4, 13p
- [7]. **Michel, Claude Girard, Christian Walter, et al.** (2005). Sols et environnement. Dunod ISBN 978-2-10-054900-9. 73. 673 p.
- [8]. **Djigal djibril.** (2003). Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéricivores : effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Université de Dakar. 140 p.
- [10]. **Armelle Braud.** (2007). Procédé de phytoextraction couplé à la bioaugmentation d'un sol agricole polycontaminé par du chrome, du mercure et du plomb. Université de haute-alsace. 80p.
- [11]. **Coineau Yves.** (1995). Le sol : un milieu de vie. Fondation pour la nature et l'homme-Repères pour l'éducation à l'environnement. 2, 02.
- [12]. **Jean Figarella, Guy Leyral, Michèle Terret.** Microbiologie générale et appliquée L576/001. DELAGRAVE Edition. 65-67p.
- [14]. Fiche technique de la flore.

## Références bibliographiques

---

- [15]. **Jarome J.Perry, James T. Staley, Stephen Lory.** (2004). Microbiologie L.570.178. Dunod.ISBN210007234 X. 626- 631p.
- [16]. **B. Sofiane.** (1998). isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Université Laval, 1p.
- [17]. **J. G. Fuchs, S. A. Biophyt.** (1999). Les produits biologiques: bien les connaître pour mieux les utiliser, 6-7p.
- [18].**Glick B.R, Patten C.L, Holgin G, Penrose D.M.** (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. London: Imperial College Press, 267p.
- [19]. **Roger Corbaz.** (1990). Principe de phytopathologie et la lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaires romandes. Suisse. ISBN 2-88074-201-3. Page10-13.
- [20]. **Jean François, Morot Gaudry et al.** (2012). Biologie végétale Nutrition et métabolisme. Dunod. ISBN 978-2-10-057729-3. Page 57-60.
- [21].**Haas D, and Defago. G.** (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319p.
- [23].**Gottlieb D.** (1973). General consideration and implication of the actinomyetales. In actinomyetales characteristics and pratical importance. Edited by G. Sykes and F. A. Skinner. Academic Press, London, New York.
- [24].**Allaoueddine Boudemagh.** (2006). Isolement, à partir des sols Sahariens, des bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souche actives. Université Mentouri Constantine. 23p.
- [25].**Lechevalier.** 1985. Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, Inc. 315-316p.
- [26].**Kalakoutskaa, Agre.** 1976. Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* **40 (2)**, 469–524.
- [27].**Lacey J.** (1997). Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* 4, 113-121p.



## Références bibliographiques

---

- [28]. **Silini Soumaya**. 2011. Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania. Université : Mentouri Constantine. 22-23p.
- [30]. **Bell Perkins, L. J, et J.M. Lynch**. 2002. Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. *In* G. Bitton (ed.), Encyclopedia of environmental microbiology, A Wiley-Interscience Publication, Canada.
- [31]. **Haas D, et C. Keel**. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. And relevance for biological control of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* 41: 117-153p.
- [32]. **Moore, E.R.B., B.J. Tindall, V.A.P et al.** (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. *In* M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), Prokaryotes, Springer, USA.
- [33]. **Ibrahim Konate**. (2007). Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Université Mohammed V-agdal.99p.
- [34]. **Chabot R, Antoun H, Kloepper J. W, and Beauchamp C. J.** (1996). Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2767- 2772.
- [35]. **Jean Pelmont**. Bactéries et environnement. EDP. ISBN 2.7061.0502.8. 146-542p.
- [36]. **B.William, G.Hopkins**. (2003). Physiologie végétale. De Boeck. ISBN 2-74450089-5 .316-435p.
- [39]. **J.J. Perry, J.T. Staly. S.Lory**. (2004). Microbiologie. Dunod. Paris. ISBN210007234. L.570.178. 483-485p.
- [40]. **Emmert E. A. B. and Handelsman J.** (1999). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol. Lett.* 171: 1- 9p.
- [41]. **R. Heller, R. Esnault, C.Lance**. (2000). Physiologie végétale. Dunod. Paris. ISBN 2 100487116. 65 à 78p.

## Références bibliographiques

---

- [42]. **Madeleine Asdreubal.** (2005). Croissance et développement des plantes cultivées. Educagri edi. France. ISBN 978-2-84444- 405-9. 24-28p.
- [43]. **Charles, Nauciel, Jean Louis Vildé.** (2005). Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Paris. ISBN 978-2-294-01858-9. 140p.
- [45]. **Neilands, J.B.** (1995). Siderophores: structure and function of microbial iron transport compound. *J. Bio. Chem.* 270: 26723–26726.
- [46]. **Hay, A.G, Dees, P.M, and Sayler, G.S.** (2001). Growth of bacterial consortium on triclosan. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36: 105–112.
- [47]. **Ratledge, C. and Dover, L.G.** (2000). Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annu.Rev. Microbiol.* 54: 881–941.
- [48]. **Lamont, I.L, Beare, P.A, Ochsner U, Vasil, A.I, and Vasil, M.L.** (2002). Sidérophores-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:7072–7077.
- [49]. **Krewulak, K.D, and Vogel, H. J.** (2008). Structural biology of bacterial iron uptake *Biochim. Biophys. Acta* 1778:1781–1804.
- [51]. **Awad F, Romheld V.** (2000) Mobilization of heavy metals from contaminated calcareous soils by plant born, microbial and synthetic chelators and their uptake by wheat plants. *Journal of Plant Nutrition* 23: 1847-1855.
- [52]. **Whiting S.N, Souza M.P, Terry, N.** (2001). Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Environmental Science and Technology* 35: 3144-3150.
- [53]. **Jurkevitch E, Hadar Y, Chen Y.** (1988) Involvement of bacterial siderophores in the remedy of lime-induced chlorosis in peanut. *Soil Science Society of America Journal* 52: 1032-1037.
- [54]. **Wang Y, Brown H.N. Crowley D.E, Szaniszló P.J.** (1993). Evidence for direct utilization of a siderophore, ferrioxamine B, in axenically grown cucumber. *Plant, Cell & Environment* 16: 579-585.

## Références bibliographiques

---

[55].**Lindsay W.L.** (1979). Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, NY.  
Lindström K. (1989). *Rhizobium galegae*, a new species of legum root nodule bacteria, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39: 365- 367p.

[56].**Igual J.M, Valver de A, Cerevantes E. and Válezquez E.** (2001). Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: use of updated molecular techniques in their study. *Agronomie*, 21, 561- 568p.

[57].**Rodriguez H, and Fraga R.** (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17: 319- 339p.

[58].**Gaur R, Shani N, Kawaljeet, Johri B. N., Rossi P. and Aragno M.** (2004). Diacety phlorogluconol-producing *Pseudomonas* do not influence AM fungi in wheat rhizosphere. *Curr. Sci.* 86: 543- 557p.

[59].**Wu S.C, Cheung K.C, Luo Y.M, Wong M.H.** (2006). Effects of inoculation of plant growth promoting rhizobacteria on metal uptake by Brassica juncea. *Environmental Pollution* 140: 124-135p.

[60].**Semal, J.** (1989). *Traité de pathologie végétale- les presses agronomiques de Gembloux, A.S.B.L.* ; 144-165p.

[61]. **Kholkhal Wahiba.** (2006) Recherche de nouvelles souches fongicides productrices d'antibiotiques à partir du sol et des concrétions sédimentaires des grottes d'Ain Fezza.

Produits naturels. Université Abou Bekr Belkaid. 62 p.

[62].**Abou al Fadil Taissir.** (2006).Déterminisme de la tolérance du tournesol à *Phoma macdonaldii* au collet et sur racines : approches génétiques et histologiques. Biosciences végétales. Institut National Polytechnique de Toulouse.185 p.

[63].**Rabhi nour elhouda.** (2011). Isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. Université Ferhat Abbas Sétif. 176p.

## Références bibliographiques

---

### Sites Web:

[6]. <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Rhizosphère&oldid=111234464>.

(Consultation le: 02/05/2015 à 09:22).

[9]. <http://www.inra.fr/dpenv/leclec47.htm>. (Consultation le: 21/04/2015 à 11:10).

[11]. <http://www.u-picardie.fr>. (Consultation le: 11/03/2015 à 13: 44).

[13]. <http://www.mnhn.fr/assoc/myriapoda/INDEX.HTM>. (Consultation le:31/03/2015 à 10:06).

[22]. <http://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb15097536s>. (Consultation le: 7/3/2015 à 14:10).

[29]. <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Pseudomonas&oldid=643645217>.

(Consultation le: 7/4/2015 à 17:00).

[37]. <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=azotobacter &oldid=103942498>.

(Consultation le: 27/4/2015 à 16: 55).

[38]. [yh35.voila.net/bactéries/bacillus.htm](http://yh35.voila.net/bactéries/bacillus.htm). (Consultation le: 02/02/2015 à 09 :00).

[44]. <http://www.inrp.fr/Access/biotic/morpho/html/cytokinines.htm.n>. (Consultation le: 02/05/2015 à 12:01).

[50]. <http://www.mnhn.fr/assoc/myriapoda/INDEX.HTM>. (Consultation le : 21/04/2015 à 15 : 33).

[66]. DELAHAYE Arnaud. Arnobio2. <http://www.arnobio2.com> (Consultation Le : 20/04/2014 à 16 :02).

# Annexes

---

## Annexe 1 : Matériels et produits utilisés.

Appareillage	Les réactifs utilisés
<ul style="list-style-type: none"><li>-Bec bunsen : pour assurer une stérilisation instantanée.</li><li>-Four pasteur : stérilisation de la verrerie du laboratoire à sec.</li><li>-Autoclave : stérilisation à la vapeur.</li><li>-Incubateur : pour la culture des bactéries.</li><li>-Réfrigérateur : conservation des souches et des réactifs.</li><li>- Microscope optique : permet observation (coloration de Gram).</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Eau physiologique.</li><li>- La solution de 0.5 Mac Farland.</li><li>- Le réactif de SalKowski.</li><li>-Violet de gentiane.</li><li>-Lugol.</li><li>-Ethanol.</li><li>-Fushine.</li><li>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : pour le test de catalase.</li><li>-Les disques oxydase.</li><li>-L'eau distillée.</li><li>-Nitrate 1 et Nitrate 2.</li><li>-Vp1 et Vp2.</li><li>-kovacs.</li><li>-huile de seder.</li></ul>
Autre matériels	
<ul style="list-style-type: none"><li>-Pipettes : pour l'inoculation.</li><li>-Pipettes pasteur : pour l'inoculation et l'ensemencement.</li><li>-Micropipettes : pour une prise très précise.</li><li>- Les lames : pour l'observation microscopique.</li><li>-Tube à essai.</li><li>-Boîtes de pétri : pour les cultures bactériennes.</li><li>-Anse de platine : pour l'ensemencement.</li></ul>	

## Annexes

---

### **Annexe 2 : Les milieux de culture.**

#### **Milieu lauria bernatti broth**

Tryptone.....10 g  
Extrait de levure .....5 g  
NaCl .....5 g  
Eau..... 1000 ml  
pH = 7,2

#### **Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

Pomme de terre..... 200 g  
Glucose.....20 g  
Agar..... 20 g  
PH = 6

#### **Le réactif de salkowski**

-Solution de fer 10ml.

(FeCl<sub>3</sub>:8.11g → 100ml eau distillée).

-Acide perchlorique 250 ml → 250ml eau distillée

#### **Milieu de Picovskaya**

Glucose .....10g  
Ca<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>..... 5g  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> .....0.5g

## Annexes

---

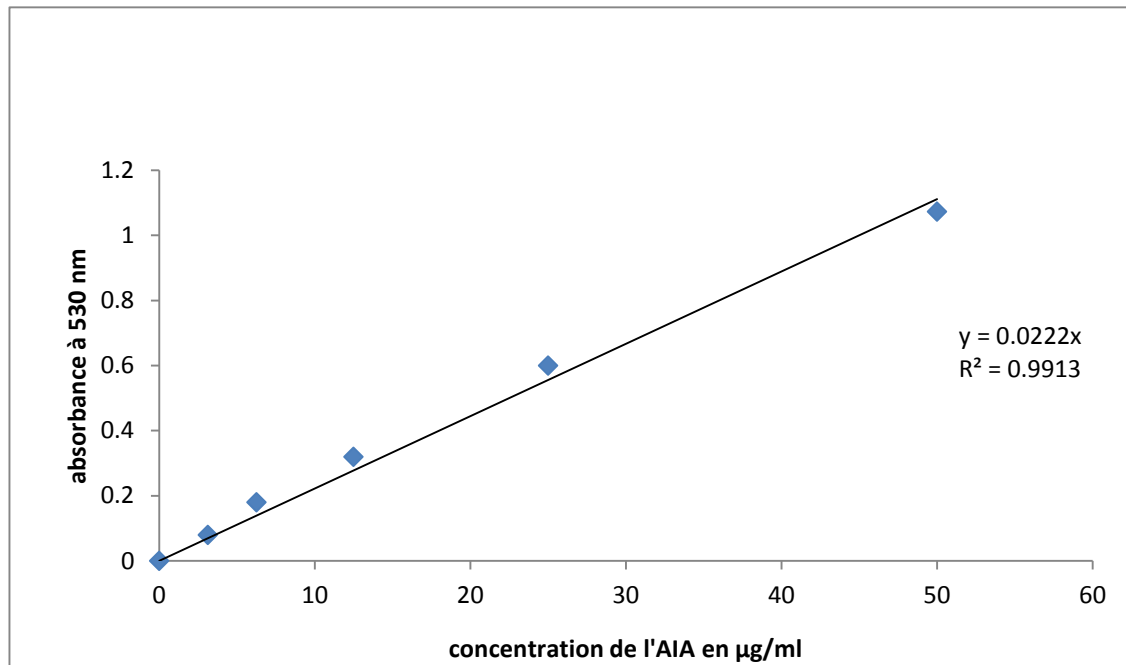
Nacl .....	0.2g
MgSo <sub>4</sub> .....	0.1g
Kcl .....	0.2g
Extrait de levure .....	0.5g
MnSo <sub>4</sub> .....	0.002g
FeSo <sub>4</sub> .....	0.002g
Agar .....	10g

### **Eau physiologique**

Composition en g/l

Nacl.....	9g
Eau distillé.....	1 litre

## Annexe 3 : Courbe étalonnage de concentration L'AIA.





## Annexes

**Annexe 4:** Tableau de lecture de la galerie API 20 NE.

test	Composants actifs	QTE (mg/m)	Reactions/enzymes	Résultats negatif	Resultats positif
NO <sub>3</sub>	Potassium nitrate	0,136	Réduction des nitrates en nitrites	Incolore	Rose-rouge
			Réduction des nitrites en Azote	Rose	Incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	Formation d'indole (tryptophane)	Incolore/vertpale/ Jaune	Rose
GLU	D-glucose	1,92	Fermentation (Glucose)	Bleu à vert	Jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DIHydrolase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
URE	Urée	0,76	UREase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
ESC	Esculine citrate de fer	0,56 0,072	Hydrolyse (Bgalactosidase) ( ESCuline)	Jaune	Gris/marron/ Noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	0,6	Hydrolyse(protéase) GELatine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du piment noir
PNPG	4-nitrophényl-BD-galactopyranoside	0,22	B-galactosidase ( para-nitrophényl-BD-galactopyranosidedase)	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	1,56	Assimilation (GLUcose)	Transparence	Trouble
ARA	L-arabinose	1,4	Assimilation( arabinose)	Transparence	Trouble
MNE	D-mannose	1,4	Assimilation (mannose)	Transparence	Trouble
MAN	D-mannitol	1,36	Assimilation (mannitol)	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	Assimilation (N-acétyl-glucosamine)	Transparence	Trouble
MAL	D-maltose	1,4	Assimilation (maltose)	Transparence	Trouble
GNT	Potassium gluconate	1,84	Assimilation (potassium gluconate)	Transparence	Trouble
CAP	Acide caprique	0,78	Assimilation (acide carpique)	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	1,12	Assimilation (acide adipique)	Transparence	Trouble
MLT	Acide malique	1,56	Assimilation (malate)	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	2,28	Assimilation (tri sodium citrate)	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	0,8	Assimilation (acide phénylacétique)	Transparence	Trouble
OX	Voire notice du oxydase	-	Cytochrome-oxydase	Voir notice du test oxydase	

## Annexes

---

## Résumé

L'objectif de ce travail est de réaliser un criblage visant la sélection des bactéries promotrices de croissance des plantes isolées de la rhizosphère de la tomate par l'utilisation de trois tests, principalement : La mise en évidence et la quantification de l'indole 3-acétique acide (AIA) produit en présence de tryptophane, l'étude de l'activité antifongique des souches isolées vis-à-vis des champignons de type *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus niger*, ainsi que la mise en évidence de la solubilisation de phosphate inorganique. L'inhibition des phytopathogènes est étudiée par la technique des cylindres d'agar sur le milieu PDA, la production de l'AIA est quantifiée par une méthode colorimétrique basée sur une fermentation dans le milieu LB, et une révélation par le réactif de Salkowski, la solubilisation de phosphate est révélée par une culture sur le milieu solide de Pikovskaya. Quelques isolats sont identifiés par le système Api 20ne.

Parmi les 60 souches testées, 18 isolats ont donné une solubilisation de phosphates inorganique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). La plupart des souches étudiées possèdent une activité antifongique, contre *Fusarium oxysporum* des pourcentages de 28 jusqu'au 89% sont enregistrés (isolat 55). Seulement 14 souches ont eu une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger*. Plus de 40 souches possèdent une activité inhibitrice contre *Fusarium solani* avec un pourcentage d'inhibition supérieur à 50%. La production de l'AIA est comprise entre 7,04 et 12,78  $\mu\text{g/ml}$ . L'utilisation de la galerie Api 20ne a permis l'identification phénotypique de *Pseudomonas fluorescent* et *Aeromonas hydrophile*. Selon ces caractéristiques il apparaît que certaines de ces souches sont très intéressantes pour étudier leur efficacité *in vivo*.

**Mots clés :** PGPR, rhizosphère, lutte biologique, biostimulation, solubilisation de phosphate, production des auxines.

## Abstract

The objective of study is to provide a screening for selecting plant growth promoting rhizobacteria isolated from the plant root zone of the tomato through the use of three tests, mainly: The identification and quantification of indole 3 -acetic acid (IAA) product in the presence of tryptophan, the study of the antifungal activity of isolated strains vis-a-vis the type of fungi *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Aspergillus Niger*, as well as highlighting the solubilization of inorganic phosphate. Inhibition phytopathogenic is studied by the technique of agar cylinders on the PDA medium, production of the IAA is quantified by a colorimetric method based on fermentation in LB medium, and a revelation by the reagent Salkowski, phosphate solubilization is revealed by culture on solid medium Pikovskaya. Some isolates are identified by the API 20NE system.

Of the 60 strains tested, 18 isolates have given solubilization of inorganic phosphates ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). Most strains studied have antifungal activity against *Fusarium oxysporum* with percentages of 28 to 89% are recorded (isolate 55). Only 14 strains have inhibitory activity against *Aspergillus Niger*. More than 40 strains had inhibitory activity against *Fusarium solani* with a percentage of inhibition more than 50%. The production of the IAA is between 7.04 and 12.78  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . The use of the API 20NE gallery allows phenotypic identification of *Pseudomonas fluorescens* and *Aeromonas hydrophile*. According to these characteristics is appeared that some of these strains are very interesting to study their effectiveness in vivo. **Keywords:** PGPR, rhizosphere, biological control, bio-stimulation, phosphate solubilization, production of auxin.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو القيام بفحص لاختيار أنواع البكتيريا المساعدة على نمو النبات والتي تم عزلها من منطقة جذور نبات الطماطم وذلك باستخدام ثلاثة اختبارات، أهمها: تحديد وتقدير كمية l'acide indole 3-acétique (AIA) المنتج في وجود التريبتوفان، دراسة النشاط التثبيطي للبكتيريا ضد الفطريات من نوع *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus niger*، بالإضافة إلى اختبار قدرة البكتيريا علي إذابة الفوسفات المعدني (لاعضوي). تثبيط العامل الممرض للنبات أجري بواسطة تقنية cylindres d'agar في وسط PDA، إنتاج AIA يقدر بالطريقة اللونية القائمة على التخمر في وسط LB، والكشف بواسطة كاشف سالكوسكي، ذوبان الفوسفات يكشف عنه بزراعة في وسط صلب Pikovskaya. ويتم تحديد بعض السلالات المعزولة من قبل نظام .API 20NE

من بين 60 سلالة مختبرة، 18 منها قادرة على إذابة الفوسفات اللاعضوي  $(Ca_3(PO_4)_2)$ . معظم السلالات المدروسة لديها نشاط مضاد ضد *Fusarium oxysporum* بنسبة من 28-89% مسجلة عند (السلالة 55). فقط 14 سلالة لها فاعلية ضد *Aspergillus niger*. أكثر من 40 سلالة لها نشاط تثبيطي ضد *Fusarium solani* مع نسبة تثبيط أكبر من 50%. إنتاج ما بين 7.04 و 12.78 ميكروغرام/مل من AIA. استخدام نظام API NE20 يسمح بالتحديد المظهري ل *Pseudomonas fluorescens* et *Aeromonas hydrophile*. وفقا لهذه الخصائص يبدو أن بعض هذه السلالات هي مثيرة جدا للاهتمام لدراسة مدى فعاليتها في الجسم الحي.

**كلمات مفتاحية:** PGPR، الجذور، والمكافحة البيولوجية، التحفيز الحيوي، ذوبان الفوسفات، وإنتاج الأوكسين.