

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée
Département : Écologie et Génie de l'Environnement

Thème

**Caractérisation fonctionnelle des bactéries isolées à partir
des racines de certaines plantes médicinales**

Présenté par :

- MELKI Meryem
- NAHAL Ilham

Devant le jury :

Pr. BARA M.
Dr. AMRI S.
Dr. BENHALIMA L.

Président
Examinatrice
Encadrante

Université de Guelma
Université de Guelma
Université de Guelma

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH, le Tout Puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions particulièrement les membres de jury qui ont bien voulu consacré une partie de leur temps à juger ce travail :

*Nos sincères remerciements vont à **Mr. BARA M.**, Professeur à l'Université de Guelma, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Nous remercions également **Mme. AMRI S.**, Docteur à l'Université de Guelma, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous témoignons nos sincères remerciements à **Dr. BENHALIMA L.**, pour nous avoir dirigés : ses encouragements chaleureux, ses conseils avisés, sa disponibilité permanente et surtout sa patience unique ont beaucoup contribué au bon déroulement de notre travail.*

Nous exprimons également notre gratitude envers nos parents qui ont généreusement mis à notre disposition les ressources morales et techniques essentielles tout au long de notre parcours académique.

Dédicace

Avec un cœur plein d'amour et de fierté, je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde.

*À mes chers parents **Cherif** et **Fatiha** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études , qu'**ALLAH** les garde toujours en bonne santé , en plein bonheur et leur accorde longue vie ,*

*À toutes la famille **Melki** et **Merzougi**.*

*À mon adorable frères **Mohamed Abd Rahime**.*

*À ma sœur **Raounek** pour leur encouragement permanent, leur appui et leur soutien moral.*

*A mon petit cœur, ma nièce **Rital**, je prie Dieu de prolonger sa vie.*

*À mes douces petites Chat et perroquet **Minouche** et **Coucou**, j'espère que Dieu m'unira à eux au paradis.*

*À mes amies et spécialement **Ilham** qui à partager avec moi les bons et les durs moments.*

Meryem

Dédicace

Je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes plus chers êtres au monde.

*À mon cher père **Ahmed** a celui qui m'a tout donné sans compter, à celui qui m'a soutenu toute ma vie.*

*À ma chère mère **Hada**, honorable, aimable qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, Qu'**ALLAH** vous bénisse et vous garde en bonne santé.*

*À mon deuxième père **Hamza**, qui restera toujours présent dans mon cœur. Qu'**ALLAH** ait pitié d'il.*

*À mes sœurs **Souad**, **Bouchra** et mon frère **Bader Edin** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*À mes amies et spécialement **Meryem** qui ont partagé avec moi les bons et les durs moments.*

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, merci beaucoup.

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Symboles et abréviations	
Introduction	01
Chapitre I: Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur les plantes médicinales	03
II. Interaction plantes médicinales-microorganismes	04
III. Intérêt des bactéries associées aux plantes médicinales	05
III.1. Colonisation des plantes médicinales par les bactéries	05
III.1.1. Mécanisme de la colonisation bactérienne	05
III.1.2. Facteurs influençant la colonisation bactérienne	06
III.1.3. Diversité des bactéries colonisatrices	07
III.2. Bactéries promotrices de la croissance des plantes	08
III.3. Inhibition des phytopathogènes	10
III.4. Genres bactériens intéressants la pratique agricole	11
III.4.1. <i>Bacillus</i>	11
III.4.2. <i>Pseudomonas</i>	12
III.4.3. <i>Azotobacter</i>	13
III.4.4. <i>Streptomyces</i>	14
III.4.5. <i>Azospirillum</i>	15
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
I. Matériel végétal	17
I.1. Site d'échantillonnage	17
I.2. Plantes médicinales choisies	17
II. Isolement des bactéries à partir des racines de deux plantes médicinales	20
II.1. Isolement des bactéries épiphytes	20
II.2. Isolement des bactéries endophytes	20

III. Caractérisation fonctionnelle des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales	22
III.1. Caractérisation enzymatique	22
III.2. Croissance à différentes températures	23
III.3. Activités de promotion de la croissance des plantes (<i>Plant-Growth-Promoting Bacteria</i> , PGPB)	23
III.3.1. Production d'acide indole acétique (AIA)	23
III.3.2. Effets des isolats bactériens sur la germination et la croissance des graines de blé, tomate et tournesol	24
IV. Identification phénotypique de quelques isolats	25
V. Analyse statistique	26

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Caractérisation morphologique des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales	28
II. Caractérisation fonctionnelle des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales	30
II.1. Caractérisation enzymatique	30
II.2. Croissance à différentes températures	33
II.3. Activités de promotion de la croissance des plantes (<i>Plant-Growth-Promoting Bacteria</i> , PGPB)	35
II.3.1. Production d'acide indole acétique (AIA)	35
II. 3.2. Effets des isolats bactéries sur la germination et la croissance des graines de blé, tomate et de tournesol	38
III. Identification phénotypique de quelques isolats	41
Conclusion et perspectives	44
Références bibliographiques	45
Annexe	53

Résumé

La présente étude a pour objectif la caractérisation fonctionnelle des isolats bactériens obtenus à partir des racines de deux plantes médicinales *Allium sativum* L. et *Origanum vulgare* L. Le matériel végétal a été collecté à partir d'un terrain agricole situé dans la Wilaya de Guelma. Après isolement des bactéries épiphytes et endophytes, une caractérisation enzymatique, une culture à différentes températures et une étude de certaines activités des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB) à savoir la production d'acide indole acétique (AIA) et l'effet sur la germination et la croissance des graines de blé, tomate et tournesol ont été effectués. Dix-huit isolats bactériens ont été sélectionnés. Tous les isolats (100 %) possèdent une catalase, une amylase, une protéase et une estérase. Par ailleurs, 72,22 % des isolats ont une oxydase et 55,56 % possèdent une uréase. Une croissance positive à des températures de 28°C, 37°C et à 44°C a été observée pour tous les isolats. Cependant, seules les bactéries épiphytes des deux plantes médicinales ont été capables de croître à 4°C. L'analyse des activités spécifiques aux PGPB révèle que les isolats ArE10 et OrE1 produisent des concentrations importantes d'AIA (65,2±0,02 et 64,51±0,01 µg/ml, respectivement). De plus, les isolats bactériens ArE8, ArE10, OrE1, OrE2 et OrE8 ont augmenté, de manière significative ($p < 0,05$), le taux de germination des graines de blé. Tandis que, l'isolat OrE8 a donné un taux de germination élevé des graines de tomate et de tournesol (>90 %). Après 15 jours, tous les isolats ont stimulé la croissance de la partie aérienne du blé. Pour la tomate et le tournesol, les isolats bactériens ont amélioré plus efficacement la longueur et le poids des racines et des tiges. Le biotypage de certains isolats montre qu'ils sont très proches aux espèces : *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Rhodococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus* sp. À l'issue de cette étude, certains isolats se révèlent prometteurs en tant que biofertilisants. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour finaliser les étapes d'application sur le terrain.

Mots clés : Racines, plantes médicinales, bactéries épiphytes et endophytes, caractérisation enzymatique, PGPB.

The present study aims to functionally characterize bacterial isolates obtained from roots of two medicinal plants, *Allium sativum* L. and *Origanum vulgare* L. The plant material was collected from an agricultural field located in the Wilaya of Guelma. After isolating epiphytic and endophytic bacteria, enzymatic characterization, culture at different temperatures, and an investigation of certain activities of plant growth-promoting bacteria (PGPB), including indole acetic acid (IAA) production and their effects on the germination and growth of wheat, tomato, and sunflower seeds, were conducted. Eighteen bacterial isolates were selected. All isolates (100%) possess catalase, amylase, protease, and esterase. Additionally, 72.22% of the isolates have oxidase activity, and 55.56% exhibit urease activity. Positive growth was observed for all isolates at temperatures of 28°C, 37°C, and 44°C. However, only the epiphytic bacteria from the two medicinal plants were capable of growing at 4°C. Analysis of specific activities related to PGPB reveals that isolates ArE10 and OrE1 produce important concentrations of IAA (65.2 ± 0.02 and 64.51 ± 0.01 µg/ml, respectively). Furthermore, bacterial isolates ArE8, ArE10, OrE1, OrE2, and OrE8 significantly increased the germination rate of wheat seeds ($p < 0.05$). Meanwhile, isolate OrE8 exhibited high germination rates for tomato and sunflower seeds (>90%). After 15 days, all the isolates stimulated the aboveground growth of wheat. For tomatoes and sunflowers, the bacterial isolates more effectively improved root and stem length and weight. Biotyping of some isolates reveals their close proximity to species: *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Rhodococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus* sp. Following this study, some isolates show promise as biofertilizers. However, further research is needed to finalize the application steps in the field.

Keywords: Roots, medicinal plants, epiphytic and endophytic bacteria, enzymatic characterization, PGPB.

تهدف هذه الدراسة إلى التوصيف الوظيفي للعزلات البكتيرية التي تم الحصول عليها من جذور نبتتين طبيبتين، الثوم *Allium sativum* L. والزعتر البري *Origanum vulgare* L. تم جمع المادة النباتية من أراضي زراعية واقعة في ولاية قالمة. بعد عزل البكتيريا النباتية (épiphytes) والمتنابتة الداخلية (endophytes)، تم إجراء التوصيف الإنزيمي، الزراعة في درجات حرارة مختلفة ودراسة بعض أنشطة البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPB) كإنتاج حمض الإندول أسيتيك (AIA) والتأثير على إنبات ونمو بذور القمح والطمطم وعباد الشمس. تم اختيار ثمانية عشر عزلة بكتيرية. جميع العزلات (100%) تمتلك الكاتالاز، الأميليز، البروتياز والإستراز. علاوة على ذلك فإن 72,22% من العزلات لديها أوكسيديز و55,56% تمتلك يورياز. لوحظ نمو إيجابي عند درجات حرارة 28، 37 و44 درجة مئوية لجميع العزلات. ومع ذلك، فقط البكتيريا النباتية (épiphytes) من النبتتين الطبيبتين كانت قادرة على النمو عند درجة حرارة 4 درجات مئوية. يكشف تحليل الأنشطة الخاصة بـ PGPB أن العزلات ArE10 وOrE1 تنتج تراكيز معتبرة من AIA ($65,2 \pm 0,02$) و $64,51 \pm 0,01$ ميكروغرام/مل، على التوالي). علاوة على ذلك، أدت العزلات البكتيرية ArE8، ArE10، OrE1 وOrE2، إلى زيادة ملحوظة ($p < 0,05$) في معدل إنبات بذور القمح. بينما العزلة OrE8 أعطت نسبة إنبات عالية لبذور الطمطم ودوار الشمس ($< 90\%$). بعد 15 يوماً، حفزت جميع العزلات نمو الجزء الهوائي من القمح. بالنسبة للطمطم وعباد الشمس، أدت العزلات البكتيرية إلى تحسين طول ووزن الجذور والساق بشكل أكثر فعالية. يُظهر التنميط الحيوي لبعض العزلات أنها قريبة جداً من الأنواع: الزائفة الصفراء *Pseudomonas luteola*، البيركهولدرية البصلية *Burkholderia cepacia*، رودوكوكوس *Rhodococcus* sp.، العصوية الرقيقة *Bacillus subtilis*، العصوية الشمعية *Bacillus cereus*، وجنس العصويات *Bacillus* sp. في آخر هذه الدراسة، أظهرت بعض العزلات نتائج واعدة كأسمدة حيوية. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من البحث الإضافي لإتمام خطوات التطبيق ميدانياً.

الكلمات المفتاحية: الجذور، النباتات الطبية، البكتيريا النباتية والمتنابتة الداخلية، التوصيف الإنزيمي، PGPB.

Figure	Titre	Page
Figure 01	Interaction plante médicinale-bactéries.	07
Figure 02	Localisation de la région d'échantillonnage (zone colorée).	17
Figure 03	Photographies des plantes médicinales (a) <i>Allium sativum</i> L. et (b) <i>Origanum vulgare</i> L.	19
Figure 04	Caractérisation fonctionnelle des bactéries isolées à partir des racines de deux plantes médicinales.	27
Figure 05	Aspect macroscopique et microscopique de quelques isolats épiphytes et endophytes des racines d' <i>Allium sativum</i> L. et d' <i>Origanum vulgare</i> L.	30
Figure 06	Tests enzymatiques de l'isolat bactérien ArE6.	31
Figure 07	Croissance de certains isolats bactériens à différentes températures.	34
Figure 08	Aspect du surnageant de certains isolats bactériens après l'ajout du réactif Salkowski.	36
Figure 09	Concentrations de l'acide indole acétique produites par les isolats bactériens d' <i>Allium sativum</i> L.	36
Figure 10	Concentrations de l'acide indole acétique produites par les isolats bactériens d' <i>Origanum vulgare</i> L.	36
Figure 11	Effet de certains isolats bactériens sur la germination des graines de blé, tomate et de tournesol.	38
Figure 12	Effet de l'isolat bactérien OrE1 sur la croissance de (a) blé, (b) tomate et (c) de tournesol.	40

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Description et usage des plantes médicinales utilisées.	18
Tableau 02	Techniques de la caractérisation enzymatique des isolats bactériens.	22
Tableau 03	Substrats glucidiques utilisés pour l'identification de certains isolats bactériens.	25
Tableau 04	Caractérisation morphologique des bactéries épiphytes des racines de deux plantes médicinales.	28
Tableau 05	Caractérisation morphologique des bactéries endophytes des racines de deux plantes médicinales.	29
Tableau 06	Caractérisation enzymatique des isolats bactériens.	31
Tableau 07	Croissance des isolats bactériens à différentes températures.	34
Tableau 08	Effet des isolats bactériens sélectionnés sur les différents paramètres de croissance de blé, tomate et tournesol (moyenne \pm écartype).	39
Tableau 09	Utilisation des composés glucidiques par les isolats bactériens étudiés.	41
Tableau 10	Isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales	42

ACC :1-AminoCyclopropane-1Carboxylate.

AIA : Acide indole acétique.

cm: Centimètre.

C°:Degré celsius.

Disque ox : Disque Oxydase.

E : Est.

g : Gramme.

g : Gravité standard.

GC : Coefficient de chargaff.

GN : Gélose Nutritive.

h : heure.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

ISR: *Induced Systemic Resistance*.

Km: kilomètre.

LB : Milieu Luria Bertani.

LPA : Longueur de la partie aérienne.

LPR : Longueur de la partie racinaire.

m : Mètre.

mg : Milligramme.

mg/ml : Milligramme par Millilitre.

min : Minutes.

ml : Millilitre.

mM : Millimole.

mm : Millimètre.

NaHCO₃ : Solution d'hydrogénocarbonate de sodium.

NaOCl : L'hypochlorite de sodium.

ND : Non déterminé.

nm: Nanomètre.

p: Probabilité.

PGPB: *Plant-Growth-Promoting Bacteria*.

pH : Potentiel Hydrogène.

PPA : Poids de la partie aérienne.

PPR : Poids de la partie racinaire.

rpm : *Revolutions per minute*.

T° : Température.

UFC: Unités formant colonies

UV : Ultraviolet.

µl : Micro-litre .

µm : Micromètre.

µg/ml : Microgramme par millilitre.

% : Pourcent.

Introduction

Les plantes médicinales sont de précieuses sources de substances bioactives, fournissant une variété de molécules bénéfiques possédant diverses propriétés pharmacologiques (Basile *et al.*, 2006). Cependant, leur potentiel ne se limite pas à leurs propriétés intrinsèques, leurs interactions avec les microorganismes, notamment les bactéries, ouvrent de nouvelles perspectives passionnantes dans le domaine des biotechnologies (Wink, 2015).

L'interaction plante-bactérie est un phénomène complexe influencé par de multiples facteurs tels que les conditions environnementales, les caractéristiques des plantes hôtes et la diversité microbienne. Cette relation peut être bénéfique (exemple les bactéries fixatrices d'azote) ou bien nuisibles (bactéries pathogènes) (Compant *et al.*, 2010). Les bactéries épiphytes, endophytes et rhizosphériques symbiotiques jouent un rôle crucial dans cette dynamique, apportant des bénéfices précieux à la croissance et au développement des plantes (Mansfield *et al.*, 2012).

Les racines des plantes médicinales jouent un rôle crucial dans la sécrétion des exsudats qui peuvent attirer ou repousser certaines bactéries bénéfiques, ce qui lui permet d'héberger une communauté bactérienne diverse. Ces bactéries associées aux racines possèdent deux fonctions principales. D'une part, elles peuvent synthétiser diverses molécules bioactives bénéfiques. D'autre part, elles stimulent la croissance des végétaux par divers mécanismes, tels que la production de phytohormones (Silva *et al.*, 2017), ou la sécrétion de métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes protégeant les plantes des pathogènes (Goswami *et al.*, 2016). Cette interaction symbiotique permet d'envisager l'utilisation de ces bactéries comme biofertilisants et agents de biocontrôle, offrant ainsi une alternative durable et écologique aux produits chimiques conventionnels utilisés en agriculture (Pirttilä *et al.*, 2021).

Dans la présente étude, nous nous intéressons aux caractéristiques fonctionnelles des bactéries associées aux racines de deux plantes médicinales largement répandues dans la région de Guelma, un important pôle agricole du nord-est algérien, l'ail *Allium sativum* L. et

l'origan *Origanum vulgare* L. qui se distinguent par leurs propriétés remarquables. Notre objectif est de mieux comprendre ces bactéries et leurs rôles spécifiques. Pour ce faire, nous avons adopté une méthodologie basée sur :

- L'isolement des bactéries épiphytes et endophytes de la partie racinaire des plantes médicinales choisies ;
- L'étude des propriétés enzymatiques et des comportements de croissance des isolats bactériens à différentes températures afin de mieux comprendre leur adaptation et leurs capacités métaboliques ;
- L'étude des activités de promotion de croissance des bactéries associées aux racines.

Ce manuscrit s'organise autour de trois parties :

- La première partie constitue un état de l'art de notre sujet d'étude. Elle présente des généralités sur les plantes médicinales ainsi que leurs interactions avec les microorganismes, en se basant particulièrement sur les bactéries associées, leurs mécanismes de colonisation, leurs intérêts en tant que promotrices de croissance et leur capacité à inhiber les phytopathogènes avec une petite synthèse sur les principales bactéries intéressantes pour la pratique agricole.
- La deuxième est entièrement consacrée à la description de la méthodologie utilisée ;
- La troisième partie englobe les résultats expérimentaux obtenus, suivie d'une discussion engendrée par ces résultats. Enfin, cette étude est clôturée par une conclusion et des perspectives proposées.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

I. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des substances végétales qui, selon la pharmacopée européenne, possèdent au moins une partie avec des propriétés médicamenteuses (Limonier, 2018). À l'échelle mondiale, plus de 35 000 espèces végétales sont utilisées à des fins médicinales, représentant ainsi la plus grande diversité biologique exploitée par l'homme. Les plantes médicinales demeurent essentielles pour répondre à un besoin crucial, même face à l'essor continu du système de santé moderne (Ouedraogo *et al.*, 2021).

Depuis des siècles, la médecine traditionnelle s'appuie sur les plantes médicinales pour traiter de nombreuses maladies. Aujourd'hui, la plupart des médicaments sont fabriqués à partir de ces produits naturels qui sont constitués de nombreux composés biologiquement actifs. Ces composés bioactifs exercent une activité biologique contre divers agents pathogènes. À ce jour, de nombreux métabolites secondaires ayant des structures et des propriétés pharmacologiques différentes ont été identifiés dans les plantes médicinales (Süntar, 2020).

Diverses parties végétales peuvent être utilisées telles que les racines, les écorces, les sommités fleuries, les feuilles, les fleurs, les fruits ou encore les graines. Les substances bioactives, proviennent de plantes fraîches ou séchées, confèrent aux plantes leur activité bénéfique pour la santé (Dar *et al.*, 2023). Elles sont également d'une grande importance pour les plantes. Elles les protègent des rayons du soleil et des oxydations, et servent également de signaux d'échange avec l'environnement de la plante. Ces molécules permettent aux plantes de se protéger de d'autres espèces et d'attirer les insectes pollinisateurs. Elles jouent donc un rôle essentiel dans la survie et la reproduction des plantes. Ces métabolites peuvent être classés en plusieurs grandes familles, dont les plus importantes en termes de nombre de structures connues sont les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes...), les composés azotés, avec en particulier les alcaloïdes, et les composés terpéniques (Bergonzi *et al.*, 2022).

Les plantes médicinales ne sont pas des entités isolées, mais plutôt des holobiontes, formant des associations complexes avec une multitude de microorganismes. Ces derniers jouent un rôle crucial non seulement pour la plante elle-même, mais aussi pour l'homme.

En effet, ces microorganismes interagissent avec les racines, les feuilles et d'autres parties des plantes, influençant leur croissance, leur santé et même leurs propriétés médicinales. De plus, certains de ces microorganismes peuvent également avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine en modulant le microbiote intestinal. Ainsi, l'étude de ces interactions entre plantes et microorganismes ouvre des perspectives passionnantes pour la médecine, l'agriculture et la préservation de la biodiversité (Santoyo *et al.*, 2016).

II. Interaction plantes médicinales-microorganismes

Deux communautés de microorganismes vivent en relation avec les plantes médicinales:

Le microbiote de la phyllosphère: c'est la communauté de microorganismes qui vivent en relation symbiotique avec les parties aériennes de la plante, notamment sur les feuilles, les bourgeons, les fleurs et les tiges. Cette communauté est composée de bactéries, de champignons, de virus, d'archées, d'algues et rarement de protozoaires (Vorholt, 2012). Ces microorganismes produisent des régulateurs de croissance naturels, tels que les auxines, qui améliorent la croissance des plantes et donc l'augmentation de l'absorption des nutriments via l'activité de la photosynthèse en élargissant la surface foliaire efficace (Mwajita *et al.*, 2013). D'autre part, ils rendent disponibles certains nutriments essentiels comme l'azote et le phosphore (Fu *et al.*, 2016).

Certains microorganismes de la phyllosphère protègent les plantes contre les pathogènes par différents mécanismes comme la production d'antimicrobiens, la libération de métabolites secondaires et l'induction d'une résistance systémique qui stimule les défenses des plantes pour faire face à une éventuelle attaque pathogène (Saleem *et al.*, 2017).

En revanche, d'autres membres du microbiote de la phyllosphère pourraient agir comme agents pathogènes des plantes entraînant différentes formes de maladies. De plus, la présence d'un grand nombre de microorganismes dans la phyllosphère pourrait accroître la compétition avec les plantes pour les nutriments, l'eau et l'espace (Zhu *et al.*, 2022).

Le microbiote de la rhizosphère : Composé de diverses espèces de bactéries, champignons et protistes, il forme une communauté dynamique autour des racines végétales. La rhizosphère, la zone de sol directement sous l'influence des racines des plantes, est modifiée par les exsudats racinaires (composés organiques sécrétés par les racines) qui attirent et nourrissent les microorganismes, créant ainsi un environnement spécifique (Sekar *et al.*, 2010).

Les relations positives des microorganismes rhizosphériques peuvent renforcer la résistance des plantes au stress, améliorer l'absorption des nutriments par les plantes et favoriser leur croissance et leur développement (Chamkhi *et al.*, 2021).

En effet, l'interaction négative des microorganismes rhizosphériques peut avoir un impact significatif sur la croissance des plantes. Cette interaction, souvent appelée rétroaction négative, empêche l'émergence d'une espèce dominante au sein de la population. La rétroaction négative favorise la diversité des espèces au sein des communautés végétales. En empêchant une seule espèce de devenir prédominante, elle permet à différentes espèces de coexister. Cette diversité est essentielle pour la stabilité et la résilience de l'écosystème (Yuan *et al.*, 2022).

III. Intérêt des bactéries associées aux plantes médicinales

III .1. Colonisation des plantes médicinales par les bactéries

III.1.1. Mécanisme de la colonisation bactérienne

En raison de la colonisation bactérienne des plantes médicinales, une grande diversité des bactéries existe dans différentes parties (racines, tiges, feuilles) (Compant *et al.*, 2005).

Le processus de colonisation bactérienne des plantes suit généralement plusieurs étapes clés. Il implique une reconnaissance moléculaire mutuelle complexe. Les plantes émettent divers signaux chimiques, tels que des exsudats racinaires ou des composés organiques volatils, que les bactéries détectent à l'aide de récepteurs de chimiotaxie ou de *quorum sensing* (Schenk *et al.*, 2015 ; Bais *et al.*, 2006). En retour, la plante reconnaît certains modèles moléculaires bactériens ou effecteurs protéiques grâce à son système immunitaire

inné (Jones *et al.*, 2006).

Ces reconnaissances déclenchent des réponses dans la plante, notamment la production d'espèces réactives de l'oxygène, de composés antimicrobiens et l'activation de voies de signalisation hormonales, telles que celles de l'acide salicylique, de l'acide jasmonique ou de l'éthylène. Ces réactions provoquent des changements physiologiques importants dans la croissance, le développement et le métabolisme secondaire des plantes (Pieterse *et al.*, 2012).

Les bactéries affectent également les plantes, que ce soit en fixant l'azote (Iniguez *et al.*, 2004), en dissolvant les phosphates ou en produisant des hormones végétales favorisant la croissance des plantes (Sessitsch *et al.*, 2002). Elles peuvent également modifier la composition biochimique des plantes en modulant leur teneur en métabolites ou leur activité enzymatiques (Santoyo *et al.*, 2016). Certaines bactéries sécrètent même des métabolites d'intérêt, comme des antibiotiques à des fins thérapeutiques (Gouda *et al.*, 2016).

III.1.2. Facteurs influençant la colonisation bactérienne

De nombreux facteurs influencent l'efficacité de la colonisation bactérienne aux plantes. Les conditions environnementales jouent un rôle clé, comme le pH du sol ou de la surface des plantes, la disponibilité des nutriments, les niveaux d'humidité ou la température ambiante. Des conditions optimales pour la croissance bactérienne faciliteront grandement la colonisation (Compant *et al.*, 2010).

Les défenses naturelles de la plante hôte peuvent alors entraver ce processus, par exemple en produisant des composés antimicrobiens, en formant une barrière physique ou en déclenchant une réponse immunitaire innée. Les bactéries phytopathogènes possèdent diverses caractéristiques qui favorisent leur capacité à coloniser et infecter les plantes hôtes à savoir leur mobilité qui leur permet de se déplacer et d'envahir les tissus végétaux, leur production d'enzymes capables de dégrader les parois cellulaires des plantes, leur sécrétion de toxines ou de facteurs d'adhésion qui facilitent leur établissement, ainsi que leur aptitude à former des biofilms (Soto *et al.*, 2009).

III .1.3. Diversité des bactéries colonisatrices

Une grande variété de bactéries est capable de s'associer aux plantes médicinales dans différents environnements. De nombreuses bactéries bénéfiques telles que *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Azospirillum* sont isolées à partir des parties aériennes et racinaires. Ces bactéries favorisent la croissance végétale par divers mécanismes comme la fixation d'azote, la production d'hormones de croissance et la protection contre les agents pathogènes (Vacheron *et al.*, 2013). D'autres bactéries, appelées endophytes, colonisent l'intérieur des tissus de la plante, souvent de manière commensale sans causer de dommages. À l'inverse, les bactéries épiphytes se développent à la surface des parties aériennes comme les feuilles et les tiges (Santoyo *et al.*, 2016).

Parmi ces bactéries associées aux plantes médicinales, certaines sont connues pour être pathogènes et provoquent des maladies. C'est le cas par exemple de *Ralstonia solanacearum* qui peut se multiplier rapidement dans le xylème à des densités cellulaires très élevées, entraînant des symptômes de flétrissement et la mort des plantes, *Xanthomonas campestris pathovars*, l'agent causal de la pourriture noire (Mansfield *et al.*, 2012) et *Agrobacterium tumefaciens* identifiée comme agent causal de la tumeur du collet, l'un des maladies des plantes les plus graves affectant diverses espèces dans le monde (Zaltsman *et al.*, 2010).

La figure 01 illustre les principales bactéries associées aux plantes médicinales.

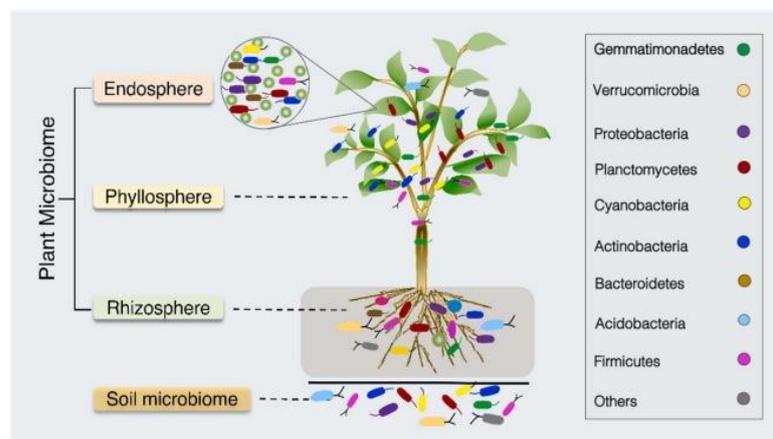


Figure 01 : Interaction plante médicinale-bactéries (Afridi *et al.*, 2022).

III.2. Bactéries promotrices de la croissance des plantes

Les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB) représentent un groupe de microorganismes bénéfiques qui sont capables d'améliorer la croissance des plantes et de les protéger contre le stress et de différentes maladies phytopathologiques (Ramakrishna *et al.*, 2019).

La majorité de ces bactéries peuvent améliorer les caractéristiques de croissance et le rendement dans des conditions naturelles, en produisant des acides aminés et des phytohormones, en fixant l'azote, ainsi qu'en améliorant la disponibilité des nutriments chez de nombreuses plantes soumises à des stress biotique et abiotique (Al Kahtani *et al.*, 2020).

Les PGPB ont aussi la capacité de transformer des sols non fertiles en sols fertiles et d'améliorer l'adaptation des plantes à différents stress comme les maladies, la sécheresse, la salinité, les températures extrêmes et la lumière (Abdelaal *et al.*, 2021) par la production de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC), de gibbérellines et d'acide indole acétique (AIA) (Li *et al.*, 2020 ; García *et al.*, 2017).

Plusieurs bactéries associées aux plantes (phyllobactéries, rhizobactéries) pourraient être en mesure d'exercer des mécanismes bénéfiques tels que le biocontrôle et la promotion de croissance. Le microbiome de la rhizosphère ayant un rôle prépondérant dans la protection des plantes à travers la stimulation du système immunitaire de la plante et le contrôle direct des phytopathogènes potentiels (Orozco *et al.*, 2021). En outre, les phyllobactéries peuvent stimuler le système végétal et favoriser la croissance des plantes (Liu *et al.*, 2020).

Les endophytes bactériens, un ensemble de bactéries symbiotiques qui sont très répandus dans toutes les plantes et qui colonisent les espaces intracellulaires et intercellulaires de la plante hôte sans causer ni de changement morphologique ni d'infection visuelle, sont capables aussi de produire des métabolites actifs secondaires pour protéger les plantes des phytopathogènes, ainsi que des exo-enzymes et des phytohormones qui peuvent soutenir leur croissance en cas de stress biotique et abiotique défavorable (Eid *et al.*, 2019 ; Fouda *et al.*, 2019). Récemment, les endophytes bactériens ont été employés dans divers domaines de la biotechnologie, comme des biofertilisants, afin d'améliorer la production

agricole et de réduire significativement les apports chimiques dans l'environnement (Al Kahtani *et al.*, 2020).

Les phytohormones produites par les bactéries associées aux plantes sont l'un des mécanismes les plus étudiés pour favoriser la croissance des plantes, ce qui entraîne des modifications morphologiques et architecturales chez les plantes hôtes (Khan *et al.*, 2012).

En effet, les PGPB possèdent diverses propriétés biologiques qui peuvent stimuler la croissance des plantes de manière directe ou indirecte :

- **Mécanismes directs** : La croissance des plantes est favorisée par des mécanismes directs tels que la facilitation de l'acquisition de nutriments et la synthèse d'hormones (Glick, 2012), ainsi que la solubilisation des formes insolubles du phosphore par les genres *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* et *Flavobacterium*, particulièrement par le biais de la fabrication de phosphatases acides, qui participent à minéraliser le phosphore organique du sol (Khatoon *et al.*, 2020).

Par ailleurs, les PGPB favorisent la croissance des plantes par production des sidérophores qui sont des substance chélateurs du fer synthétisées par des bactéries qui réduisent le fer (Fe^{3+} en Fe^{2+}) de manière inter et intracellulaire et qui peut être utilisé soit par la bactérie, soit par la plante. Les sidérophores ont une fonction pertinente lorsque le fer est rare dans l'environnement (Santoyo *et al.*, 2019).

La synthèse de phytohormones et d'autres composés volatils ou diffusibles qui modulent la croissance des plantes est une cause pertinente pour les PGPB qui sont candidats à une utilisation comme produits biostimulants dans les cultures agricoles.

Parmi les hormones qui aiguissent la croissance des plantes, les auxines qui ont divers processus physiologiques. Par exemple, l'acide indole acétique (AIA) contribue à des processus tels que la germination des graines, la gravité, la formation de racines latérales et la production de composés pertinents pour le développement de la plante (Santoyo *et al.*, 2019).

• **Mécanismes Indirects** : L'antagonisme du PGPB envers des phytopathogènes potentiels est un mécanisme indirect permettant au PGPB de maintenir la santé et la croissance de la plante. Les PGPB contiennent tout un arsenal d'enzymes et de composés capables d'inhiber ou d'éliminer les agents pathogènes. Par exemple, les sidérophores synthétisés par les bactéries du genre *Pseudomonas* ont la capacité de chélater le fer disponible dans le milieu, le limitant ainsi aux agents pathogènes. Ce mécanisme a été l'un des premiers décrits chez les bactéries favorisant la croissance des plantes et a été rapporté dans diverses études (Orozco *et al.*, 2021). Plusieurs études ont montré que les PGPB ayant une activité antifongique en synthétisant des enzymes, telles que les chitinases, les cellulases et les β -1,3-glucanases, qui peuvent dégrader la paroi cellulaire fongique (Goswami *et al.*, 2016; Hernández *et al.*, 2015).

III.3. Inhibition des phytopathogènes

Les phytopathogènes constituent une grande menace pour la production agricole et forestière puisqu'ils provoquent des maladies ayant un impact économique et environnemental important (Oerke *et al.*, 2006). Actuellement, plusieurs bactéries associées aux plantes médicinales sont utilisées pour éradiquer ces microorganismes (Set *et al.*, 2019).

Ces bactéries présentent divers mécanismes antagonistes envers les phytopathogènes, en particulier les champignons, notamment la compétition spatiale et nutritionnelle, les enzymes hydrolytiques, l'induction de résistance, la synthèse de composés volatils et les biofilms (Safdarpour et Dukare, 2019).

La compétition pour les sites de liaison à la plante et les sources de carbone est l'un des principaux mécanismes antagonistes exercés par les bactéries contre les phytopathogènes (Di Francesco *et al.*, 2016).

A travers un phénomène qui s'appelle le *quorum quenching*, plusieurs PGPB peuvent interférer dans le *quorum sensing* des phytopathogènes à travers la production des inhibiteurs de détection de *quorum*. A titre d'exemple, la funanone affecte la formation de biofilm chez *Pseudomonas aeruginosa* et le processus améliore le détachement bactérien, conduisant à une perte de la production de biomasse bactérienne (Chi *et al.*, 2015).

Les enzymes dégradant la paroi cellulaire, telles que la glucanase, la chitinase, la cellulase et la protéase, sécrétées par plusieurs espèces de PGPB exercent un effet inhibiteur direct sur la croissance de plusieurs phytopathogènes tels que *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* et *Sclerotium rolfsii* (Goswami et al., 2016).

La résistance systémique induite (*Induced Systemic Resistance*, ISR) est le processus par lequel certain nombre de PGPB atténue les effets délétères des agents phytopathogènes en activant les mécanismes de résistance chez les plantes qui vont réagir plus rapidement et plus fortement à une attaque ultérieure de pathogène (Mhatre et al., 2019).

La production d'agents antimicrobiens est un autre mécanisme très efficace des PGPB pour la suppression des effets délétères des phytopathogènes. Parmi les principaux agents produits par les bactéries antagonistes, il y a l'iturine, un puissant peptide antifongique produit par la bactérie *Bacillus subtilis*, la pyrrolnitrine, produite par *Pseudomonas cepacia* et le trichothécène, produit par *Myrothecium roridum* (Carmona-Hernandez et al., 2019).

III.4. Genres bactériens intéressants la pratique agricole

Ces dernières années, l'utilisation d'inoculums contenant des bactéries bénéfiques pour les plantes a connu une croissance significative. Cette tendance s'explique principalement par la volonté de réduire la dépendance aux engrais chimiques et aux pesticides. En effet, ces produits chimiques peuvent être coûteux et avoir des effets néfastes sur l'environnement. Les PGPB, en revanche, offrent une alternative plus durable et respectueuse de l'écosystème en favorisant la croissance et le rendement des plantes tout en minimisant les impacts négatifs sur la nature (Vaxevanidou et al., 2015). Parmi les genres bactériens intéressants la pratique agricole et qui sont associés aux plantes médicinales, nous citons :

III.4.1. *Bacillus*

Les *Bacillus* sont des bâtonnets droits à extrémité carrée ou arrondie, à Gram positif (les cultures âgées peuvent apparaître à Gram négatif), de dimension variable vont de 0,5 par 1,2 µm à 2,5 par 10 µm de diamètre. Leur GC% est de 32 à 69, ils forment des

endospores et le plus souvent mobiles à flagelles péritriches. Ils sont aérobies, parfois facultatifs, et catalase positif (Prescott *et al.*, 2009). Leur classification est la suivante (Larpent, 2000) :

- Règne : *Bacteria*
- Phylum XII : *Proteobacteraia*
- Embranchement : *Firmicutes*
- Classe : *Bacilli*
- Ordre : *Bacillales*
- Famille : *Bacillaceae*
- Genre : *Bacillus*
- Espèce : Comprend 268 espèces et 7 sous-espèces, réparties en 3 groupes sur la base de la morphologie de l'endospore et du corps bactérien.

Les *Bacillus* sont couramment employés en tant que biopesticides, principalement pour combattre les maladies et les insectes nuisibles des plantes (Djellout *et al.*, 2019).

Ils offrent une variété d'avantages en raison de leur nature qui les rend compatibles avec les pratiques d'agriculture biologique et conventionnelle. Comme les autres agents de lutte biologique, les *Bacillus* sont plus éco-amicaux et ont une spécificité accrue envers les pathogènes ciblés (Tijjani *et al.*, 2016). Les bactéries du genre *Bacillus* sont résistantes à des températures élevées et peuvent produire divers antibiotiques. En conséquence, ces bactéries sont souvent utilisées dans le biocontrôle des maladies de nombreuses plantes (Khan *et al.*, 2018). En outre, ces bactéries ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique, de produire des phytohormones et de solubiliser le phosphate ce qui leur confère un rôle important dans la fertilité des sols et la croissance des plantes (Khan *et al.*, 2012).

III.4.2. *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries à Gram négatif qui forment des bâtonnets de 1 à 3 μm de long sur 0,5 à 1,0 μm de diamètre, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes (Palleroni, 2008).

La classification phylogénétique de ce genre est la suivante (Delarras, 2014):

- Règne : *Bacteria*
- Phylum XII : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Pseudomonadales*
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : Comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires dont l'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa*.

Les *Pseudomonas* sont reconnus comme des composés biologiques présents dans les sols agricoles. Ils possèdent des propriétés inhibitrices contre diverses maladies affectant les plantes. De nombreuses études ont mis en évidence la capacité des souches de *Pseudomonas* à améliorer la croissance des plantes et à les protéger contre les pathogènes. Ce groupe bactérien est classé parmi les PGPB qui jouent un rôle bénéfique dans l'enrichissement naturel des sols en nutriments et donc de réduire l'utilisation d'intrants chimiques (Prabhukarthikeyan *et al.*, 2018). De plus, ces bactéries peuvent déclencher chez les plantes un mécanisme appelé tolérance systémique induite, leur permettant de mieux résister à des stress abiotiques comme la sécheresse, la salinité et la présence de métaux lourds (Yang *et al.*, 2009).

III.4.3. *Azotobacter*

Les *Azotobacter* sont des bacilles à Gram négatif, aérobies vivant librement dans le sol, forment des kystes à parois épaisses dans des conditions défavorables, non sporulés et mobiles grâce à des flagelles multiples. Leur teneur en GC% est supérieur à 65%. Elles sont typiquement polymorphes et leur taille varie de 2 à 10 µm de long et de 1-2 µm de large, possèdent une oxydase et une catalase et elles sont connue pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique (Mishra *et al.*, 2024).

Leur classification est la suivante (Rediers *et al.*, 2004):

- Règne : *Bacteria*
- Phylum : *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Pseudomonadales*
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Azotobacter*
- Espèce : Le genre *Azotobacter* est composé de 6 espèces et plus de 10 sous-espèces.

Les *Azotobacter* possèdent la capacité de produire des hormones de croissance végétales telles que les auxines, les gibbérellines et les cytokinines. Parmi ces hormones, l'acide indole-acétique qui joue un rôle primordial dans la régulation de la croissance racinaire. Son action est cruciale pour la division cellulaire, l'élongation des cellules et le développement des fruits. Cette hormone phytohormone exerce ainsi une influence significative sur le cycle de vie et le développement des plantes (Arora *et al.*, 2018).

Des études ont montré que certaines souches d'azotobacters peuvent faciliter l'absorption du potassium et du zinc par les plantes en rendant ces éléments plus solubles et donc plus assimilables pour les végétaux (Singh *et al.*, 2010). Divers processus entrent en jeu dans ce phénomène, notamment la production d'acides organiques (Diep et Hieu, 2013). En outre, les azotobacters sont des bactéries capables de produire des composés anti-fongiques, qui ont la propriété d'empêcher la croissance de certains champignons pathogènes pour les plantes, tels que ceux responsables de la fusariose et du rhizoctone (Baars *et al.*, 2016). Les bactéries du genre *Azotobacter* possèdent aussi la capacité d'accroître la résistance des plantes cultivées face aux stress abiotiques comme la sécheresse, les températures extrêmes, etc (Shirinbayan *et al.*, 2019).

III.4.4. *Streptomyces*

Les *Streptomyces* sont des bactéries filamenteuses à Gram positif, avec des hyphes de longueur variable entre 0,5 à 2,0 µm de diamètre. Ces bactéries sont aérobies strictes, se développent grâce à leur croissance mycélienne et leur capacité de sporulation. Leur teneur

en CG est de 69 à 78 %. Elles sont connues pour sa production de composés bioactifs utiles (Gopalakrishnan *et al.*, 2020 ; Kekuda *et al.*, 2014). Leur classification est la suivante (Gopalakrishnan *et al.*, 2020):

- Règne: *Bacteria*
- Phylum : *Actinobacteria*
- Classe : *Actinobacteria*
- Ordre : *Actinomycetales*
- Famille : *Streptomycetaceae*
- Genre : *Streptomyces*
- Espèce : Comprend plus de 500 espèces présentes dans le sol et l'eau. Elles se différencient par la micromorphologie et la couleur de leurs spores, leur pigmentation et la composition de la paroi cellulaire.

Le genre bactérien *Streptomyces* est réputé pour sa capacité à synthétiser une vaste gamme de composés bioactifs organiques. Ces composés peuvent avoir des effets directs ou indirects sur la croissance et le développement végétal, ainsi que des propriétés antimicrobiennes (Viaene *et al.*, 2016). À titre d'exemple, la souche *Streptomyces yanglinensis* synthétise des substances organiques naturelles qui ont la capacité d'inhiber la croissance du champignon *Aspergillus flavus* ainsi que la production des mycotoxines qu'il sécrète habituellement (Gong *et al.*, 2022).

Streptomyces joue un rôle important dans l'amélioration de la fertilité des sols. Son influence positive sur divers facteurs et sa capacité à libérer des nutriments contribuent à enrichir les sols. Ces bactéries agissent comme des agents fertilisants naturels, favorisant ainsi la croissance des plantes et la productivité agricole (Vurukonda *et al.*, 2018).

III.4.5. *Azospirillum*

Les *Azospirillum* sont des bacilles incurvés en forme de virion ou d'hélice à Gram négatif, de dimension variable vont de 0,6 à 0,7 µm de diamètre. Leur GC% est de 65 à 70 %, très mobile grâce à un ou plusieurs flagelles. Ils sont microaérophiles et catalase positif

(Steenhoudt *et al.*, 2000). Leur classification est la suivante (Roley *et al.*, 2015 ; Garrity *et al.*, 2005):

- Règne : *Bacteria*
- Phylum : *Proteobacteria*
- Classe : *Alphaproteobacteria*
- Ordre : *Rhodospirillales*
- Famille : *Rhodospirillaceae*
- Genre : *Azospirillum*
- Espèce : Comprend 8 espèces principales et 4 sous-espèces, réparties en 4 groupes selon sa proximité génomique.

La bactérie *Azospirillum* est présente dans la zone entourant les racines des plantes (rhizosphère). Elle peut réduire la sensibilité des plantes aux maladies causées par des agents pathogènes. D'autre part, la capacité d'*Azospirillum* à produire des phytohormones telles que l'acide indole-3-acétique et d'autres molécules secondaires a été suggérée comme étant à l'origine de la stimulation de la croissance des plantes après leur inoculation avec ces bactéries. L'*Azospirillum* contribue également à atténuer les effets du stress chez les plantes (Rodrigues *et al.*, 2015).

Chapitre II :

Matériel

et

Méthodes

Les travaux expérimentaux de la présente étude ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université 8 Mai 1945 Guelma.

I. Matériel végétal

I.1. Site d'échantillonnage

L'échantillonnage des plantes médicinales a été effectué au niveau de la région de Ben Djerrah ($36^{\circ} 25' 56''$ N, $7^{\circ} 22' 7''$ E), wilaya de Guelma, Algérie (Fig. 02). Cette région est une commune rurale située à environ 35 km au Sud-ouest de la ville de Guelma. Enclavée au cœur de la région montagneuse des Babors, elle est limitée au Nord par Hammam Debagh, au Sud par Ain Larbaâ, à l'Est par Oued Zhour et à l'Ouest par Ain Makhlouf. Son environnement est essentiellement montagneux et l'agriculture, en particulier la culture du blé, représente l'activité économique majeure pour la région. Ben Djerrah se caractérise par un climat méditerranéen, chaud en été et froid en hiver. La température annuelle moyenne varie de 4°C à $35,4^{\circ}\text{C}$, avec une moyenne de $17,3^{\circ}\text{C}$ (Station météorologique, Guelma).

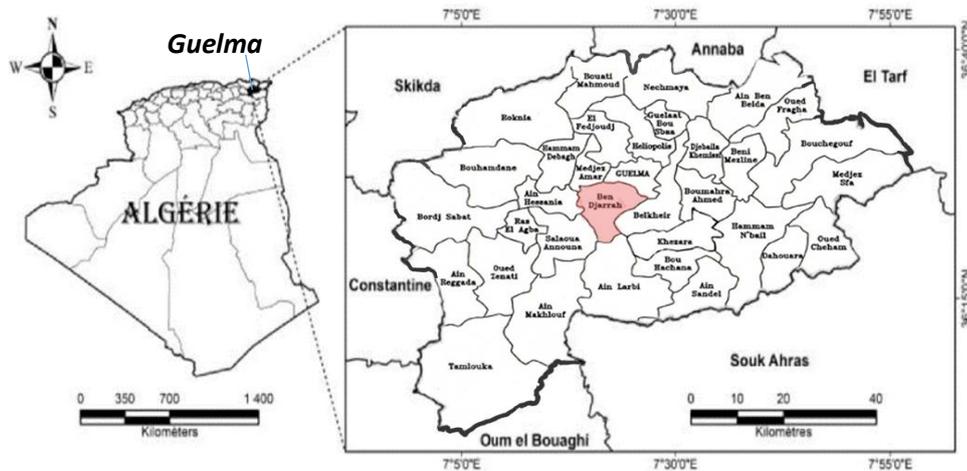


Figure 02 : Localisation de la région d'échantillonnage (zone colorée) (Soltani *et al.*, 2019).

I.2. Plantes médicinales choisies

Deux plantes médicinales sont utilisées dans la présente étude, l'ail *Allium sativum* L. et l'origan *Origanum vulgare* L.

L'ail et l'origan ont une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Par conséquent, les bactéries présentes au niveau des racines de ces plantes pourraient jouer un rôle crucial dans la protection contre les pathogènes ou la promotion de la croissance des plantes. L'étude approfondie des caractéristiques de ces bactéries permettra ainsi de mieux comprendre les interactions complexes entre la flore bactérienne et les plantes médicinales.

Les plantes ont été collectées pendant le mois de février 2024 sur des champs cultivés situés dans la région de Ben Djerrah. L'identification botanique des espèces a été confirmée par des botanistes de différentes universités.

La description botanique et l'usage de ces deux plantes sont présentés dans le tableau 01.

Tableau 01 : Description et usage des plantes médicinales utilisées.

Plante médicinale	Description botanique	Habitat	Importance et usage	Partie utilisée	Référence
<p>Nom Commun : Ail</p> <p>Nom scientifique : <i>Allium sativum</i> L.</p> <p>Famille : <i>Amaryllidaceae</i></p> <p>Sous-famille : <i>Allioideae</i></p>	<p>Plante à feuilles vertes pâles, planes, longues et étroites. La tige, partant du milieu du bulbe, est cylindrique et creuse. Son bulbe, appelé tête, est composé de nombreuses gousses appelées cayeux.</p>	<p>Originaire d'Asie centrale, naturalisé en Europe et cultivé dans toutes les régions tempérées.</p>	<p>L'ail est reconnu pour ses propriétés hypotensives, son action pour faire baisser le taux de cholestérol et la glycémie, ainsi que sa prévention contre les maladies cardiovasculaires. Il possède également des propriétés antiseptiques et bactéricides.</p>	<p>Feuilles et bulbes</p>	<p>Khan et al. (2022)</p> <p>Tudu et al. (2022)</p>

Suite du Tableau 01 :

Plante médicinale	Description botanique	Habitat	Importance et usage	Partie utilisée	Référence
<p>Nom Commun : Origan commun</p> <p>Nom scientifique : <i>Origanum vulgare</i> L.</p> <p>Famille : <i>Lamiaceae</i></p> <p>Sous-famille : <i>Nepetoideae</i></p>	<p>plante herbacée vivace, poilue et aromatique. Les tiges rouges, à section carrée, sont velues avec des feuilles ovales ou elliptiques et vaguement denticulées. Les fleurs, roses, forment des épis ovoïdes agglomérés au sommet des rameaux, créant une panicule.</p>	<p>L'origan pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires et, fleurit.</p>	<p>L'origan est reconnu pour ses propriétés anti-microbiennes, ainsi que pour ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antiarthritiques, antiallergiques, anticancérigènes, antidiabétiques. Aussi, c'est un agent cardioprotecteur, gastroprotecteur, hépatoprotecteur et neuroprotecteur.</p>	<p>Feuilles et partie aérienne</p>	<p>Alam et al. (2016)</p> <p>Skoufogianni et al. (2019)</p>

La figure 03 illustre les deux plantes médicinales utilisées dans la présente étude.

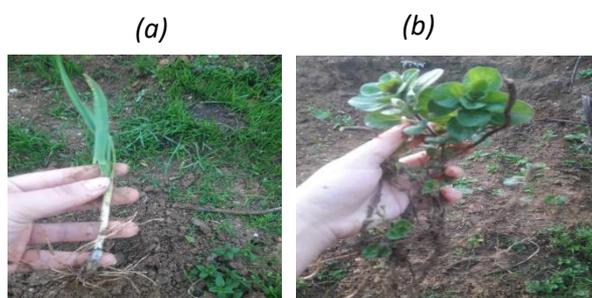


Figure 03 : Photographies des plantes médicinales (a) *Allium sativum* L. et (b) *Origanum vulgare* L. (Photos prises par Malki et Nahal).

II. Isolement des bactéries à partir des racines de deux plantes médicinales

Des racines d'ail et d'origan de taille uniforme, exemptes de symptômes visibles de maladie ou de dommages physiques, ont été collectés. Les racines trop matures ou trop jeunes ont été exclues (Sánchez-López *et al.*, 2018). Le prélèvement des racines s'est fait de manière aléatoire afin d'obtenir un échantillon représentatif. Tous les échantillons ont été soigneusement placés dans des sacs, puis transportés au laboratoire dans une glacière. Ils ont ensuite été soumis à un traitement ultérieur dans les 24 heures suivant la collecte.

II.1. Isolement des bactéries épiphytes

Les bactéries épiphytes sont capables de vivre sur les surfaces des différentes parties de la plante. La flore associée à la surface des feuilles est dénommée : phyllobactérie, alors que celles associée aux racines est appelées : rhizobactéries epiphytiques (Beattie, 2006).

Afin d'isoler les bactéries épiphytes des racines, la technique décrite par Sánchez-López *et al.* (2018) a été utilisée :

- Prendre environ 250 mg de racines fraîches ;
- Laver les racines avec l'eau de robinet puis avec de l'eau distillée stérile en agitant pendant 1 min ;
- Ensemencer les géloses Luria Bertani (LB), Gélose Nutritive (GN) et King B ;
- Incuber à 30°C pendant 48 h.

Les colonies présentant des aspects macroscopiques différents sont repiquées sur le même milieu d'isolement. Une observation microscopique après coloration de Gram a été réalisée pour tous les isolats bactériens.

II.2. Isolement des bactéries endophytes

Les bactéries endophytes résident très souvent dans les cellules végétales vivantes sans nuire à leurs hôtes et contribuent souvent, en fait, de manière significative à leur survie et à leur physiologie. Ils font partie du microbiote des plantes, également appelé phytobiome (Yu *et al.*, 2013).

L'isolement des bactéries endophytes a été réalisé selon la technique suivante (Kurabachew et Wydra, 2013):

- Rincer les racines à l'eau courante puis à l'eau distillée afin d'éliminer les particules de sol et de poussière ;
- Immerger les racines successivement dans l'éthanol à 70 % pendant 30 secondes, puis dans de l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 5 % pendant 3 minutes puis laver quatre fois avec de l'eau distillée stérile afin de stériliser la surface ;
- Une aliquote de 100 ml a été prélevée du lavage final pour être inoculée dans un bouillon nutritif à 28°C pendant 24 heures pour tester l'efficacité du processus de désinfection ;
- Tremper les racines dans une solution de d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3) à 10 % (15 min) afin de perturber et d'inhiber la croissance des champignons endophytes ;
- Couper les racines en petits morceaux, puis broyées à l'aide d'un mortier stérile ;
- Transférer les broyats à des flacons contenant 90 ml d'eau physiologique stérile ;
- Pour assurer le bon détachement des bactéries endophytes, les flacons sont mis en agitation à 180 rpm pendant une heure à température ambiante ;
- Des aliquotes de 50 μl sont étalés à la surface de 3 milieux de culture gélosés LB, GN, King B;
- Incuber à 30°C pendant 48 h.

Les colonies présentant des aspects macroscopiques différents sont repiquées sur le même milieu d'isolement. Une observation microscopique après coloration de Gram a été réalisée pour tous les isolats bactériens.

Remarque : La composition de tous les produits et les milieux de culture utilisés dans la présente étude est présentée en annexe.

III. Caractérisation fonctionnelle des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales

III.1. Caractérisation enzymatique

La recherche des enzymes respiratoires et la mise en évidence de la capacité des isolats à dégrader l'urée, l'amidon, les protéines et les esters ont été effectuées en utilisant diverses techniques, comme indiqué dans le tableau 02.

Tableau 02 : Techniques de la caractérisation enzymatique des isolats bactériens.

Enzyme	Technique	Référence
Catalase	<ul style="list-style-type: none"> • Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur ; • Prélever un fragment de la colonie à étudier et dissocier la dans la goutte ; • Une réaction positive se traduit par la présence de bulles d'air révélant un dégagement d'oxygène. 	Joffin et Leyral (2001)
Oxydase	<ul style="list-style-type: none"> • Déposer le disque d'oxydase sur une lame propre, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile ; • Ecraser la colonie testée sur le disque ; • Une coloration violette indique la présence de l'enzyme oxydase. 	Joffin et Leyral (2001)
Uréase	<ul style="list-style-type: none"> • Introduire une suspension dense de bactéries dans le milieu Urée-Indole; • Après incubation, une couleur rouge rose indique une réaction d'uréase positive 	Mazzei et al. (2020)
Amylase	<ul style="list-style-type: none"> • Ensemencer l'isolat bactérien sur un milieu gélosé à base d'amidon; • Incuber les boîtes pendant 5 jours à 28°C; • Inonder la culture par le lugol, l'apparition d'halo indique une réaction positive. 	khan et yadv (2011)
Protéase	<ul style="list-style-type: none"> • Ensemencer l'isolat bactérien sur un milieu gélosé à base de caséine; • Incuber les boîtes pendant 5 jours à 28°C; • La présence d'une zone claire entourant la croissance bactérienne traduit la présence d'une activité protéolytique (caséine) dans le milieu de culture 	Anisha et al. (2017)
Estérase	<ul style="list-style-type: none"> • Ensemencer l'isolat bactérien sur un milieu gélosé au tween; • Incuber les boîtes pendant 5 jours à 28°C; • L'apparition d'halo autour des colonies indique la présence de l'estérase. 	Sousa et al. (2015)

III.2. Croissance à différentes températures

La température joue un rôle crucial dans la croissance des bactéries. L'adaptation des isolats bactériens épiphytes et endophytes à différentes températures revêt une importance capitale pour la survie des plantes hôtes dans des conditions climatiques changeantes. Ces bactéries contribuent également à la résistance des plantes face aux stress thermiques (Gulboev *et al.*, 2022).

L'ensemble des isolats bactériens sont mises en cultures sur le milieu LB dans des boites de pétris et incubés à différentes températures (4, 28, 37 et 44°C).

III.3. Activités de promotion de la croissance des plantes (*Plant-Growth-Promoting Bacteria*, PGPB)

III.3.1. Production d'acide indole acétique (AIA)

L'acide indole acétique (AIA) appartient à la classe des phytohormones qui sont impliqués dans la régulation de la croissance et du développement des plantes tout au long de leur cycle de vie (Biswas *et al.*, 2000).

La production d'AIA a été recherchée selon la méthode décrite par Bric *et al.* (1991) :

- Cultiver les isolats bactériens (1% d'une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml) dans 50 ml d'un bouillon nutritif (LB) additionné de 1 mg/ml de L-Tryptophane à 30°C pendant 72 h sous agitation ;
- Centrifuger la culture à 10 000 ×g pendant 6 min ;
- Le surnageant de culture clair a été analysé pour les composés liés à l'indole en mélangeant 1 ml de surnageant de culture avec 2 ml de réactif de Salkowski suivi d'une incubation à température ambiante pendant 25 minutes à l'obscurité ;
- La couleur rosâtre formée a été mesurée pour l'absorbance à 530 nm de longueur d'onde par spectrophotométrie UV.
- La quantité des composés indoliques est déduite à partir d'un courbe étalon tracé en utilisant l'AIA authentique. Trois répétitions sont réalisées pour chaque isolat.

II.3.2. Effets des isolats bactériens sur la germination et la croissance des graines de blé, tomate et tournesol

Cinq isolats bactériens ont été sélectionnés pour les expériences de promotion de la croissance des plantes sur la base de la production la plus élevée d'AIA.

Pour la détermination du pourcentage de germination et les expériences de croissance des graines, nous avons utilisé des graines de blé, tomate et tournesol. Ces graines ont été stérilisées en surface par trempage dans de l'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 2 minutes puis lavées trois fois avec de l'eau distillée stérile.

Selon la méthode décrite par [Kabir et al. \(2023\)](#):

- Cultiver les isolats bactériens sélectionnés dans des fioles coniques contenant chacune 200 ml de bouillon peptone de levure pendant 48 h à 30°C ;
- Centrifuger les cellules bactériennes à 10 000 ×g pendant 4 minutes et lavées trois fois avec du tampon phosphate stérile 60 mM pH 6,5 en centrifugeant à 6000 × g pendant 10 min. Les cellules bactériennes sont restées en suspension dans l'eau.
- Remettre en suspension les culots cellulaires dans un tampon phosphate afin d'obtenir une concentration cellulaire de 10⁸ UFC/ml pour l'inoculation de semences.
- Tremper les graines dans une suspension bactérienne sélectionnée (10⁸ CFU/ml) et inoculées dans une boîte de Pétri sur une couche de papier stérile à 25 °C.
- Utiliser des graines imbibées de tampon phosphate 60 mM (pH 6,8) au lieu de la suspension bactérienne comme témoin.
- Le pourcentage de germination a été enregistré dans le temps. Il a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ germination} = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines plantées}}$$

- La longueur (cm) et le poids (g) des racines et des pousses ont été mesurée après 15 jours.

IV. Identification phénotypique de quelques isolats

L'identification de certains isolats bactériens a été effectuée en se basant sur l'ensemble des caractéristiques étudiées précédemment. À cela s'ajoute une analyse de l'utilisation des composés glucidiques. La capacité des isolats à métaboliser divers substrats a été démontrée en observant leur réaction face aux substrats glucidiques suivants : glucose, mannose, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdaline, arabinose, mannitol et maltose (Tab.03). L'utilisation de ces différents substrats glucidiques est révélée grâce à un indicateur de pH par changement de couleur du bleu au jaune.

Tableau 03 : Substrats glucidiques utilisés pour l'identification de certains isolats bactériens.

Sucre	Structure et dégradation par les bactéries	Référence
Glucose	Monosaccharide ($C_6H_{12}O_6$), dégradé par la voie de la glycolyse.	Yang <i>et al.</i> (2021)
Mannose	Monosaccharide ($C_6H_{12}O_6$), catalysé en fructose par l'enzyme mannose-6-phosphate isomérase.	Chateigner-Boutin <i>et al.</i> (2020)
Inositol	Polyalcool ($C_6H_{12}O$), dégradé par plusieurs enzymes en différents métabolites exemple : le myo-inositol-1-phosphatase donne l'acide myo-inositol-1-phosphate.	Madigan <i>et al.</i> (2018)
Sorbitol	Sucre-alcool ($C_6H_{14}O_6$), transformé en sorbose par l'enzyme sorbitol déshydrogénase ; le sorbose est ensuite dégradé en fructose par une céto-isomérase.	Zhang <i>et al.</i> (2020)
Rhamnose	Monosaccharide ($C_6H_{12}O_5$), dégradé par la rhamnosidase et l'aldose déshydrogénase pour former un acide aldaronique.	Yoshiwara <i>et al.</i> (2021)
Saccharose	Disaccharide ($C_{12}H_{22}O_{11}$), dégradé par l'invertase en glucose et fructose.	Joffin et Leyral (2001)
Mélibiose	Disaccharide ($C_{12}H_{22}O_{11}$), dégradé par la mélibiose en glucose et galactose.	Joffin et Leyral (2001)
Amygdaline	Glycoside ($C_{20}H_{27}O_{11}$), hydrolysé par la β -glucosidase en deux molécules de glucose, un dérivé du benzaldéhyde et du cyanure d'hydrogène.	Barakat <i>et al.</i> (2022)
Arabinose	Sucre aldopentose ($C_5H_{10}O_5$), converti en D-xylulose-5-phosphate par la ribulose épimérase.	Crozier <i>et al.</i> (2021)
Mannitol	Sucre-alcool ($C_6H_{14}O_6$), dégradé en fructose par la mannitol déshydrogénase.	Watanabe <i>et al.</i> (2003)
Maltose	Sucre diholoside ($C_{12}H_{22}O_{11}$), hydrolysé par la maltase en deux molécules de glucose.	Joffin et Leyral (2001)

V. Analyse statistique

Afin de comparer la capacité des isolats bactériens à produire l'AIA et à améliorer la germination des graines, les résultats sont soumis au test ANOVA à un critère (AV1) (La normalité des distributions a été évaluée préalablement par la valeur W de Shapiro-Wilk's, les distributions étant la plupart du temps symétriques). Les différences ont été considérées significatives à une probabilité $P \leq 0,05$. L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique SPSS 25.0.

La figure 04 illustre le protocole expérimental réalisé dans la présente étude.

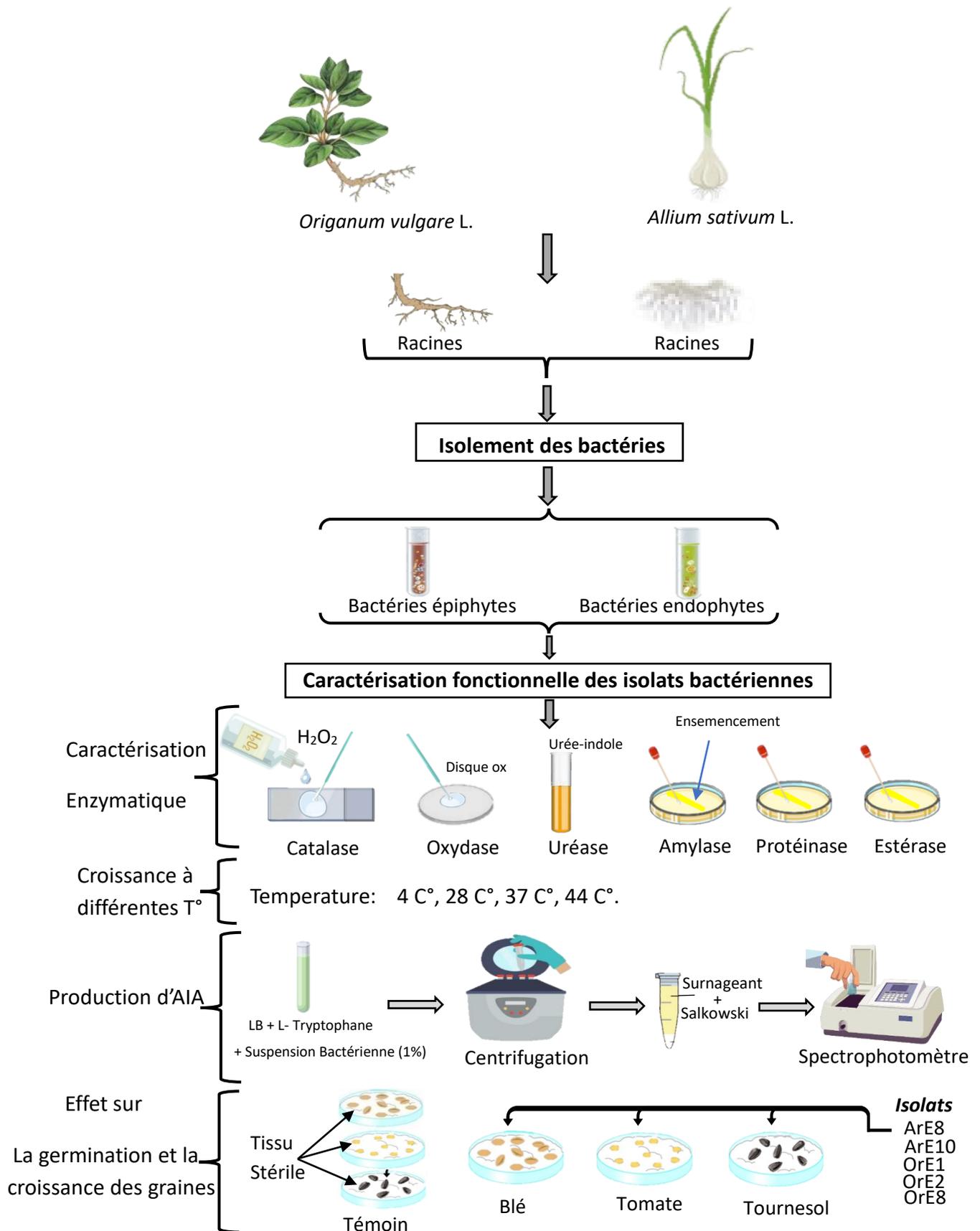


Figure 04 : Caractérisation fonctionnelle des bactéries isolées à partir des racines de deux plantes médicinales.

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Caractérisation morphologique des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales

La présente étude a permis d'isoler 18 souches bactériennes à partir des racines de deux plantes médicinales choisies. Globalement, 10 isolats sont obtenus à partir d'*Allium sativum* L. et 08 isolats à partir d'*Origanum vulgare* L. (Tableaux 04 et 05). Le criblage réalisé par observation à l'œil nu et au microscope optique montre que les isolats présentent des morphologies macroscopiques et microscopiques moyennement diversifiées (Figure 05).

Tableau 04: Caractérisation morphologique des bactéries épiphytes des racines de deux plantes médicinales.

Plante médicinale	Code de la souche	Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
<i>Allium sativum</i> L.	ArE1	King B	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, bombées et à bord régulier.	Bacilles à Gram (-)
	ArE2	GN	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	ArE3	GN	Colonies lisses, jaunâtres, bombées et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	ArE4	LB	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	ArE5	LB	Colonies lisses, jaunâtres, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
<i>Origanum vulgare</i> L.	OrE1	King B	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, bombées et à bord régulier.	Bacilles à Gram (+)
	OrE2	GN	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord régulier.	Forme coccoïdes à Gram (+)
	OrE3	LB	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, bombées et à bord régulier.	Bacilles à Gram (+)

GN : Gélose nutritive ; LB : Luria Bertani ; (+) : positif ; (-) : négatif.

Tableau 05: Caractérisation morphologique des bactéries endophytes des racines de deux plantes médicinales.

Plante médicinale	Code de la souche	Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
<i>Allium sativum</i> L.	ArE6	King B	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord irrégulier.	Coccobacilles à Gram (-)
	ArE7	King B	Colonies rugueuses, blanchâtres et à bord irrégulier.	Coccobacilles à Gram (-)
	ArE8	GN	Colonies rondes, blanchâtre, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	ArE9	GN	Colonies rugueuses, blanchâtres et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	ArE10	LB	Colonies rugueuses, blanchâtres, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
<i>Origanum vulgare</i> L.	OrE4	King B	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, bombées et à bord régulier.	Bacilles à Gram (-)
	OrE5	King B	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord régulier.	Bacilles à Gram (+)
	OrE6	GN	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, bombées et à bord régulier.	Bacilles à Gram (-)
	OrE7	GN	Colonies rugueuses, blanchâtres, plates et à bord irrégulier.	Bacilles à Gram (+)
	OrE8	LB	Colonies lisses, rondes, blanchâtres, plates et à bord régulier.	Bacilles à Gram (+)

GN : Gélose nutritive ; LB : Luria Bertani ; (+) : positif ; (-) : négatif

La figure 05 illustre l'aspect macroscopique et microscopique de certains isolats bactériens.

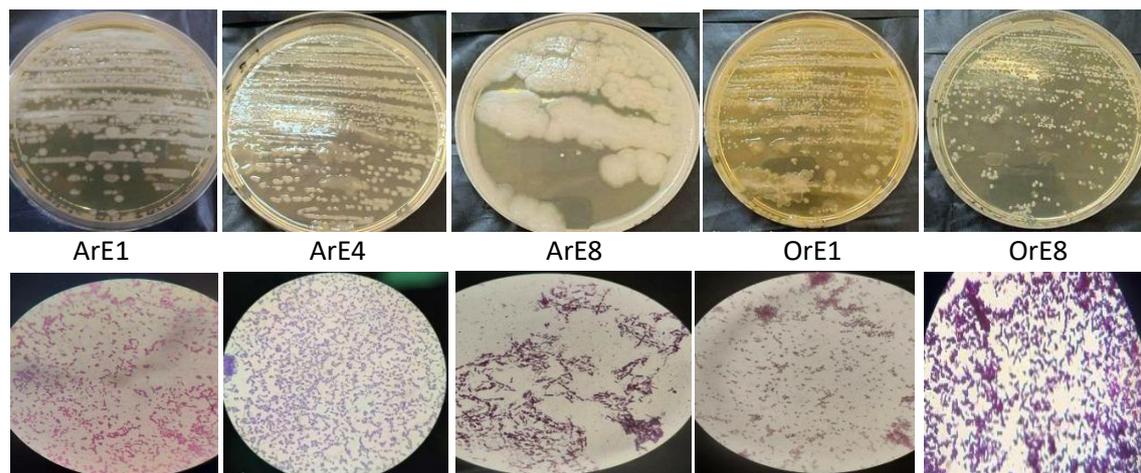


Figure 05: Aspect macroscopique et microscopique de quelques isolats épiphytes et endophytes des racines d'*Allium sativum* L. et d'*Origanum vulgare* L.

Selon ces résultats préliminaires, les bacilles à Gram positif sont les plus dominants, ils représentent 70 % chez *Allium sativum* L. et 62,5 % chez *Origanum vulgare* L. La diversité bactérienne épiphyte et endophyte au niveau des racines des plantes étudiées peut être un bio-indicateur robuste et sensible pour décrire la qualité bactériologique de ces organes, comme elle peut être le résultat d'une réponse de défense induite par des molécules associées aux agents pathogènes (Cui *et al.*, 2008).

Selon Wang *et al.* (2019), la diversité des bactéries épiphytes et endophytes isolées à partir des plantes dépend de la rhizosphère et du milieu de culture utilisé pour l'isolement.

Nos résultats sont en concordance avec les travaux de Costa-Junior *et al.* (2020) qui ont isolé 48 bactéries à partir des racines d'ail dont les bacilles à Gram positif sont les prédominants avec un taux de 48 %. En revanche, Semenzato *et al.* (2022), a révélé l'existence d'une grande biodiversité au niveau des souches isolées à partir de l'origan et la prédominance des bacilles à Gram négatif est représentés par le genre *Pseudomonas*.

II. Caractérisation fonctionnelle des isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales

II.1. Caractérisation enzymatique

Le tableau 06 présente les résultats de la caractérisation enzymatique de tous les isolats bactériens. Les isolats ont montré leur capacité à produire au moins quatre des enzymes

recherchées. Tous les isolats (100 %) possèdent une catalase, une amylase, une protéase et une estérase. Par ailleurs, 72,22 % des isolats ont une oxydase et 55,56 % possèdent une uréase.

Tableau 06 : Caractérisation enzymatique des isolats bactériens.

	Isolats	Catalase	Oxydase	Uréase	Amylase	Protéase	Estérase
Bactéries épiphytes	ArE1	+	-	-	+	+	+
	ArE2	+	-	+	+	+	+
	ArE3	+	-	+	+	+	+
	ArE4	+	+	+	+	+	+
	ArE5	+	-	-	+	+	+
	OrE1	+	-	-	+	+	+
	OrE2	+	+	+	+	+	+
	OrE3	+	+	-	+	+	+
Bactéries endophytes	ArE6	+	+	+	+	+	+
	ArE7	+	+	+	+	+	+
	ArE8	+	+	-	+	+	+
	ArE9	+	+	+	+	+	+
	ArE10	+	+	+	+	+	+
	OrE4	+	+	-	+	+	+
	OrE5	+	+	-	+	+	+
	OrE6	+	+	+	+	+	+
	OrE7	+	+	+	+	+	+
	OrE8	+	+	-	+	+	+

(+) : test positif ; (-) : test négatif

La figure 06 illustre les résultats des tests enzymatiques de l'isolat bactérien ArE6.

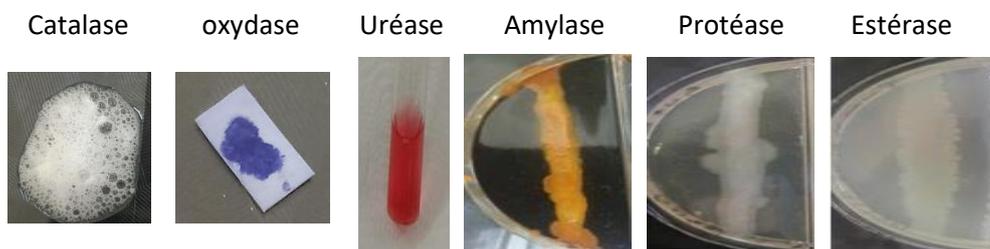


Figure 06 : Tests enzymatiques de l'isolat bactérien ArE6.

Les bactéries épiphytes et endophytes des racines de plusieurs plantes secrètent diverses enzymes pour survivre et prospérer dans différents environnements (Sharma *et al.*, 2021). Actuellement, ces micro-organismes font l'objet d'une attention croissante en tant que

source de nouvelles enzymes, puisque ces dernières sont relativement plus stables et actives par rapport aux enzymes correspondantes dérivées des plantes ou des animaux (Castro *et al.*, 2014).

Dans la présente étude, tous les isolats bactériens des racines d'*Allium sativum* L. et d'*Origanum vulgare* L. possèdent l'enzyme catalase et donc ayant l'utilité de se protéger contre les dommages oxydatifs en décomposant le peroxyde d'hydrogène, un sous produit toxique du métabolisme, en eau et en oxygène (Droge, 2002).

À l'exception des isolats ArE1, ArE2, ArE3, ArE5 et OrE1, toutes les bactéries secrètent le cytochrome oxydase. Ce dernier joue un rôle clé dans la chaîne de transport d'électrons, essentielle pour la respiration cellulaire des bactéries ce qui leur permet de convertir efficacement les nutriments en énergie. En effet, les bactéries qui produisent des oxydases peuvent interagir avec les plantes de manière symbiotique, aidant ainsi les plantes à mieux absorber les nutriments (Yousef-Coronado *et al.*, 2008).

Plus de la moitié des isolats bactériens de la présente étude possède une uréase qui permet à la bactérie de décomposer l'urée, une source d'azote courante dans le sol, en ammoniac et dioxyde de carbone. Ce processus libère de l'azote sous une forme directement assimilable par les plantes. Donc, en convertissant l'urée en ammoniac, les bactéries aident à améliorer la nutrition azotée des plantes, ce qui est essentiel pour la synthèse des protéines et d'autres composés vitaux. L'uréase peut également aider les plantes à mieux résister aux conditions de stress telles que la sécheresse ou la salinité, en facilitant une meilleure gestion de la fertilisation azotée. En effet, les bactéries qui produisent de l'uréase peuvent établir une symbiose bénéfique avec les plantes, contribuant ainsi à leur santé globale et à leur productivité (Tosi *et al.*, 2021).

Tous les isolats bactériens de la présente étude produisent de l'amylase, la protéase et l'estérase. L'amylase permet aux bactéries de décomposer l'amidon présent dans les débris végétaux en sucres simples, qui peuvent ensuite être utilisés par les plantes comme source d'énergie et par conséquent cela conduit à une augmentation du rendement agricole. Les bactéries productrices d'amylase peuvent également jouer un rôle dans le biocontrôle en limitant la croissance de pathogènes fongiques grâce à la compétition pour les ressources nutritives comme l'amidon (Agrawal et Bhatt, 2023).

Les bactéries sécrètent des protéases dans le milieu afin de subvenir à ses besoins en azote et en acides aminés à partir des protéines. Les protéases hydrolysent alors les protéines et les polypeptides en acides aminés, qui sont ensuite transportés à l'intérieur de la cellule pour être métabolisés. Cela facilite ainsi l'absorption des acides aminés par les plantes, contribuant ainsi à leur nutrition et à leur croissance. Les protéases produites par les bactéries épiphytes et endophytes peuvent aussi jouer un rôle dans le biocontrôle en dégradant les protéines des agents pathogènes, limitant ainsi leur prolifération et protégeant les plantes contre les maladies (Eljounaidi *et al.*, 2016).

Les estérases permettent aux bactéries de décomposer les esters, qui sont des composés organiques présents dans les sécrétions végétales ou les débris de plantes. Cela peut libérer des acides et de l'alcool, qui peuvent être utilisés comme sources de carbone et d'énergie par les bactéries et les plantes. Les estérases peuvent jouer un rôle dans la défense des plantes en dégradant les parois cellulaires des pathogènes ou en libérant des composés qui stimulent les réponses immunitaires des plantes (Agrawal et Bhatt, 2023).

Nos résultats sont en accord avec plusieurs rapports précédents qui ont illustré les endophytes et les épiphytes isolés à partir des plantes médicinales comme producteurs d'amylase, de protéinase et d'estérase (Nxumalo *et al.*, 2020; Maggini *et al.*, 2019; Zaferanloo *et al.*, 2013).

II.2. Croissance à différentes températures

Afin de faciliter l'analyse des résultats, la capacité de croissance des isolats bactériens à différentes température a été classée en quatre niveaux :

- (-) : Pas de croissance ;
- (++) : Nombre de colonies <300 unités formant colonie ;
- (+++) : Nombre de colonies >300 unités formant colonie ;
- (++++) : Une nappe.

Tous les isolats sont capables de se croître à 28°C, 37°C et à 44°C. Il est clair que le taux de croissance des isolats est très influencé par l'augmentation de la température. Seules les bactéries épiphytes des deux plantes médicinales sont capables de croître à 4°C (Tab.07).

Tableau 07: Croissance des isolats bactériens à différentes températures.

	Isolats	4°C	28°C	37°C	44°C
Bactéries épiphytes	ArE1	+++	+++	+++	++++
	ArE2	+++	+++	+++	++++
	ArE3	+++	+++	+++	++++
	ArE4	+++	+++	+++	++++
	ArE5	+++	+++	+++	++++
	OrE1	++	+++	+++	++++
	OrE2	++	+++	+++	++++
	OrE3	++	+++	+++	++++
Bactéries endophytes	ArE6	-	+++	+++	++++
	ArE7	-	+++	+++	++++
	ArE8	-	+++	+++	++++
	ArE9	-	+++	+++	++++
	ArE10	-	+++	+++	++++
	OrE4	-	+++	+++	++++
	OrE5	-	+++	+++	++++
	OrE6	-	+++	+++	++++
	OrE7	-	+++	+++	++++
	OrE8	-	+++	+++	++++

La figure 07 illustre la capacité de croissance à différentes températures de certains isolats bactériens.

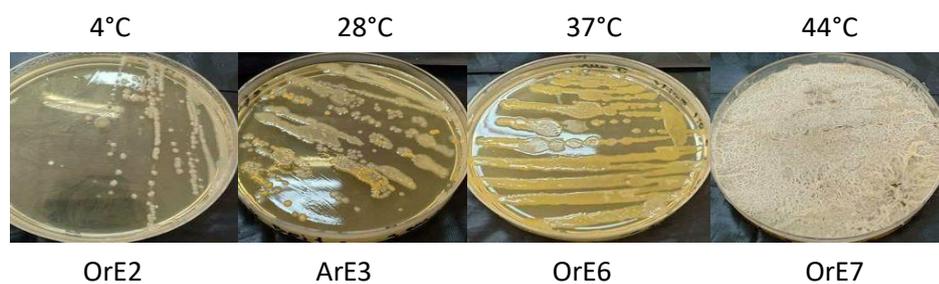


Figure 07 : Croissance de certains isolats bactériens à différentes températures.

La température est un facteur crucial pour le développement et la croissance microbienne et l'évaluation de son effet sur les bactéries épiphytes et endophytes des plantes est d'une grande importance scientifique et pratique (Gulboev *et al.*, 2022).

Comme le montre le tableau 07, les bactéries d'*A. sativum* L. et d'*O. vulgare* L. ont la capacité de se développer à un certain niveau à toutes les températures testées avec une multiplication active à 44°C. D'après Stokke *et al.* (2012), une température supérieure à 15°C favorise le développement des biomasses microbiennes tandis qu'une température inférieure à 10°C ralentit les réactions chimiques et donc la formation des communautés bactériennes.

En revanche, une incapacité des isolats endophytes à se multiplier à 4°C a été démontrée dans la présente étude. Les travaux de Gulboev *et al.* (2022) confirment que la croissance des bactéries endophytes s'améliore jusqu'à 30-32°C. Pour comprendre l'effet spécifique de la température sur les communautés endophytiques, Campisano *et al.* (2017) ont contrôlé la composition et la réponse dynamique des bactéries endophytes à différentes températures. Les résultats ont révélé que l'augmentation de la diversité et les modifications de la communauté bactérienne associée aux racines dépendent de l'augmentation de la température ce qui suggère une réponse plus lente des communautés endophytiques racinaires aux basses températures.

II.3. Activités de promotion de la croissance des plantes (*Plant-Growth-Promoting Bacteria*, PGPB)

II.3.1. Production d'acide indole acétique (AIA)

Après l'addition du réactif de Salkowski aux surnageants, l'intensité de la couleur rose indique que tous les isolats bactériens de l'*A. sativum* L. et de l'*O. vulgare* L. sont capables de produire l'AIA (Fig. 08).

Globalement les concentrations moyennes d'AIA enregistrées varient de 55,74±0,01 à 65,2±0,02 µg/ml. Les isolats produisant des auxines avec une concentration supérieure à 60 µg/ml constituent 90 % des isolats d'*A. sativum* L. (Fig. 09) et 87,5 % des isolats d'*O. vulgare* L. (Fig.10). Les isolats ArE10 et OrE1 produisent les concentrations d'AIA les plus élevées

($65,2 \pm 0,02$ et $64,51 \pm 0,01$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement). L'application du test AV1 montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre les isolats bactériens des deux plantes médicinales ($p > 0,05$).

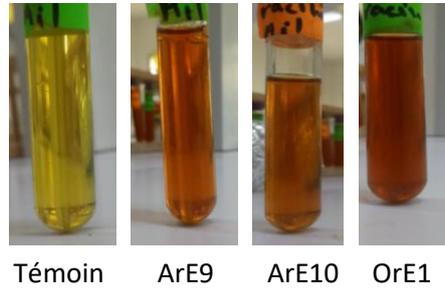


Figure 08 : Aspect du surnageant de certains isolats bactériens après l'ajout du réactif Salkowski.

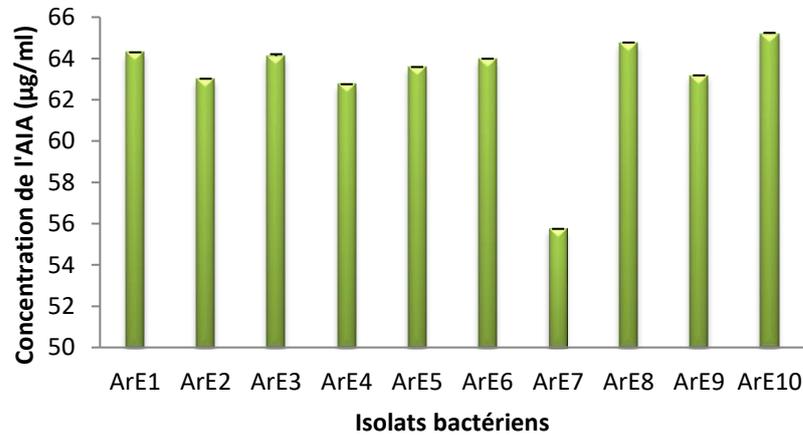


Figure 09 : Concentrations de l'acide indole acétique produites par les isolats bactériens d'*Allium sativum* L.

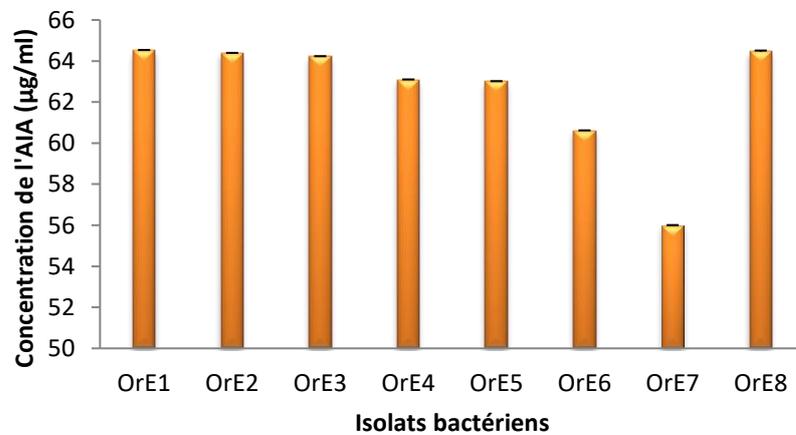


Figure 10 : Concentrations de l'acide indole acétique produit par les isolats bactériens d'*Origanum vulgare* L.

Parmi les activités les plus importantes des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB), la production d'AIA qui est une phytohormone régulant la croissance des plantes (Bafana, 2013). Dans la présente étude tous les isolats bactériens de *A. sativum* L. et de *O. vulgare* L. sont des producteurs d'AIA avec des concentrations moyennes notables (> 60 µg/ml). La production d'AIA par des bactéries isolées à partir des racines des plantes médicinales a déjà été rapportée par plusieurs études (Rahman *et al.*, 2018).

Botelho *et al.* (2017) ont évalué la production d'acide indole-acétique en suivant la méthode colorimétrique chez 27 bactéries isolées à partir des racines d'*A. sativum* L. Les résultats de l'analyse ont indiqué que 22 des isolats (81,5 %) étaient positifs pour produire de l'AIA. Par contre, Wang *et al.* (2019) ont montré que parmi 35 bactéries endophytes d'*A. sativum* L. seuls 10 isolats ont été capables de produire la molécule favorisant la croissance des plantes AIA avec des concentrations limitées à $6,54 \pm 0,10$ à $12,02 \pm 0,49$. Les travaux de Meléndez *et al.* (2017), montrent que 45,5 % des isolats bactériens des racines d'*O. vulgare* L. étaient capables de produire de l'AIA in vitro. Parmi eux, trois isolats (*Enterobacter* sp., *Bacillus subtilis*, et *Enterobacter ludwigii*) présentaient la production d'AIA la plus élevée, allant de 49,5 à 65,4 µg/ml. L'ajout de tryptophane au milieu de culture a stimulé la production d'AIA, ce qui suggère que ces bactéries pourraient utiliser la voie de biosynthèse de l'indole-3-acétamide pour la production d'auxine.

Grâce à l'action de cette auxine sur l'élongation et la division cellulaire, la croissance des racines et des parties aériennes des plantes peuvent être stimulées (Meléndez *et al.*, 2017). Elle favorise également une meilleure nutrition de la plante par amélioration de l'absorption des nutriments par les racines (Sarrac *et al.*, 2019). Glick (2020) mentionne que l'augmentation de la résistance de la plante aux stress abiotiques (sécheresse, salinité, etc.) est assurée par l'induction de mécanismes de défense par l'auxine. De plus, Karthikeyan *et al.* (2008), indique que la production d'AIA facilite l'association symbiotique entre la plante et d'autres microorganismes bénéfiques du sol.

Nous pouvons donc supposer que les bactéries productrices d'AIA isolées des racines d'ail et d'origan pourraient potentiellement être utilisées comme biofertilisants ou agents de

stimulation de la croissance végétale dans l'agriculture durable ce qui est plus détaillé dans l'étude suivante (§ II.3.2 et § II.3.3).

II.3.2. Effets des isolats bactériens sur la germination et la croissance des graines de blé, tomate et de tournesol

Les cinq isolats des racines d'*A. sativum* L. et d'*O. vulgare* L. à savoir ArE8, ArE10, OrE1, OrE2 et OrE8 ont été supposés comme les souches les plus prometteuses dans la croissance de plantes en fonction de leur capacité à produire l'AIA.

L'évaluation de l'effet de ces 5 isolats sur la germination des graines de blé, de tomate et de tournesol est illustrée par la figure 11.

En analysant les résultats obtenus, nous pouvons constater que les 5 isolats bactériens ont augmenté, de manière significative ($p < 0,05$), le taux de germination des graines de blé. Après 15 jours, 100 % des isolats ont donné un pourcentage de germination plus élevé à celui du témoin. Pour les graines de tomate, les isolats ArE8 et OrE8 ont assuré une germination supérieure à 90 % après 15 jours. Tandis que la germination des graines de tournesol a atteint des taux élevés sous l'effet de l'isolat OrE8 (Fig.11).

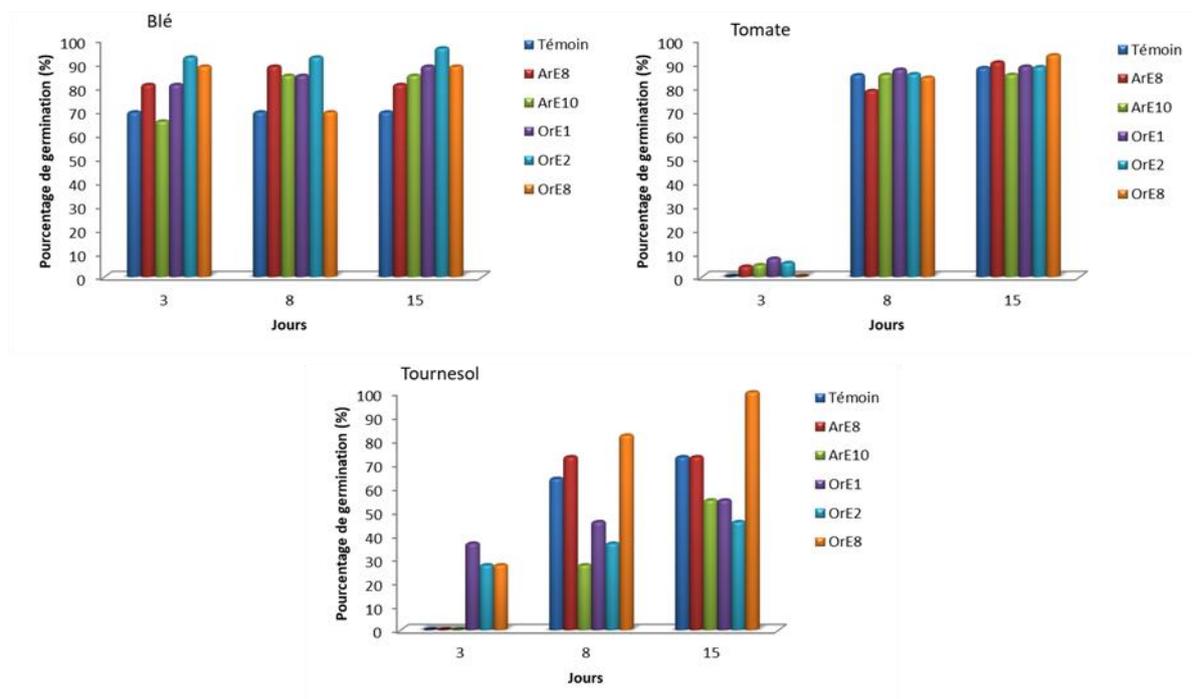


Figure 11 : Effet de certains isolats bactériens sur la germination des graines de blé, tomate et de tournesol.

L'étude de l'impact des isolats sélectionnés sur la croissance de blé, de tomate et de tournesol, en conditions stériles, pendant 15 jours est présentée dans le tableau 08.

La promotion de la croissance s'est manifestée différemment pour les cinq isolats. Pour la croissance du blé, tous les isolats ont stimulé la croissance de la partie aérienne, tandis que les souches ArE8 et OrE2 ont amélioré efficacement la croissance de la partie racinaire. Pour la tomate et le tournesol, à l'exception de la souche ArE8, tous les isolats bactériens ont amélioré plus efficacement la longueur et le poids des racines et des tiges. L'impact des isolats sur la totalité des cultivars, montre que la longueur de la partie aérienne et racinaire sont les paramètres les mieux stimulés (Tab.08).

Tableau 08 : Effet des isolats bactériens sélectionnés sur les différents paramètres de croissance de blé, tomate et tournesol (moyenne \pm écartype).

		Témoign négatif	ArE8	ArE10	OrE1	OrE2	OrE8
Blé	LPA (cm)	12,13 \pm 1,55	14,75 \pm 1,08	12,86 \pm 0,85	15,33 \pm 0,54	14,88 \pm 0,85	14,50 \pm 1,08
	LPR (cm)	11,75 \pm 1,19	16,18 \pm 1,61	9,90 \pm 0,55	13,45 \pm 0,42	14,43 \pm 0,43	8,25 \pm 0,65
	PPA (g)	0,09 \pm 0,02	0,09 \pm 0,02	0,10 \pm 0,03	0,35 \pm 0,10	0,17 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02
	PPR (g)	0,02 \pm 0,004	0,03 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,01 \pm 0,001
Tomate	LPA (cm)	4,85 \pm 0,62	3,88 \pm 0,22	5,08 \pm 0,74	6,25 \pm 0,65	7,00 \pm 0,91	5,75 \pm 0,65
	LPR (cm)	3,85 \pm 0,26	2,23 \pm 0,17	5,95 \pm 0,76	3,95 \pm 0,42	7,50 \pm 1,08	5,63 \pm 1,11
	PPA (g)	0,03 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
	PPR (g)	0,002 \pm 0,001	0,002 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001
Tournesol	LPA (cm)	4,75 \pm 1,59	3,75 \pm 0,93	6,75 \pm 0,83	7,13 \pm 1,35	10,63 \pm 1,70	9,05 \pm 0,82
	LPR (cm)	4,75 \pm 0,76	2,50 \pm 0,29	5,33 \pm 0,74	6,88 \pm 1,80	7,90 \pm 1,00	7,13 \pm 1,31
	PPA (g)	0,36 \pm 0,06	0,30 \pm 0,04	0,40 \pm 0,02	0,39 \pm 0,06	0,48 \pm 0,08	0,41 \pm 0,05
	PPR (g)	0,01 \pm 0,004	0,02 \pm 0,001	0,04 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01

LPA : Longueur de la partie aérienne; LPR : Longueur de la partie racinaire; PPA : Poids de la partie aérienne; PPR : Poids de la partie racinaire.

La figure 12 montre la croissance des graines étudiées après 15 jours sous l'effet de l'isolat OrE1.

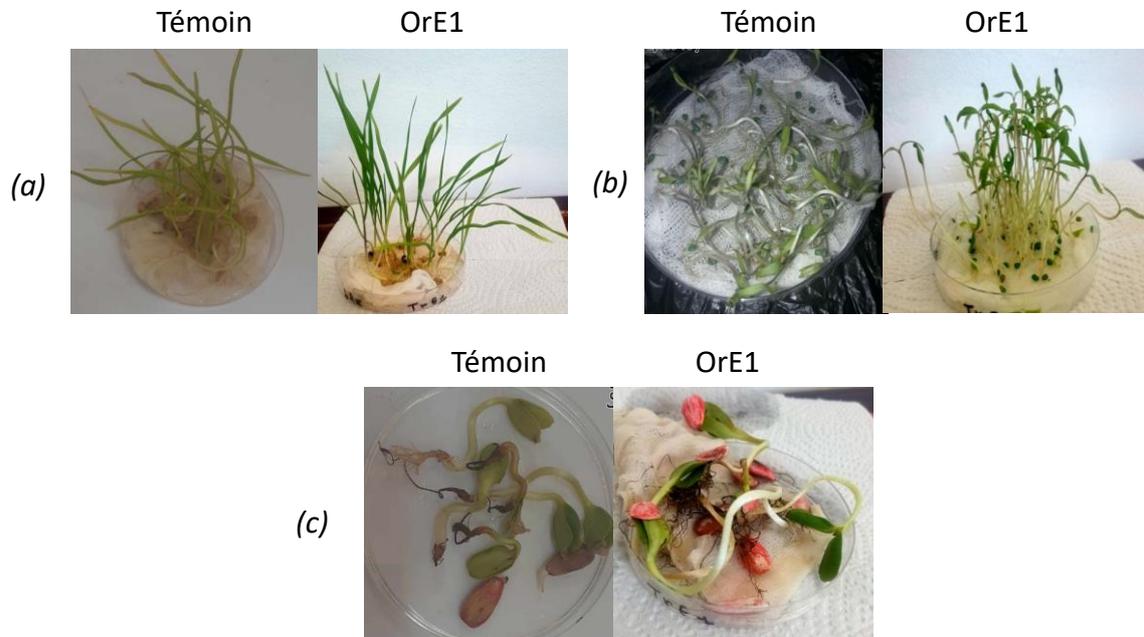


Figure 12 : Effet de l'isolat bactérien OrE1 sur la croissance de (a) blé, (b) tomate et (c) de tournesol.

Globalement, les cinq isolats bactériens de la présente étude ont augmenté de manière importante un des paramètres de croissance des trois graines testées. Selon des études antérieures, les bactéries épiphytes et endophytes jouent un rôle important dans la promotion de la croissance des plantes par plusieurs façons, certaines bactéries produisent des phytohormones comme les auxines, les cytokinines et les gibbérellines qui stimulent la germination des semences et la croissance des racines et des pousses (Bhattacharyya *et al.*, 2011). Certaines bactéries sécrètent aussi des enzymes hydrolytiques comme les cellulases, protéases et amylases qui dégradent les enveloppes de la graine, facilitant la sortie de la plantule (Compant *et al.*, 2021). En plus, Oukala *et al.* (2021), ont indiqué que les bactéries habitant les tissus végétaux jouent généralement un rôle crucial dans l'adaptation de l'hôte aux stress biotiques et aux conditions environnementales défavorables en modulant les niveaux d'éthylène, une hormone végétale impliquée dans les réponses aux stress tels que la sécheresse, la salinité et les températures extrêmes.

Nos résultats coïncident avec ceux de [Sicua et al., \(2016\)](#) qui ont testé des bactéries du genre *Bacillus* isolées à partir des racines d'*Allium sativum* L. sur la germination et la croissance des graines de tomate. Les résultats obtenus ont montré que le traitement bactérien des semences favorise la croissance des plantes de tomate. Après 5 semaines, une germination et une émergence de 100 % se sont produites dans toutes les graines. Les isolats ont induit également un allongement des plantules et un poids important par rapport au témoin non traité. Les travaux de [Botelho et al., \(2017\)](#) ont confirmé aussi que les bactéries à Gram positif isolées à partir des racines d'*A. sativum* L. ont permis d'obtenir des plantes de maïs plus grandes et plus vigoureuses.

III. Identification phénotypique de quelques isolats

Plus les caractéristiques étudiées précédemment, le biotypage de certains isolats a été complété par étude de l'utilisation des composés glucidiques. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 09.

Tableau 09 : Utilisation des composés glucidiques par les isolats bactériens étudiés.

	ArE1	ArE2	ArE3	ArE6	ArE8	ArE10	OrE1	OrE2	OrE4	OrE6	OrE8
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Inositol	ND	-	-	ND	-	-	-	-	ND	ND	-
Sorbitol	ND	+	-	ND	-	-	-	-	ND	ND	+
Rhamnose	ND	+	+	ND	-	+	-	-	ND	ND	-
Saccharose	ND	+	+	ND	+	+	+	+	ND	ND	+
Mélibiose	ND	+	-	ND	-	+	-	-	ND	ND	-
Amygdaline	ND	+	+	ND	+	+	-	+	ND	ND	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Mannitol	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	ND
Maltose	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	ND

(+) : test positif ; (-) : test négatif ; ND : non déterminé

En se basant sur toutes les données de la présente étude, nous pouvons constater que les isolats bactériens sont proches des bactéries suivantes (Tab.10) :

Tableau 10 : Isolats bactériens des racines de deux plantes médicinales.

	Isolat	Espèce identifiée
Allium sativum L.	ArE1	<i>Pseudomonas luteola</i>
	ArE2	<i>Bacillus subtilis</i>
	ArE3	<i>Bacillus cereus</i>
	ArE6	<i>Burkholderia cepacia</i>
	ArE8	<i>Bacillus cereus</i>
	ArE10	<i>Bacillus subtilis</i>
Origanum vulgare L.	OrE1	<i>Bacillus cereus</i>
	OrE2	<i>Rhodococcus sp.</i>
	OrE4	<i>Burkholderia cepacia</i>
	OrE6	<i>Pseudomonas luteola</i>
	OrE8	<i>Bacillus sp.</i>

L'identification des épiphytes et des endophytes qui sont taxonomiquement, métaboliquement et aussi génétiquement très diverses est très importante pour comprendre leur rôle écologique (Afzal et al., 2019).

Nos résultats montrent une diversité chez les isolats bactériens qui colonisent les racines des deux plantes médicinales, ce qui suggère l'importance de l'interaction plante-bactéries pour l'ail et l'origan.

Sur la base des résultats de la présente étude, 6 espèces bactériennes sont identifiées (*Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Rhodococcus sp.*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus sp.*). Ces espèces ont été déjà isolées à partir des racines de plusieurs plantes et elles sont également décrites en tant que bactéries promotrices de croissances. Wang et al. (2019) et Botelho et al. (2017) ont isolées 27 et 35 bactéries, respectivement, à partir des racines de la plante médicinale *Allium sativum* L., ces bactéries ont été identifiés comme étant des *Bacillus* et *Pseudomonas*. De même, Costa Júnior et al. (2020) et Huang et al. (2019) ont isolé la bactérie *Burkholderia cepacia* avec une dominance des souches de *Bacillus* et *Pseudomonas*.

D'après Kurek et al. (2013), *Pseudomonas luteola* est une bactérie qui solubilise plusieurs composés comme le phosphate et possède de multiples caractéristiques considérées comme

des activités favorisant la croissance des plantes et peut être utilisé comme biofertilisant efficient.

[Costa Júnior et al. \(2020\)](#) mentionnent que *Burkholderia cepacia* est capable de produire de l'AIA, des acides organiques et des enzymes qui solubilisent les phosphates inorganiques insolubles du sol, rendant ainsi le phosphore disponible pour les plantes. Cette espèce sécrète aussi des sidérophores qui facilitent l'absorption du fer par les plantes. [Alemneh et al. \(2021\)](#) montrent que *B. cepacia* est capable de produire l'enzyme ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) désaminase qui régule les niveaux d'éthylène dans les plantes, réduisant ainsi les effets néfastes du stress.

En ce qui concerne la souche *Rhodococcus* sp., les travaux de [Bafana \(2013\)](#) montrent que cette bactérie est capable de produire l'AIA, solubilise les phosphates inorganiques insolubles du sol, fixe l'azote atmosphérique et capte le fer présent dans leur environnement. Donc c'est une bactérie qui contribue à une meilleure nutrition minérale des plantes, favorisant leur croissance et leur résistance aux stress abiotiques et biotiques ([Ahmed et al., 2014](#)).

Plusieurs travaux ont montré que les bactéries du genre *Bacillus* peuvent être utilisées comme bioinoculants pour améliorer la croissance des plantes. [Mowafy et al. \(2016\)](#) ont montré que les *Bacillus* sp. ont une capacité élevée à produire de l'ammoniac et à solubiliser le phosphate ce qui aide la plante à soutenir sa croissance et son métabolisme. *Bacillus cereus*, a joué un rôle essentiel dans la croissance de plantes telles que le soja, le maïs, le riz et le blé. Certaines souches de cette bactérie ont également renforcé la capacité des végétaux à résister à des stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité et la pollution aux métaux lourds, grâce à la production d'enzymes extracellulaires et de lipopeptides antibiotiques, ainsi qu'à la mise en place d'une résistance systémique induite. En outre, du point de vue du contrôle biologique, ces bactéries promotrices de la croissance végétale ont inhibé le développement de plusieurs phytopathogènes nuisibles en agriculture ([Kulkova et al., 2023](#)). [Zhang et al. \(2008\)](#) ont constaté que *Bacillus subtilis* augmente l'efficacité de la photosynthèse et la teneur en chlorophylle des plantes par la modulation de la signalisation endogène de la détection du glucose. Ils ont conclu que la bactérie joue un rôle régulateur dans l'acquisition d'énergie par la plante.

Conclusion et Perspectives

Les résultats de l'étude de la biodiversité bactérienne associée aux racines de deux plantes médicinales (*Allium sativum* L. et *Origanum vulgare* L.) ainsi que sa caractérisation fonctionnelle, permettent la mise en évidence de la conclusion suivante :

- Dix-huit isolats bactériens ont été isolés à partir des racines de deux plantes médicinales choisies avec une dominance des bacilles à Gram positif;
- Tous les isolats bactériens possèdent une activité enzymatique importante (au moins 4 enzymes);
- Le taux de multiplication des isolats est fortement conditionné par l'élévation de la température ;
- Les isolats cultivables colonisant les racines d'*A. sativum* L. et d'*O. vulgare* L. possèdent une grande aptitude à produire l'AIA;
- Les 5 isolats bactériens ArE8, ArE10, OrE1, OrE2 et OrE8 ont significativement augmenté le taux de germination des graines de blé ainsi que le développement de la partie aérienne ;
- Tous les isolats bactériens ont eu un effet plus marqué sur la longueur et le poids des racines et des tiges de tomate et de tournesol ;
- L'identification phénotypique a révélé six espèces bactériennes : *Pseudomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Rhodococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Bacillus* sp.

Les perspectives qui découlent de cette étude sont variées :

- L'identification des isolats bactériens par des méthodes génétiques semble être très utile pour déterminer correctement les principales espèces colonisant les racines des plantes médicinales étudiées ;
- Il serait très intéressant d'étudier d'autres activités favorisant la croissance des plantes comme la production des sidérophores ;
- Il serait pertinent d'évaluer l'impact des isolats ayant des propriétés de stimulation de la croissance en conditions de plein champ.

Références Bibliographiques

A

- Abdelaal K., AlKahtani M., Attia K., Hafez Y., Király L., Künstler A. (2021).** The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*, 10(6), 520.
- Afridi M.S., Fakhar A., Kumar A., Ali S., Medeiros F.H., Muneer M.A., Saleem M. (2022).** Harnessing microbial multitrophic interactions for rhizosphere microbiome engineering. *Microbiological Research*, 265, 127199.
- Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. (2019).** Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol Research*, 221: 36– 49.
- Agrawal S., Bhatt A. (2023).** Microbial endophytes: emerging trends and biotechnological applications. *Current Microbiology*, 80, 249.
- Ahmed E., Holmström S.J. (2014).** Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbiology Biotechnology*, 7(3), 196-208.
- Alam D., Hoq D., Uddin D. (2016).** Medicinal plant *Allium sativum*. *A Review Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(6), 72-79.
- Alemneh A.A., Rady M.M., Reynolds A.G., Naughton T.J., Willick J.J. (2021).** Bacterial ACC deaminase-producing endophytes modulate plant growth and yield-related traits in potatoes. *Plants*, 10(5), 928.
- AlKahtani M.D., Fouda A., Attia K.A., Al-Otaibi F., Eid A.M., Ewais E.E.D., Abdelaal K.A. (2020).** Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. *Agronomy*, 10(9), 1325.
- Anisha K.P., Sumi Paul M. (2017).** Screening and Isolation of Protease Producing Bacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 2962-2967.
- Arora M., Saxena P., Abdin M.Z., Varma A. (2018).** Interaction between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* L. plants grown under in vitro conditions. *Symbiosis*, 75, 103-112.

B

- Baars O., Zhang X., Morel F.M., Seyedsayamdost M.R. (2016).** The siderophore metabolome of *Azotobacter vinelandii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(1), 27-39.
- Bafana A. (2013).** Diversity and metabolic potential of culturable root-associated bacteria from *Origanum vulgare* in sub-Himalayan region. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(1), 63–74.
- Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. (2006).** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.
- Barakat H., Aljutaily T., Almujaaydil M.S., Algheshairy R.M., Alhomaid R.M., Almutairi A.S., Abdellatif A.A. (2022).** Amygdalin, a review on its characteristics, antioxidant potential, gastrointestinal microbiota intervention, anticancer therapeutic and mechanisms, toxicity, and encapsulation. *Biomolecules*, 12(10), 1514.
- Basile A., Senatore F., Gargano R., Sorbo S., Del Pezzo M., Lavitola A., Ritieni A. (2006).** Antibacterial and antioxidant activities in *sideritis italica* (miller) greuter et burdet essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(2), 240-248.
- Beattie G. (2006).** Plant-associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. *Plant-Associated Bacteria*, 1-56.
- Bergonzi M.C., Heard M., Garcia-Pardo j. (2022).** Bioactives molecules from plants: discovery and pharmaceutical applications. *Pharmaceutics*, 14(10), 2116.
- Bhattacharyya P.N., Jha D.K. (2011).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350.
- Biswas J.C., Ladha J.K., Dazzo F.B. (2000).** *Rhizobia* inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science Society of America Journal*, 64(5), 1644-1650.
- Botelho G.R., Leoncio M.D.R. (2017).** Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria isolated from garlic (*Allium sativum*). *Scientia Agraria*, 18(3), 95.
- Bric J.M., Bostock R.M., Silverstone S.E. (1991).** Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2), 535-538.

C

- Campisano A., Albanese D., Yousaf S., Pancher M., Donati C., Pertot I. (2017).** Temperature drives the assembly of endophytic communities seasonal succession. *Environmental Microbiology*, 19(8), 3353-3364.
- Carmona-Hernandez S., Reyes-Pérez J.J., Chiquito-Contreras R.G., Rincon-Enriquez G., Cerdan-Cabrera C.R., Hernandez-Montiel L.G. (2019).** Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. *Agronomy*, 9(3), 121.
- Castro R.A., Quecine M.C., Lacava P.T., Batista B.D., Luvizotto D.M., Marcon J., Ferreira A., Melo I.S., Azevedo J.L. (2014).** Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of brazilian mangrove ecosystem. *Springer Plus*, 3(1):382.
- Chamkhi I., Benali T., Aanniz T., El Menyiy N., Guaouguaou F.E., El Omari N., Bouyahya A. (2021).** Plant-microbial interaction: the mechanism and the application of microbial elicitor induced secondary metabolites biosynthesis in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 269-295.
- Chateigner-Boutin A.L., Saulnier L., Lessire M., Wacrenier N., ALLEMAN F. (2020).** Les polymères de mannose en production animale. 1, focus sur les structures chimiques rencontrées dans les aliments et les propriétés biologiques, Institut national de recherche pour l'agriculture. *L'alimentation et l'environnement Productions Animales*, 33(4), 283-294.
- Chi M., Li G., Liu Y., Liu G., Li M., Zhang X., Liu J. (2015).** Increase in antioxidant enzyme activity, stress tolerance and biocontrol efficacy of *Pichia kudriavzevii* with the transition from a yeast-like to biofilm morphology. *Biological Control*, 90, 113-119.
- Compant S., Reiter B., Sessitsch A., Nowak J., Clément C., Ait Barka E. (2005).** Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4), 1685-1693.
- Compant S., Clément C., Sessitsch A. (2010).** Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 669-678.
- Compant S., Cambon M.C., Vacher C., Mitter B., Samad A., Sessitsch A. (2021).** The plant endosphere world-bacterial life within plants. *Environmental Microbiology*, 23(4), 1812-1829.
- Costa Júnior P.S.P., Cardoso F.P., Martins A.D., Teixeira Buttrós V.H., Pasqual M., Dias D.R., Schwan R.F., Dória J. (2020).** Endophytic bacteria of garlic roots promote growth of micropropagated meristems. *Microbiological Research*, 241, 126585.
- Crozier L., Marshall J., Holmes A., Wright K.M., Rossez Y., Merget B., Holden N.J. (2021).** The role of l-arabinose metabolism for *Escherichia coli* O157: H7 in edible plants. *Microbiology*, 167(7), 001070.
- Cui X., Hu J., Lin X., Gan L., Long L., Ding W., Li Y., Xu S. (2008).** Cultivable endophytic bacteria associated with tissues of two ephedra species in north China and their potential in biocontrol. *Biocontrol Science and Technology*, 18(5), 511-523.

D

- Dar R.A., Shahnawaz M., Ahanger M.A., Majid I. (2023).** Exploring the diverse bioactive compounds from medicinal plants: a Review. *Journal Phytopharm*, 12, 189-195.
- Delarras C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire, recherche des bactéries et de levures-moisissures. *Technical and Document*. p : 269-411.
- Di Francesco A., Martini C., Mari M. (2016).** Biological control of postharvest diseases by microbial antagonists: how many mechanisms of action?. *European Journal of Plant Pathology*, 145, 711-717.
- Diep C.N., Hieu T.N. (2013).** Phosphate and potassium solubilizing bacteria from weathered materials of denatured rock mountain, Ha Tien, Kiên Giang province Vietnam. *American Journal of Life Science Researches*, 1(3), 88-92.
- Djellout H., Mekheldi D., Belkacem K.K., Raio A., Krimi Z. (2019).** Potential evaluation of antagonistic *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. To control pathogenic *Agrobacterium* spp. involved in crown gall diseases. *Agrobiologia*, 9(1), 1267-1283.
- Droge W. (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.

E

Eid A.M., El-Din Ewais E. (2019). The interaction between plants and bacterial endophytes under salinity stress. *Endophytes and Secondary Metabolites*, 1-18.

Eljounaidi K., Lee S.K., Bae H. (2016). Bacterial endophytes as potential biocontrol agents of vascular wilt diseases—review and future prospects. *Biological Control*, 103, 62-68.

F

Fouda A., Hassan S.E.D., Eid A.M., El-Din Ewais E. (2019). The interaction between plants and bacterial endophytes under salinity stress. *Endophytes and Secondary Metabolites*, 1-18.

Fradi M., Oudjoudi L. (2022). Contribution à l'étude préliminaire de la richesse des sols sous oliveraies en microorganismes: cas des bactéries. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, 66 p.

Fu G., Ding Y., Seal A., Chen B., Sun Y., Bolton E. (2016). Predicting drug target interactions using meta-path-based semantic network analysis. *Biology Medicine Central Bioinformatics*, 17, 1-10.

G

García J.E., Maroniche G., Creus C., Suárez-Rodríguez R., Ramirez-Trujillo J.A., Groppa M.D. (2017). In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. *Microbiological Research*, 202, 21-29.

Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T. (2005). Class I. *Alphaproteobacteria* class.nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 1-574). Springer, Boston, MA.

Glick B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 15.

Glick B.R. (2020). Enhancing plant tolerance to abiotic stresses by the modulation of ethylene biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 11, 67.

Gong Y., Liu J.Q., Xu M.J., Zhang C.M., Gao J., Li C.G., Qin S. (2022). Antifungal volatile organic compounds from *Streptomyces setonii* WY228 control black spot disease of sweet potato. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(6), 02317-21.

Gopalakrishnan S., Srinivas V., Prasanna S.L. (2020). *Streptomyces*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. Academic Press, 55-71.

Goswami D., Thakker J. N., Dhandhukia P.C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. *Cogent Food and Agriculture*, 2(1), 1127500.

Gouda S., Das G., Sen S.K., Shin H.S., Patra J.K. (2016). Endophytes: a treasure house of bioactive compounds of medicinal importance. *Frontiers in Microbiology*, 7, 219261.

Gulboev D., Maxammadieva D., Alikulov B. (2022). The effect of temperature on the growth of prospective strains of endophytic bacteria from some halophytic plants. *Specialusis Ugdymas*, 1(43), 10161-10166.

H

Hernández-León R., Rojas-Solís D., Contreras-Pérez M., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Macías-Rodríguez L.I., Reyes-de la Cruz H., Santoyo G. (2015). Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control*, 81, 83-92.

Huang C.M., Chen W.C., Lin S.H., Wang Y.N., Shen F.T. (2019). Exploration of root associated bacteria from the medicinal plant *Platycodon grandiflorum*. *Microbes and Environments/Japanese Society for Microbial Ecology*, 34(4), 413-420.

I

Iniguez A.L., Dong Y., Triplett E.W. (2004). Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(10), 1078-1085.

J

Joffin J. N., Leyral G. (1996). Microbiologie technique. *Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine*, 219-223.

Joffin J.N., Leyral G. (2001). Microbiologie technique, tome 1, Dictionnaire des techniques Broché. *Canopé - Centre Régional de Documentation Pédagogique de Bordeaux*. 313 p.

Jones J.D., Dangl J.L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323-329.

K

- Kabir M.H., Unban K., Kodchasee P., Govindarajan R.K., Lumyong S., Suwannarach N., Khanongnuch C. (2023). Endophytic bacteria isolated from tea leaves (*Camellia sinensis* var. *assamica*), enhanced plant-growth-promoting activity. *Agriculture*, 13(3), 533.
- Karthikeyan B., Joe M.M., Islam M.R., Sa T. (2008). ACC deaminase containing diazotrophic endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Catharanthus roseus* through reduced ethylene levels and induction of antioxidative defense systems. *Symbiosis*, 46(2), 77-86.
- Kekuda P.T.R., Onkarappa R., Jayanna N.D. (2014). Characterization and antibacterial activity of a glycoside antibiotic from *Streptomyces variabilis* PO-178. *Science, Technology and Arts Research Journal*, 3(4), 116-121.
- Khan A.L., Hamayun M., Kang S.M., Kim Y.H., Jung H.Y., Lee J.H., Lee I.J. (2012). Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *Biodiversity Management Committee Microbiology*, 12, 1-14.
- Khan J.A., Yadav s.k. (2011). Production of alpha amylases by *Aspergillus niger* using cheaper substrates employing solid state fermentation. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 1(3):100-108.
- Khan M.M., Khalilullah H., Eid E.E., Azam F., Khan M.A., Khan A., Anwar M. (2022). A dig deep to scout the Pharmacological and clinical facet of garlic (*Allium sativum*). *Current Traditional Medicine*, 8(1), 1-19.
- Khan N., Martínez-Hidalgo P., Ice T.A., Maymon M., Humm E.A., Nejat N., Hirsch A.M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2363.
- Khatoon Z., Huang S., Rafique M., Fakhar A., Kamran M.A., Santoyo G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of Environmental Management*, 273, 111118.
- Kulkova I., Dobrzyński J., Kowalczyk P., Bełzecki G., Kramkowski K. (2023). Plant growth promotion using *Bacillus cereus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11).
- Kurabachew H., Wydra K. (2013). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Biological control*, 67(1), 75-83.
- Kurek E., Ozimek E., Sobiczewski P., Słomka A., Jaroszuk-Ścisiel J. (2013). Effect of *Pseudomonas luteola* on mobilization of phosphorus and growth of young apple trees (Ligol) Pot experiment. *Scientia Horticulturae*, 164, 270-276.

L

- Larpent J.P. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. *Lavoisier*. 4 : 183-212.
- Li H., Guo Q., Jing Y., Liu Z., Zheng Z., Sun Y., Lai H. (2020). Application of *Streptomyces pactum* Act12 enhances drought resistance in wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 122-132.
- Limonier A.S. (2018). *La phytothérapie de demain: les plantes médicinales au cœur de la Pharmacie*. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 100 p.
- Liu H., Brettell L.E., Singh B. (2020). Linking the phyllosphere microbiome to plant health. *Trends in Plant Science*, 25(9), 841-844.

M

- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clarck D.P. (2018). Brock biology of microorganisms. Pearson, 15eme edition, New York, p : 200-245.
- Maggini V., Mengoni A., Gallo E.R., Biffi S., Fani R., Firenzuoli F., Bogani P. (2019). Tissue specificity and differential effects on in vitro plant growth of single bacterial endophytes isolated from the roots, leaves and rhizospheric soil of *Echinacea purpurea*. *Biomédical Central Plant Biology*, 19, 1-9.
- Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., Foster G.D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6), 614-629.
- Mazzei L., Musiani F., Ciurli S. (2020). The structure-based reaction mechanism of urease, a nickel dependent enzyme, Tale of a long debate. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 25(6), 829-845.
- Meléndez M.G., Camargo G.Z., Meza Contreras J.J., Sepúlveda A.H., Santos Villalobos S.D.L., Parra Cota F.I. (2017). Abiotic stress tolerance of microorganisms associated with oregano (*Origanum vulgare* L.) in the Yaqui Valley, Sonora. *Open Agriculture*, 2(1), 260-265.

- Mhatre P.H., Karthik C., Kadirvelu K., Divya K.L., Venkatasalam E.P., Srinivasan S., Shanmuganathan R. (2019).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a potential alternative tool for nematodes bio-control. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 119-128.
- Mishra P., Sharma S., Kumar S., Singh A. (2024).** Efficacy testing of bio-fertilizer based on *Azotobacter* on sweet corn (*Zea mays convar*). *Journal of Sustainable Agriculture*, 32(6), 257-271.
- Mowafy A.M., Alraey D.A., Omar N.M., Elshobaky A., Haroun S.A. (2016).** *Origanum syriacum* ssp. *sinaicum* associated Growth Promoting Bacteria. *International Organization of Scientific Research Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 10(08), 53–60.
- Mwajita M.R., Murage H., Tani A., Kahangi E.M. (2013).** Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *Springer Plus*, 2, 1-9.

N

- Nxumalo C.I., Ngidi L.S., Shandu J.S.E., Maliehe T.S. (2020).** Isolation of endophytic bacteria from the leaves of *Anredera cordifolia* CIX1 for metabolites and their biological activities. *Biology Medicine Central Complementary Medicine and Therapies*, 20, 1-11.

O

- Oerke E.C. (2006).** Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Orozco-Mosqueda M.D.C., Flores A., Rojas-Sánchez B., Urtis-Flores C.A., Morales-Cedeño L.R., Valencia-Marin M.F., Santoyo G. (2021).** Plant growth-promoting bacteria as bioinoculants: attributes and challenges for sustainable crop improvement. *Agronomy*, 11(6), 1167.
- Ouedraogo S., Yoda J., Traore T.K., Nitiema M., Sombie B.C., Diawara H.Z., Semde R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2), 750-772.
- Oukala N., Aissat K., Pastor V. (2021).** Bacterial endophytes: the hidden actor in plant immune responses against biotic stress. *Plants*, 10(5), 1012.

P

- Palleroni N.J. (2008).** The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In cornelis P. *Pseudomonas: Genomics and molecular biology*. Caister Academic Press Belgium, 1–18.
- Pieterse C.M., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S.C. (2012).** Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28, 489-521.
- Pirttilä A.M., Parast Tabas H.M., Baruah N., Koskimäki J.J. (2021).** Biofertilizers and biocontrol agents for agriculture: how to identify and develop new potent microbial strains and traits. *Microorganisms*, 9, 817.
- Prabhukarthikeyan S.R., Keerthana U., Raguchander T. (2018).** Antibiotic-producing *Pseudomonas fluorescens* mediates rhizome rot disease resistance and promotes plant growth in turmeric plants. *Microbiological Research*, 210, 65-73.
- Prescott M. (2009).** Microbiologie. *De Boeck, 2eme édition, France*. p : 600-603.

R

- Rahman M., Sabir A.A., Mukta J.A., Khan M.M.A., Mohi-Ud-Din M., Miah M.G., Islam M.T. (2018).** Plant probiotic bacteria *Bacillus* and *Paraburkholderia* improve growth, yield and content of antioxidants in strawberry fruit. *Scientific Reports*, 8(1), 2504.
- Ramakrishna W., Yadav R., Li K. (2019).** Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138, 10-18.
- Rediers H., Vanderleyden J., De Mot R. (2004).** *Azotobacter vinelandii* a *Pseudomonas* in disguise? *Microbiology Society for General Microbiology*, 150(Pt 5), 1117-1119.
- Rodrigues A.C., Bonifacio A., de Araujo F.F., Junior M.A.L., do Vale Barreto Figueiredo M. (2015).** *Azospirillum* sp. as a challenge for agriculture. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, 29-51.
- Roley S.S., Duncan D.S., Liang D., Garoutte A., Jackson R.D., Tiedje J.M., Robertson G.P. (2015).** *Azospirillum melinis* sp. nov., a novel diazotroph isolated from roots of the C4 grass *Melinis minutiflora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(Pt 2), 636-641.

S

- Safdarpour F., Khodakaramian G. (2019).** Assessment of antagonistic and plant growth promoting activities of tomato endophytic bacteria in challenging with *Verticillium dahliae* under in-vitro and in-vivo conditions. *Biological Journal of Microorganism*, 7(28).
- Saleem M., Meckes N., Pervaiz Z.H., Traw M.B. (2017).** Microbial interactions in the phyllosphere increase plant performance under herbivore biotic stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 41.
- Sánchez-López A.S., González-Chávez M.D.C.A., Solís-Domínguez F.A., Carrillo-González R., Rosas-Saito G.H. (2018).** Leaf epiphytic bacteria of plants colonizing mine residues: possible exploitation for remediation of air pollutants. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3028.
- Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., Orozco-Mosqueda M.D.C., Glick B.R. (2016).** Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92-99.
- Santoyo G., Sánchez-Yáñez J.M., de los Santos-Villalobos S. (2019).** Methods for detecting biocontrol and plant growth-promoting traits in *Rhizobacteria*. *Methods in Rhizosphere Biology Research*, 133-149.
- Sarrac N., Hassan S., Sghayer N.B., Sifi B., Rhimi, M. (2019).** The plant growth promoting endophytic bacterium *Enterobacter* sp. B16 confers improved phosphate acquisition and nitrogen assimilation in wheat plants under salt stress. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1789.
- Schenk S.T., Schikora A. (2015).** Plant-bacteria signaling at the plant-soil interface under challenging conditions. *The Federation of European Biochemical Societies Journal*, 282(13), 2515-2525.
- Sekar S., Kandavel D. (2010).** Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants—new avenues for phytochemicals. *Journal Phytology*, 2(7), 91-100.
- Semenzato G., Faddetta T., Falsini S., Del Duca S., Esposito A., Padula A., Greco C., Mucci N., Zaccaroni M., Puglia A.M. (2022).** Endophytic bacteria associated with *Origanum heracleoticum* L. (Lamiaceae) Seeds. *Microorganisms*, 10, 2086.
- Sessitsch A., Howieson J.G., Perret X., Antoun H., Martínez-Romero E. (2002).** Advances in *Rhizobium* research. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4), 323-378.
- Set A., Bchai B., Cdolphe C. (2019).** Utilisation de bactéries associées aux plantes médicinales pour lutter contre les phytopathogènes. *Revue de Phytopathologie Appliquée*, 12(3), 456-478.
- Sharma H., Rai A.K., Dahiya D., Chettri R., Nigam P.S. (2021).** Exploring endophytes for in vitro synthesis of bioactive compounds similar to metabolites produced in vivo by host plants. *American Institute of Mathematical Sciences Microbiology*, 7(2), 175.
- Shirinbayan S., Khosravi H., Malakouti M.J. (2019).** Alleviation of drought stress in maize (*Zea mays*) by inoculation with *Azotobacter* strains isolated from semi-arid regions. *Applied Soil Ecology*, 133, 138-145.
- Siciua O. A., Dinu S., Constantinescu F. (2016).** Phytohormone-like producing *Bacillus* increase tomato seedlings quality. *Journal of Plant Interactions*, 11(1), 80-89.
- Silva M.L.R.B., Coutinho H.L.C., Freitas F.P., Ribeiro Y.A.M., Silva R.L.O. (2017).** Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria isolated from garlic (*Allium sativum*). *Revista Scientia Agraria*, 18(3), 95-106.
- Singh G., Biswas D.R., Marwaha T.S. (2010).** Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.): a hydroponics study under phytotron growth chamber. *Journal of Plant Nutrition*, 33(8), 1236-1251.
- Skoufogianni E., Solomou A.D., Danalatos N.G. (2019).** Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(3), 545-552.
- Soltani A., Abderahmane Y., Djabri L., Hamed Y., Bouguerra H. (2019).** Interferences des polluants endogènes et exogènes dans les eaux des puits et de l'Oued Seybouse. *Cas de Paine de Guelma*, 4, 96-99.
- Soto M.J., Domínguez-Ferreras A., Pérez-Mendoza D., Sanjuán J., Olivares J. (2009).** Mutualism versus pathogenesis: the give-and-take in plant–bacteria interactions. *Cellular Microbiology*, 11(3), 381-388.
- Sousa S.F., Ramos M.J., Lim, C., Fernandes P.A. (2015).** Relationship between enzyme/substrate properties and enzyme efficiency in hydrolases. *American Chemical Society Catalysis*, 5(10), 5877-5887.
- Steenhoudt O., Vanderleyden J. (2000).** Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 24(4), 487-506.

Stokke C., Flåtten I., Skarstad K. (2012). An easy-to-use simulation program demonstrates variations in bacterial cell cycle parameters depending on medium and temperature. *Public Library of Science One*, 7(2), 30981.

Süntar I. (2020). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1199-1209.

T

Tijjani A., Bashir K.A., Mohammed I., Muhammad A., Gambo A., Musa H. (2016). Biopesticides for pests control: a review. *Journal of Biopesticides and Agriculture*, 3(1), 6-13.

Tosi M., Gaiero J., Linton N., Mafa-Attoye T., Castillo A., Dunfield K. (2021). Bacterial endophytes: diversity, functional importance, and potential for manipulation. *Rhizosphere Biology: Interactions Between Microbes and Plants*, 1-49.

Tudu C.K., Dutta T., Ghorai M., Biswas P., Samanta D., Oleksak P., Jha N.K., Kumar M., Radha Proćków J., Pérez de la Lastra J.M., Dey A. (2022). Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of garlic (*Allium sativum*), a storehouse of diverse phytochemicals: a review of research from the last decade focusing on health and nutritional implications. *Frontiers in Nutrition*, 9, 949554.

V

Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M.L., Touraine B., Moëgne-Loccoz Y., Muller D., Prigent-Combaret C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*, 4, 356.

Vaxevanidou K., Christou C., Kremmydas G.F., Georgakopoulos D.G., Papassiopi N. (2015). Role of indigenous arsenate and iron (III) respiring microorganisms in controlling the mobilization of arsenic in a contaminated soil sample. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94, 282-288.

Viaene T., Langendries S., Beirinckx S., Maes M., Goormachtig S. (2016). *Streptomyces* as a plant's best friend?. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 92(8), 119.

Vorholt J.A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 10(12), 828-840.

Vurukonda S.S.K.P., Giovanardi D., Stefani E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 952.

W

Wang J., Shi L., Wang D., Li L., Loake G. J., Yang X., Jiang J. (2019). White rot disease protection and growth promotion of garlic (*Allium sativum*) by endophytic bacteria. *Plant Pathology*, 68(8), 1543-1554.

Watanabe S., Hamano M., Kakeshita H., Bunai K., Tojo S., Yamaguchi H., Fujita Y., Wong S.L., Yamane K. (2003). Mannitol-1-phosphate dehydrogenase (MtlD) is required for mannitol and glucitol assimilation in *Bacillus subtilis*: possible cooperation of mtl and gut operons. *Journal of Medical Bacteriology*, 185: 4816-24.

Wink M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286.

Y

Yang D., Prabowo C.P.S., Eun H., Park S.Y., Cho I.J., Jiao S., Lee S.Y. (2021). *Escherichia coli* as a platform microbial host for systems metabolic engineering. *Essays in Biochemistry*, 65(2), 225-246.

Yang J., Kloepper J.W., Ryu C.M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14(1), 1-4.

Yoshiwara K., Watanabe S., Watanabe Y. (2021). Crystal structure of l-rhamnose 1-dehydrogenase involved in the nonphosphorylative pathway of l-rhamnose metabolism in bacteria. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 595(5), 637-646.

Yousef-Coronado F., Travieso M.L., Espinosa-Urgel M. (2008). Different, overlapping mechanisms for colonization of abiotic and plant surfaces by *Pseudomonas putida*. *Federation of European Microbiological Societies : Microbiology Letters*, 288(1), 118-124.

Yu F.B., Shan S.D., Luo L.P., Guan L.B., Qin H. (2013). Isolation and characterization of a *Sphingomonas* sp. strain F-7 degrading fenvalerate and its use in bioremediation of contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(3), 198-207.

Yuan Y., Zuo J., Zhang H., Zu M., Liu S. (2022). The Chinese medicinal plants rhizosphere: metabolites, microorganisms, and interaction. *Rhizosphere*, 22, 100540.

Z

- Zaferanloo B., Virkar A., Mahon P.J., Palombo E.A. (2013).** Endophytes from an Australian native plant are a promising source of industrially useful enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 335-345.
- Zaltsman A., Krichevsky A., Loyter A., Citovsky V. (2010).** *Agrobacterium* induces expression of a plant host F-box protein required for tumorigenicity. *Cell Host Microbe*, 7, 197–209.
- Zhang H., Kim M. S., Sun Y., Dowd S. E., Shi H., Paré P. W. (2008).** Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(6), 737-744.
- Zhang W., Chen J., Chen Q., Wu H., Mu W. (2020).** Sugar alcohols derived from lactose, lactitol, galactitol, and sorbitol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(22), 9487–9495.
- Zhu Y.G., Xiong C., Wei Z., Chen Q.L., Ma B., Zhou S.Y.D., Duan G.L. (2022).** Impacts of global change on the phyllosphere microbiome. *New Phytologist*, 234(6), 1977-1986.

Annexe

Composition des réactifs et milieux de culture (Fradi *et al.*, 2022 ; Joffin et Leyral, 1996 ; Bric *et al.*, 1991).

- **Réactif de Salkowski**

FeCl ₃	81,1 g
Eau perchlorique	35 ml
Eau distillée	1000 ml

- **Tampon phosphate**

Phosphate monopotassique	0,2 M 250 ml
Hydroxyde de sodium	0,2 M 175 ml
Eau distillée	1000 ml
pH final = 7,2 ± 0,1	

- **Gélose nutritive**

Extrait de viande	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Peptone	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000ml
pH=7,5/ autoclavage 20 min à 121°C.	

- **Milieu King B agar**

Peptone	10 g
Glycérol	15 ml
Chlorure de sodium	5,0 g
Sulfate de magnésium	1,5 g
Phosphate bi-potassique	1,5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7,2 / Autoclavage 20 min à 121°C.	

- **Milieu LB**

Tryptone	10 g
Extrait de levure	5,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	15 g
pH = 7/ autoclavage 20 min à 121°C.	

- **Milieu au tween**

Peptone	10 g
NaCl	5,0 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1 g
Agar	18 g
Tween 80	1,0 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7,2 / Autoclavage 20 min à 121°C.

- **Bouillon peptone de levure**

Peptone	10 g
Extrait de levure	10 g
NaCl	5,0 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7,2 / Autoclavage 20 min à 121°C.