

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

1945 8

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.

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire: Biologie Moléculaire des Procaryotes.

Département: Biologie.

Thème

Effet de l'Apiros sur l'activité microbienne de la rhizosphère de *Pisum sativum* et isolement des bactéries endophytes

Présenté par :

Essalhi Amina

Oumeddour Bouthaina

Touaimia Ahlem

Devant la commission composée de :

Mme Drif F	Président	(M.C.B) Université de Guelma
Mme khenaka K	Encadreur	(M.A.A) Université de Guelma
Mme Grara N	Examineur	(M.C.A) Université de Guelma
Mme Khellaf M	Membre	(M.C.B) Université de Guelma
Mme Benbelkacem S	Membre	(M.A.A) Université de Guelma
Mr Athamnia M	Membre	(M.C.B) Université de Guelma

Juin 2017

Table des matières

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Rhizosphère et bactéries rhizosphériques

1. La rhizosphère	2
2. La communauté microbienne de la rhizosphère.....	2
3. Mécanisme des PGPR	3
3.1. Fixation de l'azote	3
3.2. Solubilisation de phosphate	4
3.3. Production des Phytohormones	5
3.4. Production des Sidérophores	6
3.5. Production des antibiotiques.....	8
3.6. Production des bactériocines	9
4. Les micro-organismes endophytiques	9
4.1. La diversité des bactéries endophytes associatives	10
4.2. Importance des bactéries endophytes associatives	10

Chapitre II : Les pesticides

1. Définition	11
2. Principales familles de pesticides utilisées en agriculture	12
2.1. Les fongicides	12
2.1.1. Les fongicides minéraux	12
2.1.2. Les fongicides organiques.....	13
2.2. Les insecticides	15
2.2.1. Les organochlorés	15
2.2.2. Les organophosphorés	16
2.2.3. Les carbamates	17
2.3. Les herbicides	17
2.3.1. Les herbicides appliqués au niveau foliaire	17
2.3.2. Les herbicides appliqués au niveau du sol	18

3. Utilisation des pesticides	19
4. Les problématiques de l'utilisation des pesticides	20
4.1. Les aspects technologiques	20
4.2. La pollution de l'environnement	21
4.3. Les problèmes toxicologiques et éco-toxicologique	21

Chapitre III: Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	23
2. Caractéristiques de l'échantillonnage.....	24
3. Produits et milieux de culture	24
4. Etude de l'effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne	25
4.1. Mesure de l'activité enzymatique par hydrolyse de l'FDA	25
4.2. Dénombrement des cellules bactériennes.....	26
5. Isolement et étude des activités des bactéries endophytes	26
5.1. Isolement et purification des bactéries endophytes	26
5.2. Test de solubilisation de phosphate sur milieu solide	27
5.3. Caractérisation de la production d'acide indole acétique (IAA).....	28
5.4. Identification (galeries API).....	28

Chapitre VI: Résultats et discussion

1. Etude de l'effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne	30
1.1. Mesure de l'activité enzymatique par hydrolyse de l'FDA	30
1.2. Dénombrement des cellules bactériennes.....	31
2. Isolement et étude des activités des bactéries endophytes	33
2.1. Isolement et purification des bactéries endophytes	33
2.2. Solubilisation de phosphate par les bactéries endophytiques.....	34
2.3. Caractérisation de la production d'acide indole acétique (IAA).....	35
2.4. Identification des bactéries endophytiques.....	37

<i>Conclusion et perspectives</i>	40
--	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Summary

المُلخَص

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir données la force et la patience.

Pour commencer nous voudrions remercier notre encadreur, Mme KHENAKA KARIMA, enseignante à l'université de Guelma qui nous a été d'une aide précieuse tout le long de notre travail.

On adresse nos sincères remerciements à la commission composée du président Mme Drif F, examinateur Mme Grara N, et les trois membres Mme Khellaf M, Mme Benbelkacem S, et Mr Athamnia M, qui ont prit le temps de nous écouter.

Nous remercions les techniciennes des laboratoires pédagogique de l'université 08 mai 45 pour leurs aides et leurs nombreux conseils.

On tient à exprimer aussi nos remerciements à un ami qui nous a aidé (Hammouche Ismail), et bien sûr à tous nos enseignants et nos amis de la promotion.

Un grand merci à tous

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Caractéristiques de site de l'échantillonnage	24
2	Isolement et purification des bactéries endophytes	34
3	Diamètres de solubilisation de phosphate par bactéries endophytiques	34
4	Quantification de la production de l'indole acétique acide	35
5	Identification des bactéries endophytiques	37
6	Identification par le système API Ne et API Staph	38

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Champ cultivé de petits pois	23
2	Plante de petit pois	23
3	Isolement des bactéries endophytes à partir des racines	27
4	Test d'oxydase	28
5	Dosage de l'hydrolyse de l'FDA	31
6	Liberation de la fluorescéine	31
7	Effet de pesticide sur la croissance microbienne	32
8	Comparaison entre l'effet de la concentration 0 et 6 mg/ml de pesticide sur la croissance microbienne	32
9	Effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne	33
10	Solubilisation de phosphate par les bactéries endophytiques	35
11	Mise en évidence de la Production de l'IAA	36
12	Observation microscopique des bactéries endophytiques (X1000)	38

Liste des abréviations

BNF: Biological fixation of nitrogen

DAPG: 2,4-diacétylphloroglucinol

DDD : Dichlorodiphényldichloroéthane

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DO: Densité Optique

EPS: Exopolysaccharides

EPTC: Ethyl-Dipropyl-Thiocarbamate

FAO: Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FDA: Fluorescéine di-acétate

HCN: Cyanure d'Hydrogène

IAA: Acide Indole Acétique

LB: Luria-Bertani

PGPR: Rhizobactéries Promotrices de la Croissance

PSM: Microorganismes Solubilisant de Phosphate

PVK: Pikovskaya

UFC: Unité Formant une Colonie

WHO: World Health Organisation

YMA: Yeast Mannitol Agar

Introduction

Introduction

La pollution de l'environnement a augmenté dans de nombreuses régions du monde en raison de l'utilisation répandue de pesticides, d'herbicides et d'insecticides dans l'agriculture. Les pesticides et leurs produits de dégradation sont devenus une menace sérieuse pour la vie humaine et animale lorsqu'ils s'accumulent dans la couche supérieure du sol posant un danger pour les micro-organismes du sol, en particulier les micro-organismes nitrifiants et ammonifères essentiels à la croissance des plantes. Beaucoup de ces pesticides ont été jugés toxiques, mutagènes et cancérigènes. De nombreuses études ont montré que presque 70% des pesticides utilisés ont des produits de dégradation qui se conservent dans le sol (**Arya, 2015**) Sur la base de ce constat, le concept d'agroécologie a été développé dans le but d'apporter des alternatives à des méthodes agricoles dangereuses tels que l'utilisation de la lutte biologique et aussi d'utiliser des techniques permettant l'élimination de l'excès de ces molécules dans le sol.

Dans le sol, les microorganismes représentent la majorité des organismes vivants et constituent une importante part de la diversité génétique de la planète. Il a été estimé qu'un gramme de sol contenait de 10^{10} à 10^{11} bactéries (**Horner-Devine et al., 2003**), de 6000 à 50000 espèces bactériennes (**Curtis et al., 2002**) et jusqu'à 200 m d'hyphes fongiques (**Leake et al., 2004**). De plus, les microorganismes jouent un rôle clé et influencent un grand nombre des processus des différents écosystèmes incluant l'acquisition des éléments nutritifs pour les plantes (**Sprent, 2001**), les cycles géochimiques comme celui de l'azote (**Kowalchuk et Stephen, 2001**) ou du carbone (**Högberg et al., 2001**) et la structure du sol (**Rillig et Mummey, 2006**).

La dégradation microbienne des pesticides est apparue comme une méthode biotechnologique peu coûteuse, écologique et compétente pour la bioremédiation. La rhizosphère, qui est la région du sol sous l'influence des racines, représente l'écosystème le plus adéquat pour cette fonction, cette région représente en fait, une niche microbienne très riche et très diversifiée.

Ce travail s'inscrit dans le but d'étudier l'effet de l'Apiros, herbicide contenant 75% de sulfosulfuron, sur la flore rhizosphérique de *Pisum sativum* par mesure de l'activité enzymatique et le dénombrement des cellules microbiennes. D'autre part, une deuxième partie s'est focalisée sur l'isolement et l'identification des bactéries colonisant les racines de cette plante et l'étude de leurs capacités à produire d'indole acétique (IAA) et à solubiliser le phosphate inorganique.

1. La rhizosphère

La rhizosphère est la région du sol directement influencée par les racines. On distingue en général le rhizoplan qui est l'interface racine/sol et le sol rhizosphérique situé au voisinage immédiat de la racine et soumis à son influence.

La rhizosphère est donc un environnement particulier où les flux de matières et d'énergie entre le sol et la plante sont particulièrement intenses (**Lynch, 1990**).

La plante y mobilise l'eau et les éléments minéraux nécessaires à son développement et à sa croissance, induisant aussi des modifications importantes du potentiel de l'eau et des concentrations ioniques du sol rhizosphérique. En outre, les échanges ioniques et gazeux entre les racines des végétaux et le sol, contribuent à modifier d'une manière notable le pH, le potentiel d'oxydo-réduction de la rhizosphère et, par suite, la biodisponibilité de nombreux éléments minéraux nutritifs ou non (**Hinsinger, 1998**).

2. La communauté microbienne de la rhizosphère

La richesse de la rhizosphère en sucres, amino-acides, acides organiques, isoflavonoïdes, régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plante, rend ce microenvironnement un site d'une remarquable activité biologique et d'une richesse naturelle en vers de terre, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries. Ces êtres vivants, les microorganismes en particulier, sont requis dans le processus de la décomposition et le recyclage des nutriments dans la rhizosphère de la plante (**Germida et al., 1998**).

Les microorganismes jouent aussi un rôle significatif dans l'état de la santé des plantes, certains sont nuisibles, d'autres sont bénéfiques et certains ne semblent avoir aucun effet. Les microorganismes rhizosphériques incluent les symbiotes (rhizobia, actinobactéries et champignons mycorhiziens) et les saprophytes libres qui augmentent la disponibilité de nutriments et la synthèse des substances de croissance des plantes et/ou suppriment les pathogènes. Un groupe de ces microorganismes rhizosphériques est classé comme des rhizobactéries promotrices de la croissance (PGPR). En effet, plusieurs microorganismes rhizosphériques produisent les auxines, l'éthylène, les cytokinines, les vitamines et autres substances qui peuvent avoir des effets positifs sur les cultures et leur production (**Schippers et al., 1987**).

La structure des racines et la composition des exsudats racinaires changent durant le développement de la plante ainsi qu'en fonction de conditions environnementales telles que la disponibilité de l'eau et la température. Par conséquent, la dynamique de la population des microorganismes rhizosphériques peut aussi changer. En effet, grâce aux signaux spécifiques, les plantes exercent une pression sélective qui tend généralement à réduire la diversité microbienne et à favoriser des espèces ou des souches particulières (**Ann et al., 2003**).

En outre, la compétition entre les microorganismes pour les nutriments et la colonisation des sites, la production des antibiotiques et des bactériocines, contribue à cette dynamique microbienne dans la rhizosphère. Par ailleurs, la communauté microbienne joue un rôle notable dans l'amélioration et la stabilisation de la structure du sol. Plusieurs études ont montré que l'agrégation et la stabilité d'un sol dépend de sa nature et de sa contenance en matière organique (**Elustondo et al., 1990**).

Il a été montré que l'action microbienne sur l'agrégation du sol est généralement due aux exopolysaccharides (EPS) produits par divers microorganismes (**Lynch, 1985**).

En effet, l'amendement du sol avec les EPS a été soldé par l'amélioration de sa structure, de même, l'inoculation du blé avec des bactéries productrices d'EPS, *Pantoea agglomerns* et *Paenibacillu spolymyxa*, a permis de réguler la rétention d'eau de la rhizosphère (**Amellal, 1998**).

3. Mécanisme des PGPR

3.1. Fixation de l'azote

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N₂ dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N₂ atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N₂ (BNF) qui modifie l'azote et l'ammoniac par des microorganismes fixant de l'azote à l'aide d'un système enzymatique complexe. En fait, BNF représente environ les deux tiers de l'azote fixé à l'échelle mondiale, tandis que le reste de l'azote est synthétisé industriellement. La fixation biologique de l'azote se produit généralement à des températures douces, par des microorganismes fixant de l'azote, qui sont largement distribués dans la nature (**Raymond et al., 2004**).

Les organismes de fixation de l'azote sont généralement classés comme:

- Des bactéries de fixation N₂ symbiotiques, y compris des membres de la famille des rhizobiaceae qui forment une symbiose avec des légumineuses (exemple : *Rhizobia sp*) et des arbres non légumineux (exemple : *Frankia sp*).
- Les formes de fixation de l'azote non-symbiotiques (libres de vie, associatives et endophytes) telles que les cyanobactéries (*Anabaena sp*, *Nostoc sp*, *Azospirillum sp*, *Azotobacter sp*,....) (**Bhattacharyya et Jha, 2012**).

Cependant, les bactéries non-symbiotiques de fixation de l'azote ne fournissent qu'une petite quantité de l'azote fixé que nécessite l'établissement hôte associé aux bactéries (**Glick, 2012**). Les membres de la famille des rhizobiaceae infectent et établissent une relation symbiotique avec les racines des légumineuses. L'établissement de la symbiose implique une interaction complexe entre l'hôte et le symbiont, ce qui entraîne la formation des nodules dans lesquels les rhizobia se forment comme des symbiotes intracellulaires (**Giordano et Hirsch, 2004**).

3.2. Solubilisation de phosphate

Le phosphore (P), le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, est largement disponible dans les sols à la fois organiques et inorganiques. Malgré ce grand réservoir de P, la quantité disponible pour les plantes est généralement faible. Cette faible disponibilité de phosphore pour les plantes est due à sa présence en majorité sous formes insolubles, alors que les plantes ne l'absorbent que sous formes solubles. Le P insoluble est présent comme un minéral inorganique tel que l'apatite ou comme l'une des nombreuses formes organiques, y compris le phosphate d'inositol (phytate du sol) (**Glick, 2012**).

Pour surmonter la déficience en P dans les sols, il existe des applications fréquentes d'engrais phosphatés dans les champs agricoles. Les plantes absorbent moins de quantités d'engrais phosphatés appliqués et le reste est rapidement transformé en complexes insolubles dans le sol. Mais l'application régulière d'engrais phosphatés n'est pas seulement coûteuse, mais elle est aussi indésirable pour l'environnement. Dans ce contexte, les organismes couplés à une activité de solubilisation de phosphate, souvent appelés microorganismes solubilisant de phosphate (PSM), peuvent fournir les formes disponibles de P aux plantes et donc un substitut

viable aux engrais phosphatés chimiques. Les PSB sont considérées comme des biofertilisants prometteurs (Khan et al., 2006).

Des genres bactériens comme *Azotobacter sp*, *Bacillus sp*, *Beijerinckia sp*, *Burkholderia sp*, *Enterobacter sp*, *Erwinia sp*, *Flavobacterium sp*, *Microbacterium sp*, *Pseudomonas sp*, *Rhizobium sp* et *Serratia sp* sont considérés comme les bactéries les plus significatives pour la phosphatation (Bhattacharyya et Jha, 2012).

Typiquement, la solubilisation du phosphore inorganique se produit en conséquence de l'action d'acides organiques de bas poids moléculaire qui sont synthétisés par diverses bactéries du sol. À l'inverse, la minéralisation du phosphore organique se produit par la synthèse d'une variété de phosphatases différentes, catalysant l'hydrolyse des esters phosphoriques. Fait important, la solubilisation et la minéralisation des phosphates peuvent coexister dans la même souche bactérienne (Glick, 2012).

Cependant, les PSB se retrouvent couramment dans la plupart des sols; Leur établissement et leurs performances sont sévèrement affectés par des facteurs environnementaux, en particulier dans des conditions de stress. Cependant, les effets bénéfiques de l'inoculation avec PSB ont été utilisés seul ou en combinaison avec d'autres des microbes rhizosphériques ont été rapportés. Outre la fourniture de P aux plantes, les bactéries solubilisantes de phosphate augmentent également la croissance des plantes en stimulant l'efficacité de BNF, en améliorant la disponibilité d'autres oligo-éléments en synthétisant des substances importantes favorisant la croissance des plantes (Zaidi et Khan, 2005; Vikram et Hamzehzarghani, 2008).

3.3. Production des Phytohormones

La synthèse microbienne des auxines (acide indole-3-acétique / acide indole acétique / IAA) est connue depuis longtemps. Il est rapporté que 80% des microorganismes isolés de la rhizosphère de diverses cultures possèdent la possibilité de synthétiser et de libérer des auxines comme métabolites secondaires. Généralement, l'IAA sécrétée par les rhizobactéries interfère avec de nombreux processus de développement de l'installation (Glick, 2012; Spaepen et al., 2007).

Évidemment, IAA agit également comme une molécule de signalisation réciproque affectant l'expression des gènes dans plusieurs microorganismes. Par conséquent, l'IAA joue un rôle

très important dans les interactions entre rhizobactéries et plantes. En outre, la régulation négative de l'IAA en tant que signalisation est associée aux mécanismes de défense des plantes contre un certain nombre de bactéries phyto-pathogènes (**Spaepen et Vanderleyden, 2011**).

IAA a été impliqué dans presque tous les aspects de la croissance et du développement des plantes, ainsi que des réponses de la défense. Cette diversité de fonctions se traduit par la complexité extraordinaire des voies de biosynthèse, de transport et de signalisation de l'IAA (**Santner et al., 2009**).

Généralement, IAA affecte la division, l'extension et la différenciation des cellules végétales; Stimule la germination des semences et des tubercules; Augmente le taux de développement du xylème et des racines; Contrôle les processus de croissance végétative; Initie la formation de racines latérales et accidentelles; Médiatise les réponses à la lumière, à la gravité et à la fluorescence; Affecte la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance à des conditions stressantes. En outre, l'IAA bactérienne augmente la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol. De plus, l'IAA rhizobactérien les parois cellulaires de la plante et, en conséquence, facilite une augmentation de l'exsudation des racines qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries de la rhizosphère (**Glick, 2012**). Ainsi, l'IAA rhizobactérien est identifié comme une molécule effectrice dans les interactions plantes microbes, à la fois en pathogenèse et en phytostimulation.

3.4. Production des Sidérophores

Pour satisfaire les exigences nutritionnelles du fer, les microorganismes ont développé des voies très spécifiques qui utilisent des chélateurs de fer de faible poids moléculaire appelés sidérophores. Les sidérophores sont sécrétés pour solubiliser le fer dans leurs environnements environnants, formant un sidérophore ferrique complexe qui peut se déplacer par diffusion et être renvoyé dans la surface de la cellule (**Andrews et al., 2003**).

Le système de transport actif à travers la membrane commence par la reconnaissance du sidérophore ferrique par des récepteurs membranaires spécifiques de bactéries Gram-négatif et Gram-positif (**Boukhalfa et Crumbliss, 2002**).

Les sidérophores peuvent chélater l'ion ferrique avec une grande affinité, permettant sa solubilisation et son extraction à partir de la plupart des complexes minéraux ou organiques (**Wandersman et Delepelaire, 2004**). Dans les conditions aérobies au pH physiologique, la forme ferreuse réduite (Fe^{+2}) est instable et est facilement oxydée à la forme ferrique (Fe^{+3}) oxydée, qui se produit normalement comme un hydroxyde de fer peu soluble, essentiellement indisponible pour les systèmes biologiques (**Krewulak et Vogel, 2008; Osorioetal, 2008**).

Les sidérophores bactériens ont été classés en quatre classes principales (carboxylate, hydroxamates, phénol, catécholates et pyoverdines) (**Crowley, 2006**).

Des centaines de siderophores ont été identifiés et signalés pour des microorganismes cultivables, dont certains sont largement reconnus et utilisés par différents microorganismes, tandis que d'autres sont spécifiques aux espèces (**Crowley, 2006; Sandy et Butler, 2009**). Dans le sol, l'activité de production de sidérophores joue un rôle central dans la détermination de la capacité de différents microorganismes à améliorer le développement des plantes. Les sidérophores microbiens améliorent l'absorption de fer par des plantes capables de reconnaître le complexe bactérien ferric-sidérophore (**Masalha et al. 2000; Katiyar et Goel, 2004; Dimkpa et al., 2009**). La production de sidérophores confère des avantages compétitifs au PGPR qui peut coloniser les racines et exclure d'autres microorganismes de cette niche écologique (**Haas et Défago, 2005**).

Dans des conditions hautement compétitives, la capacité d'acquérir du fer par sidérophores peut déterminer le résultat de la concurrence pour différentes sources de carbone disponibles en raison de l'exsudation des racines ou de la rhizodéposition (**Crowley, 2006**).

Parmi la plupart des sidérophores bactériens, ceux produits par les *Pseudomonas sp* sont connus pour leur grande affinité à l'ion ferrique. Le sidérophore puissant, le pyoverdine, par exemple, peut inhiber la croissance de bactéries et de champignons qui présentent des sidérophores moins puissants dans des milieux appauvris en fer in vitro.

Un siderophore pseudobactine produit par la souche *P. putida B10* a également été capable de supprimer *Fusarium oxysporum* dans le sol déficient en fer; Cette suppression a été perdue lorsque le sol a été réapprovisionné en fer, une condition qui réprime la production de chélateurs de fer par des microorganismes. Des études récentes ont démontré la suppression de pathogènes fongiques transmis par le sol grâce à la libération de siderophores chélatants de

fer par *Pseudomonas fluorescens*, ce qui le rend indisponible pour d'autres organismes (Dwivedi et Johri, 2003).

3.5. Production des antibiotiques

Outre la production de sidérophores, la production d'un ou plusieurs antibiotiques est le mécanisme le plus souvent associé à la capacité des bactéries favorisant la croissance des plantes à agir comme agents antagonistes contre les phytopathogènes (Glick et al., 2007).

La base de l'antibiose, l'activité de biocontrôle à base de sécrétion de molécules qui tue ou réduisent la croissance de l'agent pathogène cible, est mieux comprise au cours des deux dernières décennies (Whipps, 2001; Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Les antibiotiques englobent un groupe hétérogène de composés organiques, à faible poids moléculaire, nuisibles à la croissance ou aux activités métaboliques d'autres microorganismes (Duffy, 2003).

Selon (Haas et Défago, 2005), six classes de composés antibiotiques (pour lesquels leurs modes d'action sont en partie compris) sont mieux liées au contrôle biologique des maladies racinaires: les phénazines, les phloroglucinols, la pyoluteorine, la pyrrolnitrine, les lipopeptides cycliques (tous diffusible) et le cyanure d'hydrogène (HCN, qui est volatil). Plus récemment, les bio surfactants lipopeptides produits par les espèces de *Pseudomonas sp* et *Bacillus sp* ont été impliqués dans le contrôle biologique en raison de leur effet positif potentiel sur les interactions compétitives avec des organismes, y compris les bactéries, les champignons, les oomycètes, les protozoaires, les nématodes et les plantes (De Bruijn et al., 2007; Raaijmakers et al., 2010).

De nombreux types d'antibiotiques isolés des souches fongiques et bactériennes inhibent la synthèse des parois cellulaires pathogènes, influencent les structures membranaires des cellules et inhibent la formation de complexes d'initiation sur la petite sous-unité du ribosome (Maksimov et al., 2011).

La pyrrolnitrine, l'antibiotique produit par la souche *P. fluorescens BL915*, est capable d'éviter les dommages causés par *Rhizoctonia solani* pendant l'amortissement des plantes cotonnières. Le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) produit par des souches de *Pseudomonas*, un antibiotique efficace et largement étudié, provoque des lésions membranaires sur *Pythium sp*. Et est particulièrement inhibiteur des zoospores de cet oomycète (Souza et al., 2003).

Les antibiotiques, tels que la polymyxine, la circline et la colistine, produits par la majorité de *Bacillus spp.* Sont actives contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ainsi que de nombreux champignons pathogènes (Maksimov et al., 2011).

En ce qui concerne les bactéries comme agents de lutte biologique pour agir en tant que solution biologique, certains chercheurs ont mis en évidence l'utilisation d'espèces Gram-positif sporulantes telles que *Bacillus sp* et *Paenibacillus spp.*, Ce qui peut conférer une plus grande stabilité de la population lors de la formulation et du stockage des produits inoculants (Emmert et Handelsman, 1999; Kokalis-Burelle et al., 2005).

3.6. Production des bactériocines

D'autres molécules utilisées dans les systèmes de défense microbienne sont des bactériocines. Selon une critique de (Riley et Wertz, 2002), les bactériocines diffèrent des antibiotiques traditionnels d'une manière critique: ils ont généralement un spectre de destruction relativement étroit et ne sont toxiques que pour les bactéries étroitement liées à la souche produisant. Presque toutes les bactéries peuvent fabriquer au moins une bactériocine, et de nombreuses bactériocines isolées des bactéries Gram-négatif semblent avoir été créées par recombinaison entre les bactériocines existantes. Les coliques, les protéines produites par certaines souches d'*Escherichia coli* qui sont létales pour les souches apparentées, sont les bactériocines les plus représentatives produites par les bactéries Gram négatif. Comme la colicine, un nom dérivé d'*E. coli*, d'autres bactériocines ont ainsi été définies et nommées, telles que les pyocines provenant de souches de *P. pyogenes*, des cloacins d'*Enterobactercloacae*, des marcescines de *Serratiamarcescens* et des mégacines de *B. megaterium* (Cascales et al., 2007).

4. Les micro-organismes endophytiques

Le terme endophyte définit comme toute infection asymptomatique d'une plante par un microorganisme. Tout organe de l'hôte peut être colonisé, l'utilisation du terme «endophyte» pour les stratégies d'histoire de vie variables de la symbiose est également variable, allant de facultativement saprobique à parasitaire, à mutualiste (Schulmz, 2006).

4.1. La diversité des bactéries endophytes associatives

L'étude de la diversité des bactéries endophytes associatives suscite d'énormes intérêts, notamment qu'elles sont désignées comme bactéries de future dans le domaine agricole (Seghers *et al.*, 2004).

Contrairement aux rhizobiums, la taxonomie des bactéries endophytes associatives reste encore mal cernée. Cependant, la plupart de ces bactéries identifiées jusqu'à présent font partie des espèces appartenant aux genres, *Azospirillum*, *Acinetrobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Gluconoacetobacter*, (*Syn:Acetobacter*), *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* (Baldani *et Baldani*, 2005).

4.2. Importance des bactéries endophytes associatives

Traditionnellement, les bactéries endophytes étaient jadis assimilées aux pathogènes latents qui ne provoquent ni dommage ni apport bénéfique pour les plantes (Thomas *et Graham*, 1952).

Durant ces dernières années, de nombreux auteurs ont rapporté l'implication de ces endophytes dans l'amélioration de la croissance des plantes, la résistance aux agents pathogènes et de la production agricole (Benhamou *et al.*, 2000).

1. Définition

Le terme de pesticide dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement. Les pesticides, dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles.

Selon la définition de la FAO, un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles (Calvet, 2005).

Dans les textes relatifs à la réglementation nationale et européenne, les pesticides sont aussi appelés « Produits phytosanitaires », (**La directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991**) concernant la mise sur le marché du produits phytosanitaires, les définit comme étant :

Les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action.
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives.
- Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du conseil ou de la commission concernant les agents conservateurs.
- Détruire les végétaux indésirables.
- Détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

Les pesticides sont définis plus simplement comme des substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés. L'entretien

des zones non agricoles comme les espaces publics, les infrastructures de transport et les jardins des particuliers peuvent également nécessiter l'usage de pesticides.

Ainsi, les termes « résidus de pesticides » définissent des substances présentes dans l'environnement ou dans des produits et qui constituent le surplus de l'emploi d'un pesticide. Ces termes définissent aussi bien le composé que ses produits de dégradation. Les pesticides sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. La plupart des pesticides utilisés aujourd'hui sont des composés organiques dont un petit nombre est extrait ou dérivé des plantes. Ils sont composés en général de deux types de substances:

- Une ou plusieurs matières actives qui confèrent au produit l'effet désiré.
- Un ou plusieurs additifs qui renforcent l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation. Ils peuvent également être utilisés pour la régulation de la croissance des plantes et la conservation des récoltes. Ils permettent l'amélioration de la quantité et de la qualité des denrées alimentaires et peuvent diminuer l'ampleur des maladies pouvant être transmises à l'homme. Néanmoins, ils restent des produits toxiques et présentent donc des dangers potentiels pour l'homme, les animaux et l'environnement (**La directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991**).

2. Principales familles de pesticides utilisées en agriculture

2.1. Les fongicides

Très fréquemment employés contre les maladies cryptogamiques, les fongicides assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites et permettent l'obtention de plantes saines. On distingue deux grands groupes de fongicides: les fongicides minéraux et les fongicides organiques qui sont majoritairement des produits de synthèse (**Periquet, 2004**).

2.1.1. Les fongicides minéraux

Parmi les fongicides minéraux on trouve:

) **Les fongicides à base de cuivre**

Ce sont les plus nombreux et les plus fréquents. Le plus connu est la bouillie bordelaise, mélange de sulfate de cuivre, de chaux et d'eau. Il existe également des préparations à base d'oxychlorure de cuivre. Les sels de cuivre agissent sur un très grand nombre de champignons qui sont responsables des tavelures, des mildious, chancres, et/ou pourriture grise (**Periquet, 2004**).

) **Les fongicides à base de soufre**

Les vapeurs de soufre pénètrent dans les cellules et entrent en compétition avec l'oxygène dans les chaînes respiratoires. La quantité des soufres employés a une importance dans l'efficacité du traitement. La toxicité de ce type de fongicide est presque nulle vis à vis de l'homme et des animaux. Il existe 3 types de fongicides soufrés: les soufres triturés, les soufres sublimés et les soufres mouillables (**Periquet, 2004**).

) **Les fongicides à base de permanganate de potassium**

Ils agissent uniquement à titre curatif sur les oïdiums qu'ils détruisent par contact (**Periquet, 2004**).

2.1.2. Les fongicides organiques

Les fongicides organiques sont arrivés sur le marché vers 1950, et se sont rapidement développés. Très efficaces, ils possèdent un large spectre d'action. Les fongicides organiques représentent un groupe important de molécules dont la structure chimique est variée. Parmi les principaux il y a:

) **Les carbamates**

➤ Les dérivés de l'acide carbamique et benzimidazolés: A partir des années 1970, l'introduction du groupe des benzimidazolés a révolutionné le traitement de nombreuses maladies des plantes. Ce groupe comprend le bénomyl, le thiophanate-méthyl et le carbendazime. Les benzimidazolés inhibent la mitose du champignon.

➤ Les dérivés de l'acide thiocarbamique et dithiocarbamique: Les dérivés de l'acide thiocarbamique constituent une famille chimique très importante. Ces fongicides ont en commun leur absence totale de phytotoxicité, et une faible écotoxicité. On trouve dans cette famille: le mancozèbe, le manèbe, le propinèbe, le zinèbe et le zirame.

- Les dithiocarbamates: Ont une action inhibitrice sur la respiration des champignons. Ce groupe est surtout représenté par le thirame (**Periquet, 2004**).

) **Les dérivés du phénol**

Ce groupe chimique, proche des dérivés du benzène est assez restreint. Son principal représentant est le dinocap qui agit sur la respiration. Le dinocap est phytotoxique (**Periquet, 2004**).

) **Les dicarboximides**

- Les phtalimides : Ces molécules ont une action sur la respiration du champignon. Les principaux représentants sont le captane et le folpel.

- Les imides cycliques : Ces molécules causent des désordres dans les cellules du champignon spécialement quand celui-ci croît et se multiplie. L'iprodione, le procymidone et la vinchlozoline sont les plus utilisés (**Periquet, 2004**).

) **Les amides et amines**

- Les anilide : Les fongicides de cette classe ont une action sur les Basidiomycètes. Ils inhibent la respiration du champignon par inhibition de la succinate déhydrogénase. Le carboxine et le flutolanil sont utilisés pour le traitement des plants et des semences, le mépronil sert au traitement du sol et des parties aériennes de la laitue ou de la scarole.

- Les phénylamides : Cette classe, qui comprend le bénomyl utilisé dans le traitement des parties aériennes de la tomate et de l'oignon contre le mildiou, et le métalaxyl pour traiter par exemple les parties aériennes des carottes contre la maladie de la bague ou de la tache ou sur les parties aériennes du cornichon ou du concombre contre le mildiou (**Periquet, 2004**).

) **Les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols**

Cette classe de fongicides agit sur les cellules du champignon en inhibant la synthèse des stérols. Ils ont un effet sur les attaques dues aux ascomycètes, aux basidiomycètes et aux champignons imparfaits mais ils n'ont pas d'activité sur les Oomycètes (**Periquet, 2004**).

) Les anilinopyrimidines

Ce groupe comprend le cyprodinil et le pyriméthanil utilisé contre le développement de la pourriture grise au niveau des parties aériennes du fraisier. Leur mécanisme d'action est encore mal connu. (Milling et Richardson, 1995), rapportent que le pyriméthanil inhibe la sécrétion d'enzymes hydrolysantes et (Masner et al., 1994) qu'il est possible qu'ils inhibent la biosynthèse de la méthionine.

) Les méthoxyacrylate et fongicides apparentés

Ces produits ont été développés à partir de substances naturelles secrétées par des champignons de forêts. Le mode d'action de ces anti-fongiques est l'inhibition de la chaîne respiratoire du cytochrome b/c1. Ce groupe est composé de l'azoxystrobine, du krésoxim-méthyl, de la picoxystrobine et de la trifloxystrobine (Periquet, 2004).

2.2. Les insecticides

Trois plus grandes familles auxquelles appartiennent les insecticides organiques de synthèse sont:

2.2.1. Les organochlorés

Les organochlorés sont des insecticides qui contiennent du carbone, de l'hydrogène et des atomes de chlore. Ces sont les insecticides les plus anciens même s'il persiste actuellement peu de substances actives encore autorisées (Periquet, 2004).

) Les diphényls aromatiques

Groupe d'organophosphorés les plus anciens comprennent le DDT, le DDD, le dicofol et le méthoxychlore. Le DDT est probablement le plus connu des organochlorés, tant par rapport à son efficacité en tant qu'insecticide dans le contrôle des vecteurs de la malaria ou de la fièvre jaune par exemple, qu'à cause de sa rémanence et de ses effets nocifs sur les espèces non cibles. Son mécanisme d'action n'a jamais été clairement établi. Le lindane, ou isomère g de l'hexachlorocyclohexane, a également été longtemps utilisé dans de nombreux pays. C'est un insecticide neurotoxique dont les effets sont foudroyants. Il est encore utilisé dans de nombreux produits antiparasitaires à usage vétérinaire (Periquet, 2004).

) **Les cyclodiènes**

Sont apparus après la seconde guerre mondiale. Parmi les formulations les plus connues et répandues on retrouve le chlordane, l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore ou l'endosulfan par exemple. Ces insecticides agissent en bloquant les récepteursH GABA neuronal. La plupart des cyclodiènes sont des insecticides persistants, stables dans les sols et peu photodégradables. A cause de leur caractère persistant, les cyclodiènes tels que le chlordane, l'heptachlore ou l'aldrine ont été utilisés dans les sols, à des quantités assez élevées de manière à pouvoir assurer une protection contre ces insectes pendant près d'une cinquantaine d'années (**Periquet, 2004**).

) **Les polychloroterpènes**

Dont le toxaphène est le plus connu sont des insecticides dont le mode d'action est proche de celui des cyclodiènes. Le toxaphène est relativement persistant dans les sols, mais sa volatilité est un atout. De plus, il est peu toxique pour les mammifères et les oiseaux chez qui il est rapidement métabolisé ; par contre il présente une toxicité importante chez les poissons (**Periquet, 2004**).

2.2.2. Les organophosphorés

Les organophosphorés sont des pesticides utilisés en milieu agricole comme insecticides. Ils appartiennent à la famille chimique des anticholinestérasiques. Ce sont des esters de l'acide phosphorique dont les noms de substances actives sont le plus souvent identifiables par leur terminaison en "phos" ou en "thion". Les organophosphorés pénètrent dans la plante et ont soit une action de surface et ne sont pas véhiculés dans la plante, soit un effet systémique et diffusent dans la plante. Au niveau de l'insecte, la pénétration des organophosphorés peut se faire par contact, digestion ou inhalation. Ce sont des molécules neurotoxiques qui bloquent l'activité enzymatique des acétylcholinestérasesH. Les organophosphorés sont très toxiques pour les vertébrés et la plupart des substances actives sont chimiquement instables.

On retrouve trois grands groupes d'organophosphorés :

- les organophosphorés aliphatiques tels que le malathion, le diméthoate ou le dichlorvos.

- les dérivés phényles tels que le parathion, le méthylparathion ou le profenofos et qui sont généralement plus stables que leurs congénères aliphatiques.
- les hétérocycles dont le chlorpyriphos, le méthidathion et le phosmet font partie (**Periquet, 2004**).

2.2.3. Les carbamates

Ce sont des insecticides dérivés de l'acide carbamique, qui agissent en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase. Le carbaryl est le carbamate le plus utilisé en raison de son spectre d'action très étendu pour les contrôles des insectes et en raison de sa faible toxicité chez les mammifères. Le carbofuran, l'aldicarbe, le carbosulfan ou encore le fénoxycarbe sont également des carbamates largement utilisés (**Periquet, 2004**).

) Les pyréthriinoïdes de synthèse

Ils agissent sur le système nerveux central et périphérique des insectes. On les considère donc comme des poisons axoniques.

Ce sont des insecticides particulièrement efficaces, dont l'utilisation est très répandue, tant dans le domaine agricole qu'en milieu domestique (**Periquet, 2004**).

2.3. Les herbicides

Par souci de simplicité, les herbicides seront traités en fonction de leur mode d'application et de leur mode d'action.

2.3.1. Les herbicides appliqués au niveau foliaire

) Les régulateurs de croissance

Les substances actives de ces composés affectent la croissance des plantes en agissant sur la synthèse des protéines et la division cellulaire. En fait ces herbicides vont entraîner une croissance anormalement rapide des plantes pour arriver à leur sénescence. Les substances actives les plus connues et utilisées sont le 2,4-D, le dichloprope et le 2,4,5-T par exemple.

) **Les inhibiteurs de la synthèse d'acides aminés**

Parmi les herbicides qui altèrent la synthèse d'acides aminés aromatiques on retrouve le glyphosate qui est un herbicide de contact employé en post-levée sur les plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces, les graminées...(**Periquet, 2004**).

) **Les destructeurs de la membrane cellulaire**

Les bypyridilium et les diphenyl esters sont les deux principales familles d'herbicides qui altèrent la membrane cellulaire, pénètrent dans le cytoplasme. Parmi les substances actives qui agissent ainsi on retrouve le paraquat, le diquat ou le fomesafen (**Periquet, 2004**).

) **Les inhibiteurs de la photosynthèse**

Les herbicides de la famille des triazines et des phénylurées agissent en interférant avec la photosynthèse ; les triazines empêchent le transport des électrons, tandis que les phénylurées bloquent les réactions de photophosphorylation. L'atrazine, la simazine, la cyanazine ou encore le diuron et le linuron entrent dans cette catégorie d'herbicides. Responsables de stress oxydant. Parmi les substances actives qui agissent ainsi on retrouve le paraquat, le diquat ou le fomesafen (**Periquet, 2004**).

2.3.2. Les herbicides appliqués au niveau du sol

) **Les inhibiteurs de la division cellulaire**

Certains herbicides de la famille des dinitroanilines (dinitrobenzenamines) comme la trifluraline, la prodiamine ou la pendiméthaline agissent en inhibant les étapes de division cellulaire responsables de la séparation des chromosomes et de la formation de la paroi cellulaire au niveau des racines de la plante. Les conséquences étant un nombre de racines trop faible pour pouvoir correctement assurer la nutrition de la plante.

D'autres herbicides de la famille des thiocarbamates (butylate, cycloate...) et de la famille des amides substituées (alachlore, métolachlore...) agissent en interférant avec la division cellulaire des tissus méristématiques, ils agissent donc sur les plantules après absorption racinaire et empêchent l'évolution vers la plante adulte (**Periquet, 2004**).

) **Les destructeurs de pigments**

Le clomazone ou la norflurazon agissent sur les plantes en détruisant la chlorophylle, ce qui empêche ensuite la plante de pouvoir réaliser correctement la photosynthèse (**Periquet, 2004**).

3. Utilisation des pesticides

Des pesticides sont utilisés :

) En agriculture

Pour détruire ou combattre les ennemis des cultures. En effet, afin de conserver des cultures saines, les agriculteurs mènent une lutte incessante contre les insectes, champignons et maladies des plantes, ainsi que contre les mauvaises herbes qui les privent d'une partie de l'eau, des matières nutritives et de la lumière dont ont besoin les végétaux. Ceci permet donc une production agricole de qualité constante et la maîtrise des ressources alimentaires. Des pesticides sont également utilisés pour les traitements des produits stockés tels que : les semences ou les céréales conservées dans les silos qui peuvent être altérés par des moisissures, des champignons ou encore détruits par certains insectes ; les fruits dont la conservation doit garantir les qualités sanitaires, gustatives et organoleptiques (**Periquet, 2004**).

) En sylviculture

Lors de la production du bois pour limiter l'action des insectes et champignons, lors d'actions de désherbage pour préparer le terrain forestier, dégager les conifères, par exemple, ou encore détruire toute espèce nuisible au développement d'essences forestières. Le stockage du bois avant commercialisation et utilisation nécessite également l'emploi de fongicides et d'insecticides pour limiter toute altération (**Periquet, 2004**).

) Pour le désherbage des zones non cultivées

Des voies ferrées, des clôtures, des lignes de transport de l'énergie, des allées de jardins publics, des pelouses ou encore des abords des plans d'eau de loisirs, carrières...(**Periquet, 2004**).

) Pour le traitement

De bâtiments d'élevage, de matériel de stockage et de transport animaux, de matériel de laiterie ou encore de matériel vétérinaire. L'utilisation d'insecticides, de bactéricides et de nématocides permet de garantir l'état sanitaire des bâtiments d'élevage ; des pesticides sont

utilisés pour éviter toute prolifération de champignons, levures, bactéries et virus au niveau du matériel de laiterie et des instruments à usage vétérinaire (**Periquet, 2004**).

) Pour le contrôle de la santé humaine mondiale

Est la lutte contre les vecteurs de maladies telles que la malaria ou le typhus, avec l'utilisation d'insecticides efficaces permettant d'enrayer les épidémies. Nombre d'insecticides sont également utilisés dans la vie courante pour la lutte contre les espèces commensales telles que les blattes ou les mites, ainsi que contre les fourmis ou les moustiques (**Periquet, 2004**).

4. Les problématiques de l'utilisation des pesticides

Les pesticides sont des substances dont les propriétés physiques, chimiques et biologiques permettent de détruire ou de limiter le développement et la croissance d'organismes vivants. Ce ne sont donc pas des substances anodines et leur mise en œuvre doit nécessairement être soumise à des règles strictes d'utilisation. Celle-ci est ainsi confrontée à plusieurs problématiques en relation avec les aspects technologiques des traitements, la pollution de l'environnement, la sécurité de la manipulation et la sécurité alimentaire (**Calvet, 2005**).

4.1. Les aspects technologiques

Il est néanmoins utile de souligner une caractéristique technologique importante de l'application des pesticides ; il s'agit de leur formulation. En effet, les propriétés physiques des matières actives et les quantités utilisées imposent de ne pas les appliquer seules mais associées à divers agents de formulation pour en faciliter la manipulation (particulièrement pour les substances très peu solubles dans l'eau), obtenir la plus grande efficacité possible et la meilleure sécurité d'emploi. Peu de substances actives sont appliquées sans adjuvants, comme le soufre micronisé par exemple. Les agents de formulation permettent de diluer les matières actives pour pouvoir les épandre plus facilement ; ils permettent aussi de les mettre sous forme de suspensions ou d'émulsions selon leur état physique et de les conditionner sous des formes solides d'emploi plus commode. Etant donné qu'elles peuvent avoir une influence sur le devenir des pesticides dans le sol. Une caractéristique notable des pesticides, est la tendance à l'application de quantités de matières actives de plus petites pouvant atteindre quelques dizaines de grammes à l'hectare. Cette évolution nécessite des préparations et des

matériels de traitement adaptés, ce qui génère évidemment de nombreux problèmes technologiques (Calvet, 2005).

4.2. La pollution de l'environnement

Il existait, en 2001, environ 800 matières actives (IFEN, 2003). Ces nombres évoluent continuellement en raison de l'arrivée sur le marché de nouveau produit.

En réalité, il est inévitable que certains pesticides soient présents plus ou moins longtemps dans l'air, les eaux et les sols, Le passage dans l'atmosphère est étudié depuis assez peu de temps et les données sont encore peu nombreuse. L'essentiel a récemment été publié et montre que divers pesticides peuvent se trouver dans l'air à des concentrations parfois non négligeables et être transportés sur des grandes distances (Bedos et al., 2002).

Les eaux marines littorales ne sont pas épargnées et les analyses effectuées sur des moules et des huîtres montrent la présence de composés organochlorés alors que leur usage est interdit. Cela est probablement dû à leur grande persistance dans les sols. Bien que la plupart des pesticides transitent par le sol, il apparaît un réel transfert vers les eaux, ce qui nécessite, à la fois, la surveillance des ressources en eaux et l'application de critères de potabilité et de qualité écologique (Calvet, 2005).

4.3. Les problèmes toxicologiques et éco-toxicologique

Les pesticides sont plus ou moins toxiques à l'égard de l'homme qui peut les absorber par contact (voie cutanée et voie oculaire), inhalation (voie respiratoire) ou ingestion (voie digestives). Des informations sur leur classement et sur les caractéristiques de leur toxicité ainsi que les références bibliographiques ont été récemment rassemblées et publiées (Conso et al. 2002). L'existence de cette toxicité impose de limiter voire d'éviter leur présence dans les aliments ainsi que le respect de règles strictes de manipulation. Des limites maximales de résidus ont été définies à ce propos et ont fait l'objet de textes réglementaires pour leur définition et l'évaluation des risque pour la santé (**directive 91/414/CEE ; Codex Alimentarius (FAO et WHO, 2004)**). Elles ne concernant que les produits frais et non les produits transformés (Conso et al., 2002). Par ailleurs, les personnes qui manipulent des pesticides doivent observer un minimum de règles de protection lors de la préparation des produits et des matériels, pendant et après les traitements (Cietap, 2003).

L'homme n'est pas le seul être vivant à subir les effets des pesticides, les autres organismes animaux et végétaux sont également exposés. Les études toxicologiques ont surtout été menées sur les milieux aquatique et des critères d'écotoxicité ont été définis pour les algues, les poissons et les micro-crustacées (**Sdqppv, 2002 ; Echaubard, 2002**).

Enfin il faut signaler d'autres problèmes liés à l'utilisation des pesticides. Il s'agit des modalités de stockage et de transport ainsi que de l'élimination des produits non utilisés, des emballages et des eaux usées provenant du nettoyage des appareils de traitement. Toutes ces opérations font l'objet de recommandation et de dispositions législatives (**Fagot et Larrat, 2002**).

***Matériel et
méthodes***

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage

Les échantillons de sol et de racines que nous avons utilisés dans ce projet, ont été collectés en mars 2017, à partir de sites situés sur les champs cultivés de petits pois (**Figure 1**), dans la région de Héliopolis au Nord de Guelma. L'échantillonnage a été réalisé à partir de la rhizosphère de *Pisum sativum*, dont trois plantes saines sont choisies aléatoirement, à l'aide d'une tarière les racines sont enlevées de la terre, après le sol qui est bien attaché aux racines est récupéré aseptiquement dans des sacs stériles. Les racines des trois plantes sont aussi récupérées (**Figure 2**).

Tous les échantillons sont transférés au laboratoire et ce sont conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.



Figure 1 : Champ cultivé de petits pois



Figure 2 : Plante de petit pois

2. Caractéristiques de l'échantillonnage

Le tableau ci-dessous résume quelques caractéristiques sur l'échantillonnage utilisé

Tableau 1: Caractéristiques de l'échantillonnage

pH du sol	8,05
Espèce	<i>Pisum Sativum</i>
Nom vernaculaire	Petits pois
L'âge de la plante	12 semaines
Longueur de la plante	100 cm
Longueur des racines	20 cm

3. Produits et milieux de culture

- Les milieux de culture utilisés sont :
 - Gélose nutritif pour l'étape de dénombrement.
 - YMA et Luria-Bertani (LB) pour l'isolement des bactéries endophytes et le repiquage des souches bactériennes testées.
 - Bennett et Olson pour l'isolement des actinomycètes endophytes.
 - LB bouillon + tryptophane employer pour le test de la production des auxines.
 - Bouillon nutritif pour la conservation des souches.
 - Pikovskaya (PVK) pour le test de solubilisation du phosphate.

- **Pesticide :** L'herbicide utilisé dans notre étude est constitué principalement de 75% de Sulfosulfuron(N-[[4,6-dimethoxy-2-pyrimidinyl)amino]carbonyl]-2-ethylsulfonyl imidazo[1,2a]pyridine-sulfonamide), ce dernier est utilisé pour la protection de blé contre plusieurs mauvaises herbes principalement les Monocotylédones, Dicotylédones, Brome, Phalaris, Raygras, Chiendent, Gaillet, Mouron, Matricaire et Crucifère (**Healy, 2004**).

Le sulfosulfuron est un herbicide sélectif qui est absorbé par les feuilles et les racines des plantes, une fois il se propage à l'intérieur, il inhibe la biosynthèse des acides aminés et par conséquent il empêche la division cellulaire et la croissance des plantes. Malgré son absorption par les plantes, un grand pourcentage de cette matière

chimique se trouve dans le sol, dont son accumulation peut influencer les paramètres biotiques et abiotiques du sol.

- **Les disques d'oxydase.**
- **Galleries API :** API Staph, API 20Ne.

4. Etude de l'effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne

4.1. Mesure de l'activité enzymatique par hydrolyse de l'FDA

La mesure de l'hydrolyse de l'FDA, ou fluorescéine di-acétate, est une méthode qui permet de mesurer l'activité enzymatique globale d'un échantillon de sol. Le principe repose sur l'apport de FDA dans le milieu de vie des microorganismes qui, sous l'action de différentes enzymes hydrolytiques microbiennes (Lipases, protéases, estérases...), va être hydrolysé et va libérer de la fluorescéine. La quantité de fluorescéine libérée va être mesurée grâce aux propriétés de fluorescence de cette molécule par spectrophotométrie. Plus l'intensité de fluorescence est importante, plus l'activité FDA hydrolase est importante et donc de manière générale, plus l'activité microbienne dans l'échantillon analysé est élevée (Osswald, 2012).

L'analyse de l'activité microbienne a été réalisée selon les étapes suivantes :

- 4 g de chaque échantillon de sol ont été placés dans 100 ml de tampon phosphate de sodium à 60 mM (pH 7,6) dans des flacons de 250 ml, puis des quantités croissantes de pesticide ont été ajoutées de façon à obtenir des concentrations de : 0, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ($\mu\text{g/ml}$). Ensuite les flacons sont placés dans une étuve agitatrice avec une vitesse de 120 tour/min à une température ambiante pendant une nuit.
- Après, 10mg de l'FDA a été ajoutée dans chaque flacon, qui ont ensuite été placés dans l'étuve agitatrice une autre fois pour une nuit à 24°C. Une fois retiré de l'étuve, 50ml d'acétone a été ajouté immédiatement pour mettre fin à la réaction. Le contenu a ensuite été transféré dans les tubes Falcon et centrifuger à 4000 tour/min pour 10 min. Le surnageant de chaque échantillon était récupérés et l'absorbance est mesuré à 490 nm dans un spectrophotomètre < **Jenway 6305** >.
- Les résultats sont révélés à l'aide d'une courbe étalon réalisé par la fluorescéine (Voir annexe 2).

4.2. Dénombrement des cellules bactériennes

Le dénombrement a été réalisé à partir des flacons utilisés pour le test précédent. Exactement après la première étape. Avant l'addition de l'FDA, un ml est prélevé aseptiquement et est utilisé pour préparer des dilutions décimales dans l'eau physiologique stérile (9‰).

A partir des dilutions (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}) 50 μ l a été étalé par un râteau sur la surface d'une gélose nutritive, les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 30°C pendant 24 h.

Les résultats sont révélés par comptage des colonies et multiplication par le volume et le facteur de dilution utilisé.

Chaque colonie (grande et petite) est soigneusement comptée (en utilisant un compteur de colonies grossissantes si nécessaire). Chaque colonie représente une "unité formant une colonie" (CFU).

Le nombre de microorganismes présents dans l'échantillon d'essai particulier est déterminé en utilisant la formule:

$$\text{UFC / ml} = \text{CFU} \times \text{facteur de dilution} \times 1 / \text{aliquote}$$

Pour des comptages précis, le comptage optimal doit se situer dans la plage de 30 à 300 colonies / plaque. Pour assurer une plaque comptable, une série de dilutions doit être faite.

5. Isolement et étude des activités des bactéries endophytes

5.1. Isolement et purification des bactéries endophytes

Les racines de plantes sont utilisées pour isoler les bactéries endophytes (**Figure 3**), ces derniers sont d'abord:

-) Lavés à l'eau de robinet pour éliminer le reste du sol.
-) Désinfectés en surface en les submergeant dans une solution d'eau de Javel diluée à 1/3 pendant 5 min.

- J) Rincés 5 fois avec de l'eau distillée stérile pour éliminer le reste d'eau de Javel et cela sous des conditions aseptiques.

A ce stade une des racines a été déposée dans une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive, afin de vérifier la pureté de la surface des racines.

Le reste des racines ont été broyées dans 10ml d'eau distillée stérile à l'aide du pilon et du mortier bien désinfecté.

Le mélange obtenu a été mise en agitation pendant 15 min pour détacher les bactéries. Puis des boîtes contenant les milieux de culture ont étéensemencées par 50 μ l de la solution. Afin de récupérer le maximum de souches, quatre milieux de culture différents sont utilisés, il s'agit des milieux: Luria-Bertani, YMA, Bennett et Olson.

Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 24 h pour Luria-Bertani, YMA et 5 jours pour Bennett et Olson.

Les isolats obtenus sont purifiés sur le même milieu d'isolement et sont ensuite conservés à -20°C.



Figure 3 : Isolement des bactéries endophytes à partir des racines

5.2. Test de solubilisation de phosphate sur milieu solide

La capacité des bactéries isolées à solubiliser le phosphate inorganique a été testée selon la méthode décrite par pikovskaya (**Hatim, 2015**). La composition du milieu de culture est citée dans l'annexe 1.

Le principe de cette méthode est de mettre la souche bactérienne en contact avec le phosphate inorganique sous forme $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ qui est insoluble dans le milieu, après la croissance

bactérienne, l'apparition d'un halo clair au tour de la colonie indique la solubilisation de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Les souches bactériennes sont ensemencées sur le milieu pikovskaya par spot. Les boîtes sont incubées pendant 4 jours à 30°C. Les résultats sont révélés par mesure le l'halo clair au tour des colonies.

5.3. Caractérisation de la production d'acide indole acétique (IAA)

IAA a été déterminé *in vitro* par la méthode de Salkowski Holt (**Hatim, 2015**). Les cultures bactériennes ont été inoculées dans du bouillon de LB avec du tryptophane (500 $\mu\text{g/ml}$) et incubé à 30°C pour 4 jours. Les cultures ont été centrifugées à 4000 tour/min pendant 15min. 1 ml de surnageant a été mélangé avec 2 ml de réactif de Salkowski (50 ml, 35% acide perchlorique; 1 ml de 0,5 M FeCl_3) et maintenu à l'obscurité. La densité optique (DO) a été mesurée à 530 nm après 20 min. Les résultats sont déduits à partir d'une courbe étalon de l'IAA (voir annexe 2).

5.4. Identification (galeries API)

Le type de la galerie Api est choisi d'après les résultats des tests suivants :

- Coloration de Gram.
- Test d'oxydase (**Figure 4**).



Figure 4 : Test d'oxydase

- La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

- La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Etude de l'effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne

1.1. Mesure de l'activité enzymatique par hydrolyse de l'FDA

Les résultats de dosage de l'hydrolyse de l'FDA sont résumés dans la (**Figure 5**), selon ces résultats la concentration de la fluorescéine est située entre 52,69 et 89,11 $\mu\text{g/ml}$, d'après cette figure, l'activité microbienne révélée par la concentration de la fluorescéine augmente avec l'augmentation de la concentration de pesticide jusqu'à un maximum de 89,11 $\mu\text{g/ml}$ enregistré pour la concentration 6 mg/ml de pesticide, après l'activité microbienne diminue.

L'activité microbienne dans ce test est liée en effet à l'activité de plusieurs enzymes (Protéase, Lipase, Estérase...) sur l'FDA qui libère la fluorescéine de couleur verte (**Figure 6**) de se fait l'augmentation de la concentration de la fluorescéine dans le milieu est liée à une augmentation dans l'activité enzymatique et par conséquent dans l'activité microbienne cette augmentation peut être attribuée à une dégradation de pesticide pendant les 24 heures de contact avec la microflore rhizosphérique, la diminution de l'activité après la concentration 6mg/ml signifie que la quantité de pesticide devient létale et réduit l'activité microbienne.

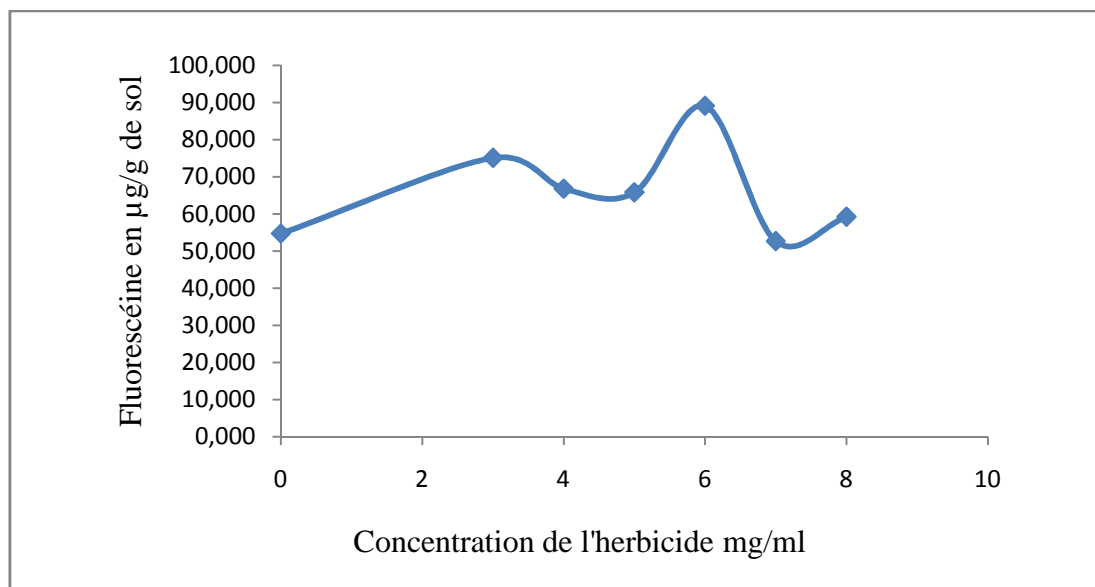


Figure 5 : Dosages de l'hydrolyse de l'FDA

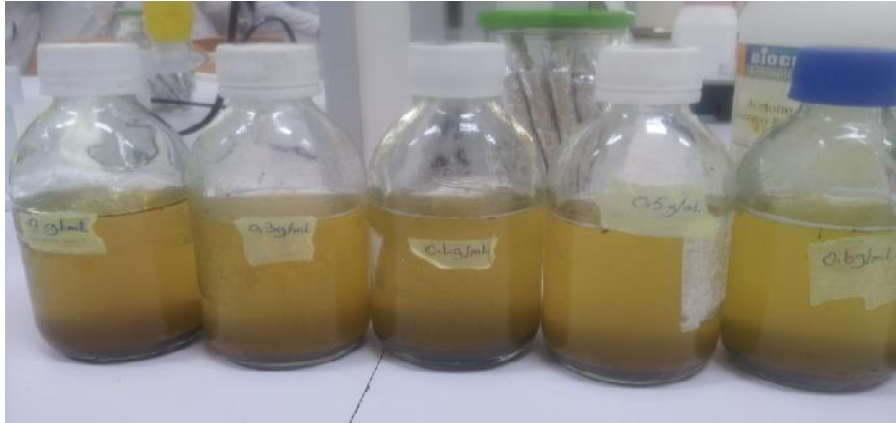


Figure 6 : Libération de la fluorescéine

(Kucharski et Wyszowska, 2008) ont étudié les effets de l'herbicide Apyros 75 WG sur l'activité des enzymes du sol. La contamination des sols par Apyros 75 WG affecte l'équilibre microbiologique du sol, car il perturbe la multiplication de certains groupes microbiens et inhibe l'activité des enzymes du sol.

Ces différents effets des pesticides sur les microorganismes du sol peuvent résulter des différentes structures chimiques de la substance active ou de la tolérance des microorganismes à ces produits. Les pesticides, pour certains microorganismes, peuvent représenter un nutriment ou une source d'énergie appropriée, mais à une certaine concentration peuvent être toxiques et par conséquent ils provoquent des troubles du métabolisme cellulaire, ce qui peut toucher même la diversité microbienne (Crouzet *et al.*, 2010; Singh et Goshal, 2010).

1.2. Dénombrement des cellules bactériennes

Les résultats de l'effet de pesticide sur la croissance microbienne sont présentés sur la (Figure 7), selon ces résultats la croissance microbienne est située entre $6,50 \cdot 10^{10}$ UFC/ml et $2,48 \cdot 10^{12}$ UFC/ml, d'après cette figure, la biomasse microbienne augmente avec l'augmentation de la concentration de pesticide jusqu'à un maximum de $2,48 \cdot 10^{12}$ UFC/ml enregistré pour la concentration 6mg/ml de pesticide, après la biomasse microbienne diminue (Figure 8) où le nombre de colonies devient inférieur au nombre initial. Plusieurs travaux ont rapporté l'inhibition de la croissance microbienne par l'utilisation des pesticides (Demenaou *et al.*, 2004; Ratcliff *et al.*, 2006).

La réduction de la population bactérienne après traitement avec des herbicides a également été trouvée par (Bacmaga et al.,2012).

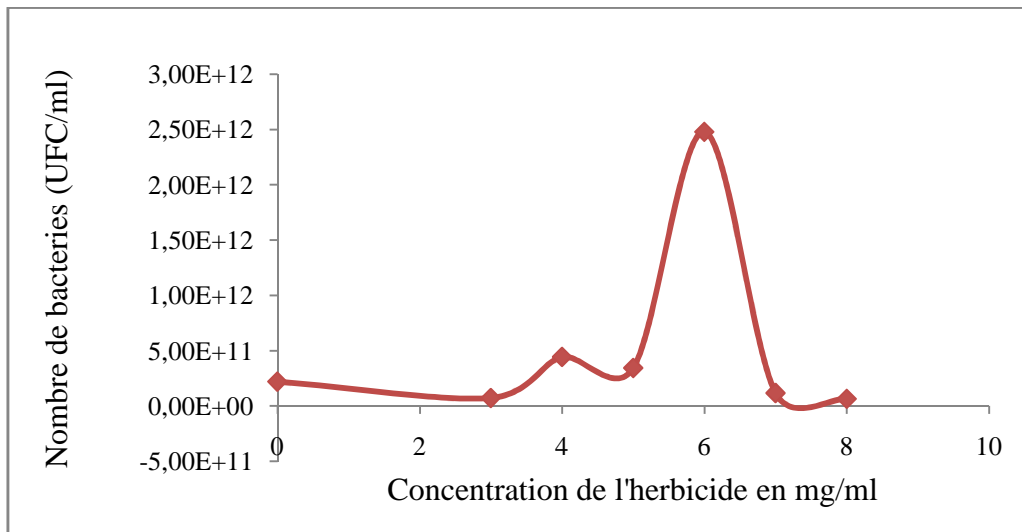


Figure 7 : Effet de pesticide sur la croissance microbienne



Figure 8: comparaison entre l'effet la concentration 0 et 6mg/ml de pesticide sur la croissance microbienne

Selon la (Figure 9), l'activité et la biomasse microbienne sont bien proportionnel, l'augmentation de la biomasse microbienne est suivie par une augmentation de l'activité microbienne jusqu'à une concentration de 6mg/ml, au delà la concentration de la fluorescéine et la biomasse microbienne diminues. Ces résultats montrent la grande capacité de la flore rhizosphérique à tolérer la présence de cet herbicide et indirectement on peut constater sa dégradation à travers l'augmentation de la biomasse et l'activité simultanément. Brar et al (2006) a révélé le rôle de la flore microbienne du sol à dégrader le sulfosulfuron, où il a

montré que le sulfosulfuron a une demi-vie de 120 jours dans un sol stérilisé et seulement 93 jours dans un sol non stérilisé.

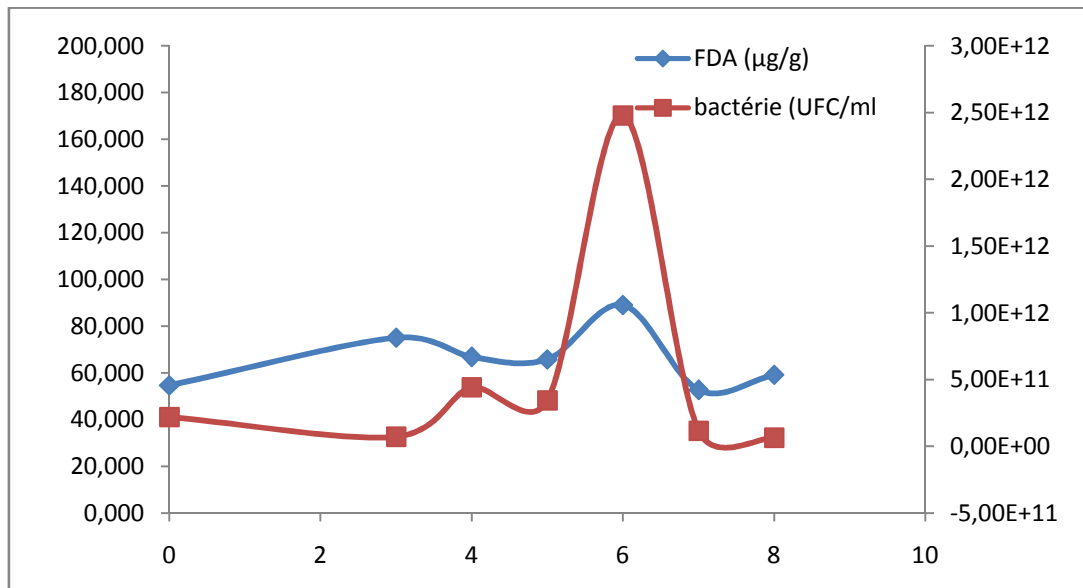


Figure 9 : Effet de pesticide sur la viabilité et l'activité microbienne

2. Isolement et étude des activités des bactéries endophytes

2.1. Isolement et purification des bactéries endophytes

Le nombre de souches bactérienne récupérées à partir de chaque milieu est résumée dans le (**Tableau 2**), selon ce tableau un total de 9 souches est récupérées, où aucune croissance a été enregistrée sur le milieu Olson et Bennett ce qui signifie l'absence de la croissance des actinomycètes. En fait les bactéries endophytes sont des bactéries qui colonisent les racines de plantes et selon ces résultats les bactéries filamenteuse ne sont pas capables de coloniser les racines de *Pisum sativum*, cela peut être dû a la grande compétition entre les différentes espèces bactériennes dans la rhizosphère de la plante qui est cultivée sur un terrain agricole, en réalité l'infection des racines par les bactéries filamenteuses est plus observée dans des sols des zones arides dont les actinomycètes sont plus nombreuses comparativement aux autres bactéries non sporulantes (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Isolement et purification des bactéries endophytes

Milieu	LB	YMA	Olsen	Bennett
Nombre de souches	05	04	0	0

2.2. Solubilisation de phosphate par les bactéries endophytiques

Les résultats de test de solubilisation de phosphate par les bactéries endophytiques sont résumés dans le (**Tableau 3**), selon ces résultats seulement 3 souches sont capables de solubiliser le phosphate inorganique avec un maximum d'halo de 7 mm pour l'isolat SHGL5 (**Figure 10**).

En réalité la solubilisation de phosphate inorganique est due soit a une action enzymatique soit a la production des acides organiques qui solubilisent le phosphate en réduisant le pH du milieu, les deux processus sont exprimées principalement lors du manque du phosphate organique ou du phosphate assimilable, la faible solubilisation par les bactéries endophytes isolées peut être attribuée à l'apport des engrais phosphates au terrain agricoles ce qui diminue l'aptitude de ces bactéries a solubiliser le phosphate.

Tableau 3 : Diamètres de solubilisation de phosphate par bactéries endophytiques

Souches	Diamètre (mm)
SHGL4	5
SHGL5	7
SHGL6	3

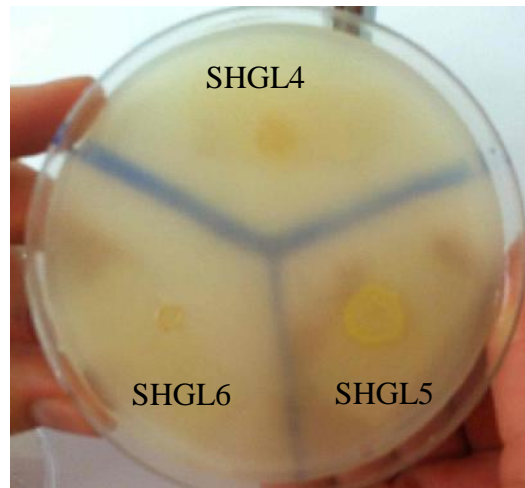


Figure 10 : Solubilisation de phosphate par les bactéries endophytiques

Les résultats obtenus au cours de ce test concordent avec plusieurs travaux précédents qui ont démontrés la capacité des bactéries rhizosphériques de solubiliser les phosphates (**Hatim, 2015**).

La capacité de solubilisation de phosphate par des endophytes a également été rapportée dans plusieurs variétés de cultures (**Palaniappan et al., 2010**). De même, (**Mufti et al., 2015**) a récemment signalé des capacités de solubilisation du phosphate de différents isolats endophytiques, y compris l'espèce *A. tumefaciens* qui a une activité maximale (**Hatim, 2015**).

2.3. Caractérisation de la production d'acide indole acétique (IAA)

Les résultats de quantification de la production de l'IAA en présence de tryptophane sont résumés dans la (**Tableau 4**), et la (**Figure 11**). Sur les neufs isolats une concentration maximale de 52,22 µg/ml est enregistrée pour la souche SHGL9.

Tableau 4 : Quantification de la production de l'indole acétique acide

Souches	IAA (µg/ml)
SHGL 1	21,74
SHGL 2	4,92
SHGL 3	3,57
SHGL 4	20,71

SHGL 5	31,19
SHGL 6	4,52
SHGL 7	34,36
SHGL 8	27,69
SHGL 9	52,22

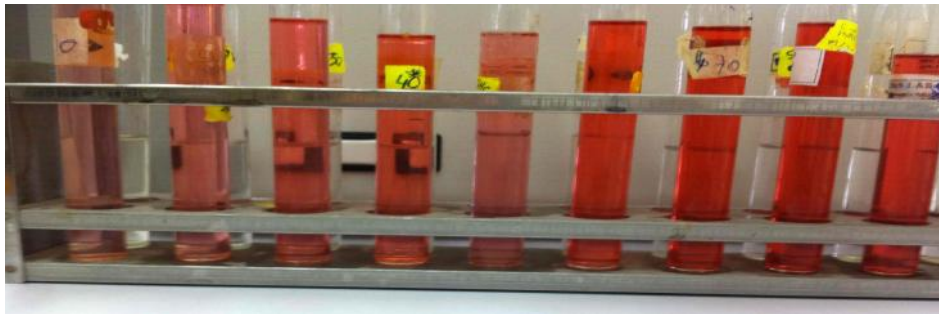


Figure 11 : Mise en évidence de la production de l'IAA

Au sein de la rhizosphère, presque 80% des bactéries sont capables de produire les hormones de croissance des plantes, dont l'IAA est le plus reconnu. Le L-tryptophane est considéré comme le précurseur parce que son adjonction est nécessaire à la production. Les exsudats racinaires sont une source naturelle de L-tryptophane pour la microflore de la rhizosphère (**Dastager et al., 2010**). La quantité d'IAA produite par nos isolats concorde avec les résultats de (**Mezaache, 2012**). En effet, (**Naik et Sakthivel, 2006**), ont suggéré que l'induction de la production d'IAA est probablement due à l'induction d'enzymes clé impliquées dans la biosynthèse d'IAA (**Oberhansli et al., 1991; Garcia de Salmone et al., 2001**). Ainsi, selon (**Mirza et al., 2001; Mishra et al., 2010**), la production de cette hormone est influencée par les conditions de culture, le stade de croissance et par la disponibilité du substrat dans le milieu. L'absence de production chez certaines souches (2, 3, 6) serait peut être liée à la perte de l'information génétique et du mécanisme physiologique de la biosynthèse de l'IAA (**Hatim, 2015**).

2.4. Identification des bactéries endophytiques

Selon nos résultats (**Tableau 5**) les bactéries à Gram- sont plus abondantes (8 souches) à l'intérieur des racines comparativement aux bactéries à Gram+ (**Figure 12**). Du point de vue morphologique la forme en Cocci est plus abondante comparativement à la forme en bacille.

Afin de choisir le type de la galerie API le test de l'oxydase est réalisé, selon le résultat de ce test presque la moitié des souches sont capables de produire l'oxydase.

Tableau 5 : Identification des bactéries endophytiques

Souches	Gram	Morphologie	Oxydase
SHGL 1	-	Coque	+
SHGL 2	-	Bacille	+
SHGL 3	-	Coque	-
SHGL 4	-	Coccobacille	+
SHGL 5	-	Coque	-
SHGL 6	+	Coque	-
SHGL 7	-	Coque	-
SHGL 8	-	Bacille	+
SHGL 9	-	Coque	+

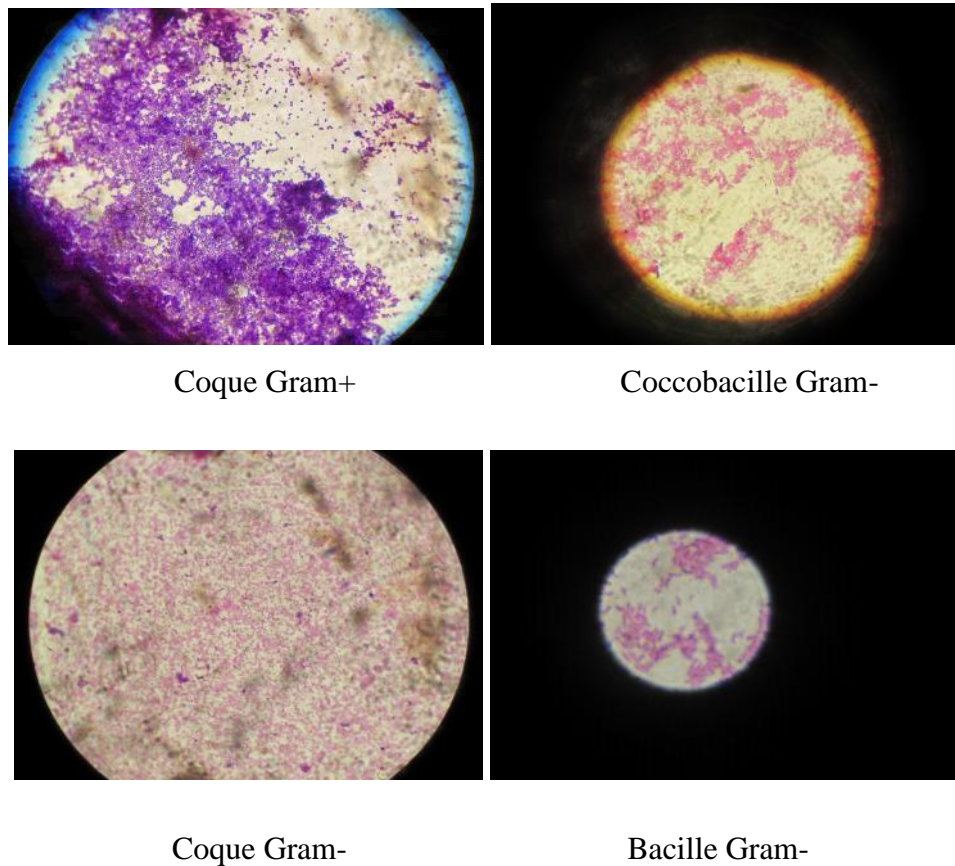


Figure 12: Observation microscopique des bactéries endophytiques (X1000)

Les résultats de l'identification par le système API 20 Ne et API Staph sont résumés dans le tableau ci-dessous. (**Tableau 6**), selon les résultats obtenus les endophytes isolées appartiennent aux plusieurs genre bactérien.

Tableau 6 : L'identification par le système API Ne et API Staph

Test API	Souche	Espèce identifié
API 20 NE	SHGL2	Aeromonas hydrophila (99,2%)
API 20 NE	SHGL4	Chryseobacterium indologenes (97,7%)
API 20 NE	SHGL8	Sphingomonas paucimobilis (45,4%)
API 20 NE	SHGL9	Pseudomonas luteola (90,3%)
API Staph	SHGL6	Staphylococcus capitis

Selon la littérature le nombre et la nature des bactéries endophytiques dépend de la plante étudiée donc indirectement de la nature des exsudats racinaires qui stimulent et favorisent l'infection des racines.

Dans une autre étude réalisée par (**Chen T et al., 2014**) sur les bactéries endophytiques isolées à partir du gingembre, 248 bactéries endophytiques sont obtenus dont plusieurs isolats appartiennent aux genres: *Aeromonas sp*, *Pseudomonas sp* et *Chryseobacterium sp*. De même, dans d'une autre étude réalisée sur 20 isolats, les genres *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, et *Sphingomonas* sont identifiés parmi les endophytes en utilisant le système API. (**Bo Song, Laura G. Leff., 2004**).

Conclusion

Conclusion et Perspectives

La rhizosphère est la région du sol directement formée et influencée par les racines et les micro-organismes associés. Cet environnement particulier comprend une microflore microbienne qui inclut autant des micro-organismes bénéfiques que pathogènes. En effet, l'ensemble de ces bactéries bénéfiques regroupées sous le terme générique de rhizobactérie, joue un rôle important dans la croissance et l'amélioration des espèces végétales par divers effets. Certaines agissent par effet direct, d'autres favorisent la croissance des plantes de façon indirecte (PGPR). Par sa richesse naturelle, la rhizosphère est donc un nouveau continent à explorer. Le présent travail a comme objectif d'étudier l'effet de l'Apiros, herbicide contenant 75% de sulfosulfuron, sur la flore rhizosphérique de *Pisum sativum* par mesure de l'activité enzymatique et le dénombrement des cellules microbiennes. D'autre part, une deuxième partie s'est focalisée sur l'isolement et l'identification des bactéries colonisant les racines de cette plante et l'étude de leurs capacités à produire l'IAA et à solubiliser le phosphore.

Selon les résultats obtenus, après un contact de 24 heures avec le pesticide, l'activité enzymatique et la biomasse microbienne augmente avec l'augmentation de la concentration de pesticide jusqu'à une concentration de 6 mg/ml, ce qui signifie la dégradation de cette molécule (sulfosulfuron) par la microflore rhizosphérique, après cette concentration une diminution est observée pour les deux paramètres étudiés.

L'isolement des bactéries endophytiques a donné neuf souches qui appartiennent principalement aux bactéries à Gram négatif. Seulement trois souches sont capables de solubiliser le phosphate inorganique, quant à la production de l'IAA est observée chez six souches avec un maximum de 52,22 µg/ml. Les souches isolées appartiennent principalement au genre : *Pseudomonas*, *Chryseobacterium* et *Sphingomonas*.

Au terme de ce travail, plusieurs perspectives semblent nécessaires à réaliser :

- Isoler les souches rhizosphériques les plus prometteuses pour la dégradation de sulfosulfuron.
- Etude de la capacité des souches endophytiques à dégrader le sulfosulfuron.
- Etude de la dégradation de sulfosulfuron par le sol rhizosphérique des autres plantes en comparaison avec nos résultats.

Références

Bibliographiques

Amellal N., Burtin G., Bartoli F. and Heulin T. (1998). Colonization of wheat roots by EPS-producing *Pantoea agglomerans* and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: **3740–3747p.**

Andrews S.C. and Robinson A.K. (2003). Rodríguez-Quñones F. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev.*, 27: **215–237p.**

Ann M.H., Dietz B.W., David B.M., Julie C., Brett T. and John I.Y. (2003). Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecological Society of America*, 84 (4), **858–868p.**

Arya R., Sharma R., Malhotra M., Kumar V. and Sharma A.K. (2015). Biodegradation Aspects of Carbendazim and Sulfosulfuron: Trends, Scope and Relevance. *Current Medicinal Chemistry. India. Department of Biotechnology*, 22: **1147–1155p.**

Ba maga M., Borowik A., Kucharski J., Tomkiel M. and Wyszowska J. (2015). Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with a mixture of diflufenican + mesosulfuron-methyl + iodosulfuron-methyl-sodium. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: **643–656p.**

Baldani J.I. and Baldani V.L.D. (2000). History on the biological nitrogen fixation research graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *An. Acad. Brass. Sci.*, 77: **549–579p.**

Bedos C., Cellier P., Calvet R. and Barriuso E. (2002). Occurrence of pesticides in the atmosphere in France. *Agronomie*, 22(1), **35–49p.**

Benhamou H., Gagné S., Le Quéré D. and Dehbi L. (2000). Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: Beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia phymthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Am. Phytopathol. Sc.*, 90: **45–56p.**

Bertrand H., Plassard C., Pinochet X., Touraine B., Normand P. and Cleyet-Marel J.C. (2000). Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growth-promoting rhizobium (*Achromobacter* sp.). *Can. J. Microbiol.*, 46: **229–360p.**

Bezzate S., Aymerich S., Chambert R., Czarnes S., Berge O. and Heulin T. (2000). Disruption of the *Paenibacillus polymyxa* levansucrase gene impairs ability to aggregate soil in the wheat rhizosphere. *Environ. Microbiol*, 2(3): **333–342p.**

Bhattacharyya P.N. and Jha D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol*, 28: **1327–1350p.**

Bo Song., Laura G. and Leff. (2005). Identification and characterization of bacterial isolates from the Mir space station. *Microbiological Research*, USA. Department of Biological Sciences, 160: **111–117p.**

Boukhalfa H. and Crumbliss A.L. (2002). Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. *BioMetals*, 15: **325–339p.**

Brar P.A., Ponia S.S., Yadav A. and Malik R.K. (2006). Microbial Degradation of Sulfosulfuron in soil under Laboratory Conditions. *Indian J. Weed Sci*, 38(3-4), **255–257p.**

Calvet R. (2005). Les pesticides dans le sol Conséquences agronomiques et environnementales. France Agricole. Paris, **637p.** ISBN : 2-8557-119-7.

Cascales E., Buchanan S.K., Duché D., Kleanthous C., Lloubès R., Postle K., Riley M., Slatin S. and Cavard D. (2007). Colicin Biology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71: **158–229p.**

Chen T., Chen Z., Ma G.H., Du B.H., Shen B., Ding Y. Q. and Xu K. (2014). Diversity and potential application of endophytic bacteria in ginger. *Genetics and Molecular Research*, 13(3), **4918–493p.** DOI: 10.4238/2014.July.4.6.

Chin-A-Woeng T.F., Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J. (2003). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytol*, 157: **503–523p.**

Cietap. (2003). Guides produits phytosanitaires, réglementation et bonnes pratiques. Phytoma-La défense des végétaux. 560: **13–42p.**

Conso F., De Cormis L., Curgier J.P., Bouneb F., Delemotte B., Gingomard M.A., Grillet J.P. and J.C. Parion. Toxicologie : impact des produits phytosanitaires sur la santé humaine. In: Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. ACTA, Ed. Ministère de l'écologie et du développement durable, Paris, **659–698p.**

Crouzet O., Batisson I., Besse-Hoggan P., Bonnemoy F., Bardot C., Poly F., Bohatier J. and Mallet C. (2010). Response of soil microbial communities to the herbicide mesotrione: a dose-effect microcosm approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 42: **193–202p.**

Crowley D.E. (2006). Microbial siderophores in the plant rhizospheric. In: Barton LL, Abadía J, editors. *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer; Dordrecht: **169–198p.**

Curtis T.P., Sloan W.T. and Scannell J.W. (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99: **10494–10499p.**

De Bruijn I., De Kock M.J.D., Yang M., De Waard P., Van Beek T.A. and Raaijmakers J.M. (2007). Genome-based discovery, structure prediction and functional analysis of cyclic lipopeptide antibiotics in *Pseudomonas* species. *Mol Microbiol*, 63: **417–428p.**

Demenaou J., Monkiedje A., Nin T., Foto S.M., Nola M. and Kemka N. (2004). Changes in soil chemical properties and microbial activity response to the fungicide Ridomil Gold plus copper. *International Journal Environmental Research and Public Health*, 1: **26–34p.**

De Souza J.T., Arnould C., Deulvot C., Lemanceau P., Gianinazzi-Pearson V. and Raaijmakers J.M. (2003). Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: Cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species. *Phytopathology*, 93: **966–975p.**

Dimkpa C.O., Merten D., Svatos A., Büchel G. and Kothe E. (2009). Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *J Appl Microbiol*, 107: **1687–1696p.**

Directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991.

Duffy B. (2003). Pathogen self-defense: Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annu Rev Phytopathol*, 41: **501–38p.**

Dwivedi D. and Johri BN. (2003). Antifungals from fluorescent pseudomonads: Biosynthesis and regulation. *Curr Sci*, 12: **1693–1703p.**

Elustondo J., Anger D.A., Laverdière M.R. and Dayegamiye A. (1990). Etude comparative de l'agrégation et de la matière organique associée aux fractions granulométriques et sept sols sous culture de maïs en prairie. *Can, J. Soil Sci*, 70: **395–402p.**

Fagot M. and Larrat J.P. (2002). Application des produits phytosanitaires. In: Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. ACTA, Ed., Ministère de l'écologie et du développement durable, Paris, **501–563p.**

FAO et WHO. (2004) *Codex Alimentarius* (1997).

Germida J.J., Siciliano S.D., de Freitas J.R. and Seid A.M. (1998). Diversity of root-associated bacteria associated with held-grown canola (*Brassica napus*L.) and wheat (*Triticum aestivum*L.). *FEMS Microbiol. Ecol*, 26: **43–50p.**

Giordano W. and Hirsch A.M. (2004). The expression of *MaEXPI*, a *Melilotus alba* expansin gene, is upregulated during the sweet clover-*Sinorhizobium meliloti* interaction. *MPMI*, 17: **613–622p.**

Glick B.R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.

Glick B.R., Cheng Z., Czarny J. and Duan J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur J Plant Pathol*, 119: **329–39p.**

Haas D. and Défago G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat Rev Microbiol*, 3: **307–319p.**

Haas D. and Keel C. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annu Rev Phytopathol*, 41:**117–153p.**

Hatim S. (2015). Activités enzymatiques et pouvoir solubilisateur du phosphate chez les bactéries fixatrices d'azote nodulant quatre espèces d'*Acacia*. Mémoire de fin d'études. **44p.**

Healy Charles., Heydens E., William F. and Naylor Mark.W. (2004). Mammalian toxicology overview and human risk assessment for sulfosulfuron. USA: Regulatory Toxicology and Pharmacology, 39: **310–324p.**

Hernandez M.E., Kappler A. and Newman D.K. (2004). Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. *Appl Environ Microbiol*, 70: **921–928p.**

Hinsinger P. (1998). How do plant root acquire mineral nutrient? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy*, 64: **225–265p.**

Högberg P., Nordgren A., Buchmann N., Taylor A.F.S., Ekblad A., Hogberg M.N., Nyberg G., Ottosson-Löfvenius M. and Read D.J. (2001). Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature*, 411: **789–792p.**

Horner-Devine M.C., Leibold M.A., Smith V.H. and Bohannon B.J.M. (2003). Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters*, 6: **613–622p.**

IFEN-Institut Français de l'Environnement. (2003). Les pesticides dans les eaux-Données 2001, Etudes et travaux n°37, IFEN, Paris.

Katiyar V. and Goel R. (2004). Siderophore-mediated plant growth promotion at low temperature by mutant of fluorescent pseudomonad. *Plant Growth Regul*, 42: **239–244p.**

Khan M.S., Zaidi A. and Wani P.A. (2006). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – a review. *Agron. Sustain. Dev*, 27: **29–43p.**

Kokalis-Burelle N., Kloepper J.W. and Reddy M.S. (2005). Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Appl Soil Ecol*, 31: **91–100p.**

Kowalchuk G.A. and Stephen J.R. (2001). Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology*, 55: **485–529p.**

Krewulak K.D. and Vogel H.J. (2008). Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochim Biophys Acta*, 1778: **1781–1804p.**

Kucharski J. and Wyszowska J. (2008). Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG. *Journal of Elementology*, 13(3): **357–371p.**

Leake J.R., Johnson D., Donnelly D.P., Muckle G.E., Boddy L. and Read D.J. (2004). Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany*, 82: **1016–1045p.**

Lugtenberg B. and Kamilova F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol*, 63: **541–55p.**

Lynch J.M. (1990). Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: *The Rhizosphere* ed. J.M. Lynch, Wiley Interscience, New York, **1–10p.**

Lynch J. M. and Bragg E. (1985). Microorganisms and soil aggregation stability. *Adv. Soil Sci*, 2: **133–171p.**

Maksimov IV., Abizgil'dina R.R. and Pusenkova L.I. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review) *Appl Biochem Microbiol*, 47: **333–345p.**

Martens D.A. and Frankenberger W.R.T. (1993). Soil saccharide extraction and detection. *Plant Soil*, 149: **145–147p.**

Masalha J., Kosegarten H., Elmaci Ö. and Mengel K. (2000). The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. *Biol Fert Soils*, 30: **433–439p.**

Osswald A. (2012). Quantification des molécules organo-chlorées dans les sols et suivi de leur formation et dégradation – rôle des microorganismes. Mémoire de fin d'études. Université de Lorraine, **50p.**

Periquet A. (2004). Pesticides risque et sécurité alimentaire. Agence pour la recherche et l'information en fruit et légumes frais. Paris, **216p.**

Pierson L.S. and Pierson E.A. (2000). Microbial gossiping: signalling in the rhizosphere. *Proceedings of 5th PGPR Workshop.*

Raaijmakers J.M., De Bruijn I., Nybroe O. and Ongena M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: More than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol Rev*, 34: **1037–1062p.**

Ratcliff A.W., Busse M.D. and Shestak C.J. (2006). Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) addition to forest soils. *Applied Soil Ecology*, 34: 114–124p.

Raymond J., Siefert J.L., Staples C.R. and Blankenship R.E. (2004). The natural history of nitrogen fixation. *Mol. Biol. Evol.*, 21: 541–554p.

Riley M.A. and Wertz J.E. (2002). Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol*, 56: 117–137p.

Rillig M.C. and Mummey D.L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41–53p.

Sandy M. and Butler A. (2009). Microbial iron acquisition: Marine and terrestrial siderophores. *Chem Rev*, 109: 4580–4595p.

Santner A., Calderon-Villalobos L.I.A. and M. Estelle. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chem. Biol.*, 5: 301–307p.

Schippers B., Bakker A. and Bakker P. (1987). Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*, 25: 339–358p.

Schulz Barbara. (2006). What are Endophytes?. Chapitre 1. In: *Microbial Root Endophytes* [en ligne] Sieber Eds: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Disponible sur : <<http://www.springer.com/978-3-540-33525-2>> .

Sdqpv-Sous Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux. (2002). Quelques précisions sur le classement toxicologique et physicochimique des substances actives et spécialité phytosanitaires, In: *Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement*. ACTA, Ed., Ministère de l'écologie et du développement durable, Paris, 699–716p.

Segher D., Wittebolle L., Top E.M., Verstraete W. and Siciliano D. (2004). Impact of agricultural practices on the *Zea mays* L. Endophytic community. *Appl. Environ. Microbiol.*

Singh P. and Goshal N. (2010). Variation in total biological productivity and soil microbial biomass in rainfed agroecosystems: impact of application of herbicide and soil amendments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 137: **241–250p.**

Smith S.E. and Read D.J. (2008). Mycorrhizal symbiosis. 3ème édition, Academic Press, New-York, Etats-Unis, **787p.**

Spaepen S. and Vanderleyden J. (2011). Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*

Spaepen S., Vanderleyden J. and Remans R. (2007). Indole- 3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol, Rev*, 31: **425–448p.**

Sprent J.I. (2000). Nodulation in Legumes. Royal Botanic Gardens, Kew, Royaume-Uni.

Thomas W.D. and Graham R.W. (1952). Bacteria in apparently healthy pinto beans. *Phytopathology*, 42: **214p.**

Vikram A. and Hamzehzarghani H. (2008). Effect of phosphate solubilizing bacteria on nodulation and growth parameters of greengram (*Vigna radiate* L. Wilczec). *Res. J. Microbiol*, 3: **62–72p.**

Wandersman C. and Delepelaire P. (2004). Bacterial iron sources: From siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol*, 58: **611–647p.**

Whipps J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J Exp Bot*, 52: **487–511p.**

Zaidi A. and Khan M.S. (2005). Interactive effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of wheat. *J. Plant Nutr*, 28: **2079–2092p.**

Annexes

Composition des milieux de culture

➤ Géluse nutritif (g/l) :

Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2,5 g
Peptone.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	20 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7

➤ Yeast Mannitol Agar (YMA) (g/l) :

Mannitol	10 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
NaCl	0,10 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,2 g
D' extrait de levure	0,5 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7

➤ Luria-Bertani (LB) (g/l) :

Peptone.....	10 g
Extrait de levures.....	5 g
NaCl	0,5 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7,2

➤ Bennett (g/l)

Glucose	10 g
Extrait de levure.....	2 g
Extrait de viande	1 g
Peptone.....	2 g
Agar.....	20 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7,3

Annexe I

➤ Olson (g/l) :

Sodium caséine.....	2 g
L-asparagine.....	0,1g
Sodium propionate.....	4 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
FeSO ₄	0, 01 g
Agar.....	10 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7,2

➤ LB bouillon + tryptophane (g/l) :

Peptone.....	10 g
Extrait de levures.....	5 g
NaCl.....	0,5 g
Tryptophane.....	0,5 g
Eau distillée.....	1000ml
PH=	7,2

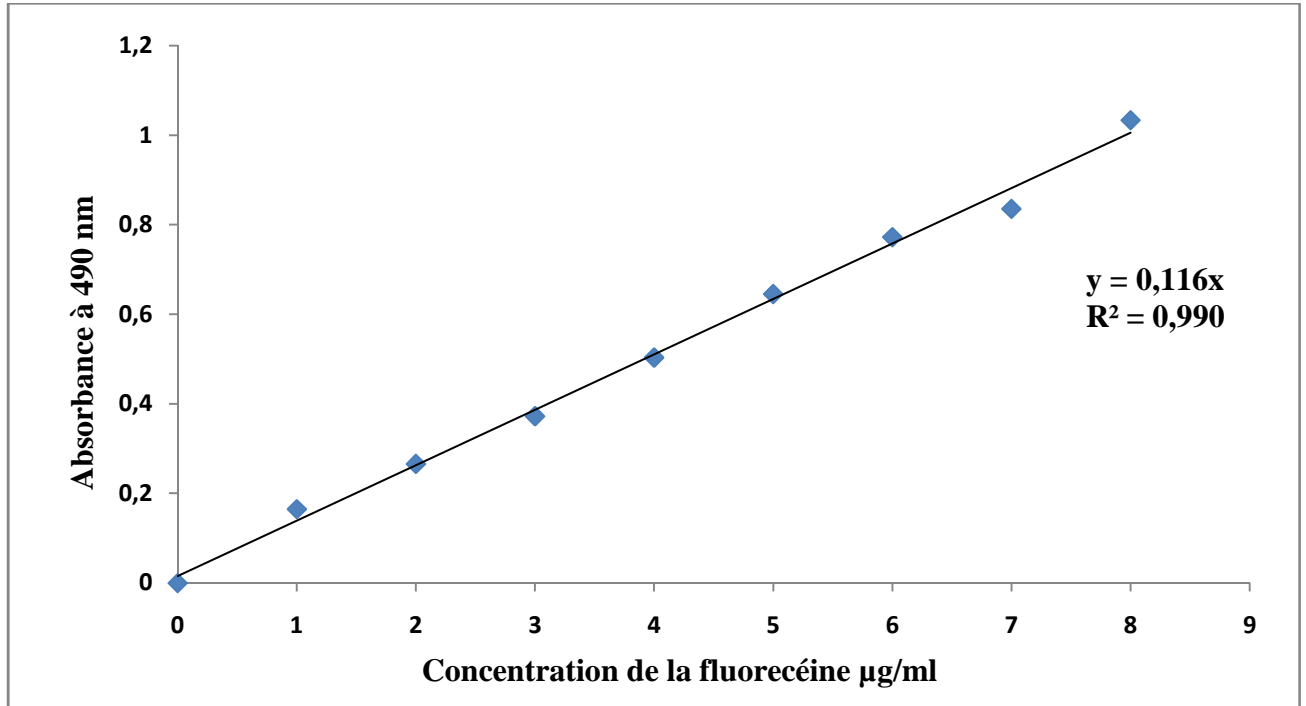
➤ Pikovskaya (PVK) (g/l) :

Glucose.....	10 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g
NaCl.....	0, 2 g
MgSO ₄ 7H ₂ O.....	0,1 g
KCl.....	0, 2 g
Extrait de levure.....	0,5 g
MnSO ₄ H ₂ O.....	0,002 g
FeSO ₄ 7H ₂ O.....	0,002 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH=	7,3

Annexe II

Courbe d'étalonnage de la fluorescéine

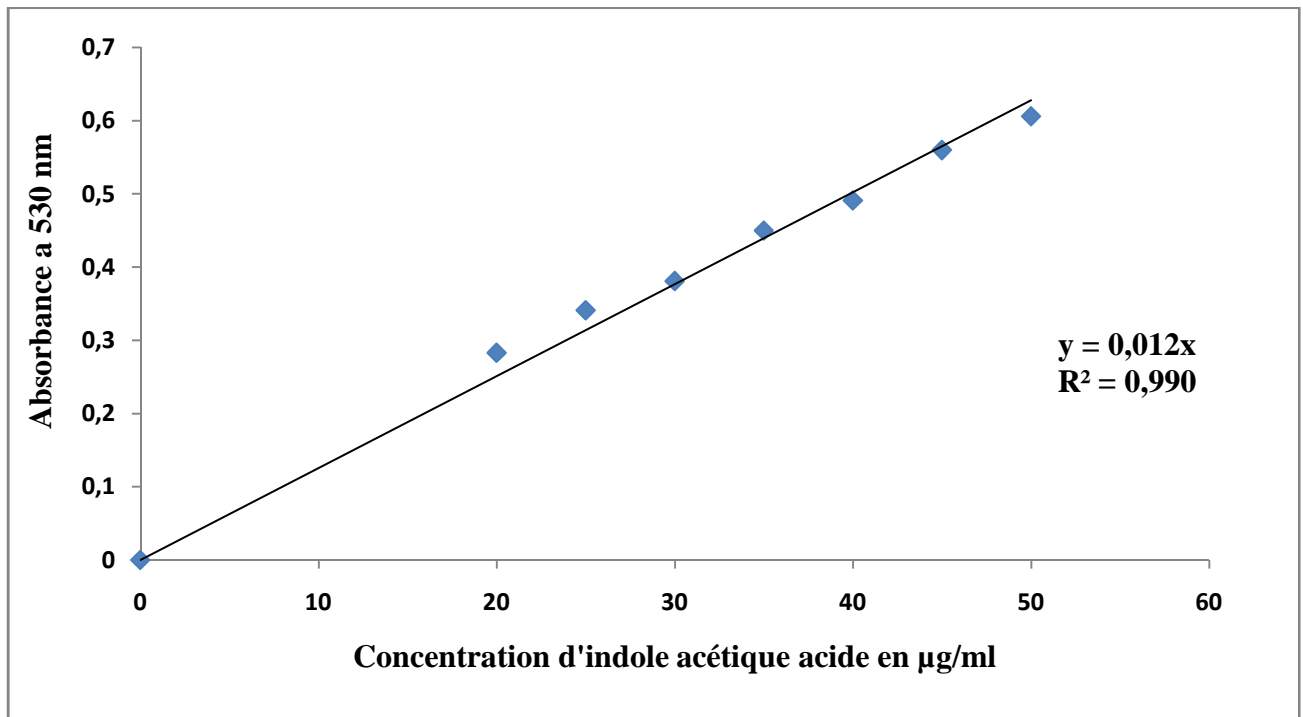
La courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de fluorescéine d'une concentration de 50 µg/ml. L'absorbance est Mesurée à 490 nm dans un spectrophotomètre <JENWAY 6305>.



Annexe II

Courbe d'étalonnage de l'indole acétique acide

La courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de l'indole acétique acide d'une concentration de 50 µg/ml. L'absorbance est mesurée à 490 nm dans un spectrophotomètre <JENWAY 6305>.



Résumé

Le présent travail a pour objectif l'étude de l'effet de pesticide (Sulfosulfuron) sur la viabilité et l'activité enzymatique de la rhizosphère de *Pisum sativum* d'une part, et d'autre part l'isolement et l'identification des bactéries endophytes colonisant les racines de cette plante. L'activité enzymatique est étudiée par la dégradation de la fluorescéine di-acétate (FDA), le dénombrement des bactéries viables est réalisé sur gélose nutritive. L'isolement des endophytes est réalisé par l'utilisation de différents milieux, l'identification est réalisée par le système Api 20Ne et Api Staph. La production de l'indole acétique acide est quantifiée dans un bouillon LB additionné de tryptophane, alors que la solubilisation de phosphate est observée sur le milieu de Pikovskaya. Selon les résultats obtenus, après un contact de 24 heures avec le pesticide, l'activité enzymatique et la biomasse microbienne augmente avec l'augmentation de la concentration de pesticide jusqu'à une concentration de 6 mg/ml, ce qui signifie la dégradation de cette molécule (sulfosulfuron) par la microflore rhizosphérique, après cette concentration une diminution est observée pour les deux paramètres étudiés.

L'isolement des bactéries endophytiques a donné neuf souches qui appartiennent principalement aux bactéries à Gram négatif. Seulement trois souches sont capables de solubiliser le phosphate inorganique, quant à la production de l'IAA est observée chez six souches avec un maximum de 52,22 µg/ml. Les souches isolées appartiennent principalement au genre : *Pseudomonas*, *Chryseobacterium* et *Sphingomonas*.

Mots clés: Rhizosphere, Sulfosulfuron, *Pisum sativum*, Bactéries endophytes, FDA.

Summary

The aim of this work on the one hand is to study the effect of pesticide (Sulfosulfuron) on the Viability and enzymatic activity of the rhizosphere of *Pisum sativum*, and on the other hand the isolation and identification of endophytic bacteria colonizing the roots of this plant. The enzymatic activity is studied by the degradation of the fluorescein diacetate (FDA), the viable bacteria count is carried out on nutrient agar. Isolation of the endophytes is carried out by the use of different media; the identification is carried out by the Api 20 Ne and Api Staph system. The production of indole acetic acid is quantified in an LB broth supplemented with tryptophan, while the solubilization of phosphate is observed on Pikovskaya medium. According to the results obtained, after 24 hours of contact with the pesticide, the Enzyme activity and microbial biomass increases with increasing of pesticide concentration to a concentration of 6 mg / ml, which means degradation of this molecule (sulfosulfuron) by the rhizospheric micro flora. After this concentration a decrease is observed for the two parameters studied. The isolation of endophytic bacteria has given nine strains that mainly belong to Gram negative bacteria. Only three strains are able to solubilize the inorganic phosphate, while the production of the IAA is observed in six strains with a maximum of 52.22 µg / ml. The isolated strains belong mainly to the genus: *Pseudomonas*, *Chryseobacterium* and *Sphingomonas*.

Key words: Rhizosphere, Sulfosulfuron, *Pisum sativum*, Endophytic bacteria, FDA.

المخلص

يهدف هذا العمل إلى دراسة تأثير المبيد (Sulfosulfuron) الإنزيمي المحيطة جذور بسلة بيسوم من جهة من جهة عزل والتعرف على البكتيريا داخلي نباتي ا جذور هذ . يتم نزييم ي ثنائي الأسيئات فليوريسين (FDA) يتم عد لبكتيريا . ويتحقق عزل نابوت داخلي يتم التعرف عليها باستخدام نظام واجهة برمجة التطبيقات Ne20 العنقوديات. تحدد الكمية حمض الخليك الإندول في LB الترتبوفان، في حين يتم دراسة .Pikovskaya

24 البكتيريا مع المبيد يزداد الإنزيمي والكتلة الحيوية الميكروبية مع زيادة تركيز المبيد 6 /مل، وه يعني أنه تم حلل ه ي (sulfosulfuron) البكتيريا ريزوسفير بعد هذا تركيز التي شملتها الدراسة. منها أعطى عزل البكتيريا داخلي نباتي تسع سلالات بكتيريا إذابة الفوسفات غير العضوي IAA ما يصل 52.22 ميكرو غرام/ .
.Chryseobacteriu Sphingomonas Pseudomonas

الكلمات المفتاحية : ريزوسفير ، sulfosulfuron ، بسلة بيسوم البكتيريا داخلي نباتي، FDA.