

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



Université Abbes Laghrour Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master académique en Biologie

Option: Microbiologie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

DEKHIL Soumia, DGEHIECHE Dalila et BAALOU DJ Beldia

Thème

Caractérisation des *Pseudomonas* *fluorecscens* à effets PGPR

Soutenu le: 23/06/2014

Devant le Jury :

Président : M^{me} DEROUCHE F.

Rapporteur : M^{me} SEBIHI F/Z.

Examineur : M^{elle} LEULMI N.

Univ. Abbes Laghrour-Khenchela.

Univ. Abbes Laghrour-Khenchela.

Univ. Abbes Laghrour-Khenchela.

Année universitaire
2013/2014

Tableau de matière

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste d'abréviation.....	III

Synthèse bibliographique

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

Chapitre I: microbes-plantes-sol

1. Rhizosphère.....	3
2. La microflore rhizosphérique.....	3
3. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR).....	3
4. Mode d'action des PGPR (Interactions PGPR/plante).....	4
4.1. Promotion de la croissance de l'hôte (voie directe).....	4
4.1.1. Fixation d'azote.....	4
4.1.2. Solubilisation des phosphates.....	5
4.1.3. Production des sidérophores.....	5
4.1.4. Production des régulateurs de la croissance végétale.....	5
4.1.5. Production d'acide 1- Aminocyclopropane-1-carboxylique désaminase (ACC désaminase).....	6
4.2. Protection contre divers phytopathogènes (Voie indirecte).....	6
4.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments.....	6
4.2.2. Antibiose.....	7
4.2.3. Résistance systémique induite ou ISR.....	7
5. Les <i>Pseudomonas</i> Rhizosphériques.....	7

Chapitre II: Les *pseudomonas*

1. Genre <i>pseudomonas</i>	8
1.1. Clés d'identification des <i>Pseudomonas</i>	8
1.1.1. Caractères phénotypiques.....	9
1.1.2. Caractères chémo-taxonomiques.....	9
1.1.3. Caractères génétiques.....	9
1.2. Bactérie du genre <i>pseudomonas</i>	10
1.3. Caractéristiques métaboliques.....	10
2. Les <i>pseudomonas fluorescens</i>	12
2.1. Caractères généraux.....	12
2.2. Taxonomie.....	12
2.3. Hétérogénéité phénotypique et génotypique.....	13
2.4. production d'un pigment (fluorescéine).....	13
2.5. Les métabolites de <i>pseudomonas fluorescens</i>	13
2.5.1. Les siderophores.....	13
2.5.1.1. Les Pyoverdines (siderophore fluorescent).....	14
2.5.1.2. Autres siderophores produits par les <i>P. fluorescens</i>	14
2.5.2. Acide Indole-3-acétique (AIA).....	15
2.5.3. Les antibiotiques.....	15
2.5.3.1. Acide Cyanhydrique (HCN).....	15

3. Les <i>pseudomonas</i> spp. fluorescents agents de biocontrolé et de croissance des plantes...	15
3.1. Stimulation de la croissance des plantes.....	16
3.2. Mécanismes d'antagonisme	16
Matériel et méthode	
1. Matériel biologique.....	18
1.1. L'échantillonnage	18
2. Isolement de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	18
3. Identification des souches purifiées.....	19
3. 1. Etude des caractères morphologique.....	20
3. 1. 1. Aspect macroscopique.....	20
3.1. 2. Aspect microscopique.....	20
3. 2. Etude des caractères biochimiques	21
3. 2. 1. Etude des enzymes respiratoires terminales	21
3. 2. 1. 1. Recherche de l'oxydase	21
3. 2. 1. 2. Recherche de la catalase.....	22
3.2.2.1. Arginine déshydrogénase (ADH)	23
3. 2. 2. 2. Recherche de lipase.....	23
3. 2. 2. 3. Recherche de la gélatinase	24
3.2.4. Test Mannitol mobilité	25
3.2.5 Test de la température de 4°C et 41°C	25
3.3. L'identification par Les galerie Api 20 NE	26
4.2. Synthèse de l'acide indole acétique (AIA)	30
4.3. Production d'enzymes	30
4.3.1. Cellulases	30
4.3.2. Enzymes protéolytiques (la caséinase).....	31
4.4. Synthèse d'antibiotiques	32
4.4.1. Production d'acide cyanhydrique (HCN).....	32

Résultats et discussion

1. Isolement des <i>Pseudomonas spp</i> fluorescents	33
2. Purification des souches	33
3. Identification spécifique des <i>Pseudomonas fluorescens</i>	34
3.1. L'étude macroscopique	34
3.2. L'étude microscopique.....	34
3.3- Les tests biochimiques.....	35
4. Identification par les galeries API 20 NE	40
5. Caractéristiques des métabolites secondaires	41
Conclusion	48

Annexes

Résumé

Abstract

ملخص

DEKHIL Soumia**DGEHIECHE Dalila****BAALOUDJ Beldia****Date de soutenance : 23/06/2014****Master académique en Biologie Option: Microbiologie****Caractérisation des *Pseudomonas fluorescens* à effets PGPR****Résumé**

L'activité microbienne dans le sol, est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines : la rhizosphère, qui contient plus d'un million de micro-organismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones...

Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).

Dont le but identifier les souches bactériennes qui ont été isolées à partir du sol du champ de blé de la région de khenchela, une caractérisation morphologique, physiologique et biochimique, sur des milieux spécifiques, ont été réalisés au laboratoire de biologie de l'Université Abbés laghrour de Khenchela.

L'isolement aboutie à 60 souches, qui après l'identification, nous avons sélectionné 56 souches, qui ont les caractéristique de base de *Pseudomonas fluorescens*, mais on utilisant les galeries 20 NE, 8 isolats ont montrés les caractéristique de *Pseudomonas fluorescens*.

D'autre part nous avons mis en évidence la production des sidérophores, l'AIA pour augmenter la croissance de la plante, et la production de HCN et quelques enzymes impliquée dans la suppression d'agents pathogènes.

Mots clés : rhizosphère, *Pseudomonas fluorescens*, PGPR, Métabolites secondaires.**Devant le Jury :****Président : M^{me} DEROUCHE F.****Univ. Abbés Laghrour-Khenchela****Rapporteur: M^{me} SEBIHI F/Z.****Univ. Abbés Laghrour-Khenchela****Examineur : M^{elle} LEULMI N.****Univ. Abbés Laghrour-Khenchela**