



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

BOUTOBBA Djihane

BEN AISSA Tounes

BOUAZIZI Mariem

Thème

*Recherche de caractères d'intérêt agricole
chez certaines bactéries Rhizosphériques*

Devant le jury :

Présidente : Dr. MAYOUF Nozha	MCB	Université de Khenchela
Promotrice : Dr. MELLAL Hanane	MCB	Université de Khenchela
Examinatrice : Dr. NAILI Oumaima	MCA	Université de Khenchela

2022/2023

Remerciements

Nos remerciements s'adressent premièrement et avant tout à **ALLAH**. Tout puissant, qui nous a aidés à réaliser ce travail, et pour sa grâce tout au long de notre vie professionnelle et personnelle.

Nos sincères remerciements à Madame MELLAL Hanane notre promotrice, qui a accepté de nous diriger et nous a accordé tout son intérêt et sa patience, sa présence, ses précieux conseils et ses encouragements qu'elle nous a prodigués tout au long de ce message. Nous la remercions encore plus de nous avoir fait confiance pour réaliser ce travail. Vous trouverez ici un certificat de profonde gratitude.

Nos profonds remerciements s'adressent à Dr. MAYOUF Nozha pour l'honneur qu'elle nous a fait de présider ce jury.

Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à Dr. NAILI Oumaima d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa présence dans ce jury.

Ainsi nous n'oublions pas de remercier les enseignants qui nous ont apporté le soutien moral et nous ont recommandé de nous faciliter de nombreuses tâches surtout Mme CHORFI Rafika responsable du hôte technologique dans le complexe de laboratoires et l'ingénieur de laboratoire de microbiologie Mme MIZANE Sarah.

Nos remerciements à ceux et celle qui ont contribué de près ou de loin à réalisation de ce mémoire.

Sans oublier l'ensemble de nos camarades et amis(es), ainsi qu'à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin



Dédicace

J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail avec l'aide D'ALLAH

Que Je Dédie à ceux qui me poussent aujourd'hui vers l'avant et rassurent mes pas, qui m'ont tant appris et ont fait de moi ce que je suis.

*Ma chère mère **GHERIB Sonia**, sa chaleur était et sera toujours Grand confort pour moi, Pour son soutien, son aide, ses sacrifices et toutes les valeurs que vous m'avez inculquées pendant tout ma cursus scolaire et universitaire. Puissiez-vous trouver ici toute ma gratitude, et tout mon amour, la femme qui s'est battue et elle se bat encore pour n'illuminer notre chemin de vie aucun dédicace ne serait exprimer le respect et l'amour que je vous porte. Que dieu la bénisse.*

*Je ne dois pas oublier Madame **MELLAL Hanane**, qui a joué le plus grand rôle en me soutenant et en fournissant des informations précieuses.*

*À ma chérie **grande mère***

*À mes deux frères adorables **Yasser et Abderrahman***

*À ma plus belles anges **Rezlane, Bouchra et Amina** Pour leur soutien moral et pour leurs amours, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*À mes très chères copines **BEN AISSA Tounes** et **BOUTABBA jihane** pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse. J'ai partagé des moments inoubliables et sans oublier leur patience tout au long de ce mémoire et leur amour toutes ces années.*

*A toutes les personnes que j'aime. Parfois, les mots ne suffisent plus pour exprimer tout le bien qu'on ressent ! Juste **MERCI** à vous.*



Mariem



Dédicace

Avec L'aide D'ALLAH, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que Je Dédie A ceux qui ont dessiné les plus belles images de ma vie, qui me poussent aujourd'hui vers l'avant et rassurent mes pas, qui m'ont tant appris et ont fait de moi ce que je suis.

Et me voici aujourd'hui fier de dire dédicacer Je dédie ce modeste travail à :

***Ma chère mère,** ma douce et tendre mère qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour moi. Quoi que je face, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi.*

***Mon cher papa** qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

***A mon frère Amer** qui était toujours à mes Côtés et qui n'a jamais cessé de me soutenir et dem'encourager.*

***A mes chères sœurs : Asma, Soumaia, Fahima, Aicha, Boutaina** . Qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager. Jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes remerciements.*

***A ma grand-père :** Que dieu vous accorde longue vie et bonne santé.*

***A mes très chères copines Meriam et jihane** pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse. J'ai partagé des moments inoubliables et sans oublier leur patience tout au long de ce mémoire et leur amour toutes ces années.*

A ma famille et toutes les personnes que j'aime

Parfois, les mots ne suffisent plus pour exprimer

Tout le bien qu'on ressent ! Juste MERCI à vous !



Toumes



Dédicace

*Avec L'aide D'ALLAH, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que Je Dédie
A ceux qui ont dessiné les plus belles images de ma vie, qui me poussent aujourd'hui
vers l'avant et rassurent mes pas, qui m'ont tant appris et ont fait de moi ce que
Jesuis, que Dieu les garde, joie de ma vie .*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, ma source de volonté Ma toujours
Accompagné dans toute les phases de ma vie. Mon père **REBLAI BOUTOBBA***

*A la femme qui s'est battue et elle se bat encore pour n'illuminer notre chemin
De vie aucun dédicace ne serait exprimer le respect et l'amour que je vous porte.*

*Que dieu la bénisse et la protégée. Ma Mère **SALIHALACHKHABE***

*Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance
En soi face aux difficultés de la vie.*

*Ma sœur **RAFIKA** pour son dévouement et sa compréhension et Sa grande tendresse.*

*A Mon ami d'enfance **DOUAA CHERABBEN** pour son soutien moral, son amour et ses soins.*

*A mes fidèles amies **TOUNES BENAÏSSA** et **BOUAZIZI MERIEM** pour leur dévouement, leur
compréhension et leur grande tendresse. J'ai partagé des moments inoubliables et Sans
oublier leur patience tout au long de cemémoire et leur amour toutes ces années.*

A ma famille et toutes les personnes que j'aime

Parfois, les mots ne suffisent plus pour exprimer

*Tout le bien qu'on ressent ! Juste **MERCI** à vous !*



Djirhane

Recherche de caractères d'intérêt agricole chez certaines bactéries Rhizosphériques

Résumé

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés de caractériser 8 isolats bactériens isolés à partir de deux sites le 1^{er} situé dans la région de El-Milia (Wilaya de Jijel) et le 2^{ème} dans la région El-Hamma (Wilaya de Khenchela) à partir de la rhizosphère de la plante d'oignon (*Allium cepa*). La caractérisation phénotypique quel que soit macroscopique ou microscopique, et a montré que la plupart des isolats sont de couleur crème, lisse brillante, bombé, rond et irrégulier, quatre d'entre eux sont des bacilles à Gram négatif de différente taille, et le reste des isolats sont des cocci à Gram positif, capable de croître dans des températures de 28°C à 30°C. Les résultats obtenus de cette caractérisation ainsi que la caractérisation biochimiques classent ces isolats dans deux genres différents (*Pseudomonas* et *Bacillus sp*). L'évaluation de l'intérêt agricole des isolats de la rhizosphère (Favorise la croissance des plantes, phytostimulation, biofertilisation et biocontrôle), a montré que nos isolats ont plusieurs activités enzymatiques (Synthèse des lipases et estérases et l'enzyme d'amylase), 50% des bactéries sont capables de faire une forte production des sidérophores, alors que 50% des bactéries sont capables de produire l'AIA à différentes concentrations chez l'isolat 1 a montré la concentration la plus élevée (13.2 µg/ml) et l'isolat 4 a produit la plus faible concentration (9.4 µg/ml). En se basant sur les résultats obtenus, cette étude a révélé la diversité des bactéries de la rhizosphère de la plante d'oignon (*Allium cepa*) et a permis d'affirmer l'appartenance des isolats au groupe des PGPR qui ont des caractères d'intérêt agricole très intéressants.

Mots clés : PGPRs, Intérêt agricole, Rhizosphère, Caractérisation Phénotypique

Search for traits of agricultural interest in certain Rhizospheric bacteria

Abstract

In this study, we were interested to characterized 8 bactériales isolates, isolated from two sites, the 1st located in the region of El-milia (Wilaya of Jjel) and the 2nd in the region of El-Hamma (Wilaya of Khenchela) from the rhizosphere of the onion plant (*Allium cepa*). The phenotypic characterization macroscopic and microscopic, showed that most of the isolates are cream-colored, smoothshiny, domed, round and irregular, four of them are Gram-negative bacilli of different size, and the rest of the isolates are Gram-positive cocci growing at temperatures of 28°C to 30°C. The results obtained from this characterization as well as the biochemical characterization classify these isolates in two different genera (*Pseudomonas* and *Bacillus sp*). The evaluation of the agricultural interest of isolates from the rhizosphere (Promotes plant growth, phyto stimulation, biofertilization and biocontrol), showed that our isolates have several enzymatic activities (Synthesis of lipases and esterase and the enzyme of amylase), 50% of the bacteria are able to produce siderophores, while 50% of the bacteria are able to produce AIA at different concentrations, isolate 1 showed the highest concentration (13.2 µg/ml) and isolate 4 produced the lowest concentration (9.4 µg/ml). Based on the results obtained, this study revealed the diversity of bacteria in the rhizosphere of the onion plant (*Allium cepa*). And made it possible to affirm the belonging of the isolates to the group of PGPRs which have very interesting agricultural characteristics.

Keywords : PGPRs, Agricultural interest, Rhizosphere, Phenotypic characterization

البحث عن الصفات الزراعية المهمة في بعض العزلات البكتيرية المتواجدة في المنطقة الجذرية

المخلص

اهتمنا في هذه الدراسة على توصيف 8 عزلات بكتيرية معزولة من موقعين، الأول يقع بمنطقة المليبا (ولاية جيجل) والثاني بمنطقة الحامة (ولاية خنشلة) وذلك من المنطقة الجذرية المحيطة بنبات البصل (*Allium cepa*). حيث أظهر التوصيف المظهري بالعين المجردة للبكتيريا وباستعمال الميكروسكوب أن معظم العزلات ذات لون كريمي، ناعم لامع، مقبب، دائري وغير منتظم، أربعة منها عبارة عن عصيات سالبة الجرام ذات أحجام مختلفة، وبقية العزلات هي جرام- الموجب قادر على النمو في درجات حرارة من 28 درجة مئوية إلى 30 درجة مئوية. النتائج التي تم الحصول عليها من هذا التوصيف وكذلك التوصيف الكيميائي الحيوي صنفت هذه العزلات في جنسين مختلفين (*Pseudomonas* و *Bacillus*). كما أظهر تقييم الفائدة الزراعية للعزلات سواء في تعزيز نمو النبات، وتحفيز النبات، والتخصيب الحيوي، والتحكم الحيوي. أن عزلاتنا لها العديد من الأنشطة الأنزيمية (تخليق الليباز والإستريز وإنزيم الأميليز)، و50% من البكتيريا هي قادرة على إنتاج حامض الحديد، في حين أن 50% من البكتيريا قادرة على إنتاج AIA بتركيزات مختلفة حيث أن العزلة 1 أظهرت إنتاج أعلى تركيز (13.2 ميكروغرام / مل) والعزلة 4 أنتجت أقل تركيز (9.4 ميكروغرام / مل). بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها، كشفت هذه الدراسة عن تنوع البكتيريا في المنطقة الجذرية المحيطة بنبات البصل (*Allium cepa*) وبالتالي تأكيد انتماء العزلات إلى مجموعة PGPRs التي لها خصائص زراعية غاية في الأهمية.

الكلمات المفتاحية: PGPRs: الخصائص الزراعية، المنطقة الجذرية، التوصيف المظهري.

Table des Matières

Table de matières

Résumé en Français

Résumé en Anglais

Résumé en Arabe

Table des Matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Photographies

Liste des Abréviations

Introduction générale..... 01

Partie I. Synthèse bibliographique

I – Généralité sur la rhizosphère

I.1. La rhizosphère.....	03
I.2. Rôle de la rhizosphère.....	04
I. 3. Les Rhizobactéries.....	05
I. 4. Exsudats racinaires.....	06
I. 5. Interaction dans la rhizosphère.....	07
I. 5.1. Interaction entre les microorganismes de la rhizosphère.....	07
I. 5.1.1. Le mutualisme	07
I. 5.1.2. Le commensalisme	07
I. 5.1.3. La compétition.....	08
I. 5.1.4. Antagonisme.....	08
I. 5.1.5. Hyperparasitisme.....	08
I. 5.2. Interaction microorganismes/ plante dans la rhizosphère.....	08
I. 5.2.1. Différents types d'interaction plantes microorganismes.....	09
I. 5.2.1.1. Interaction non symbiotique.....	09
I. 5.2.1.2. Interaction symbiotique.....	10

II- Les bactéries d'intérêt agricole

II.1. Rhizobactéries promotrice de la croissance des plantes.....	11
II.1.1. Les différentes formes des PGPR	11
II.1.1.1. Bio fertilisant.....	11
II.1.1.2. Bio pesticides.....	11

Table des Matières

II.1.1.3. Phytobénéfiques.....	11
II. 2. Biodiversité et taxonomie des PGPR de la rhizosphère	12
II. 2.1. Alpha-proteobacteria.....	12
II. 2.2. Les Beta-proteobacteria.....	12
II. 2.3. Actinobacteria	12
II. 2.4. Les Gamma-proteobacteria.....	12
II. 3. Mécanismes impliqués dans l'activité des PGPR.....	14
II.3.1. Mécanisme direct.....	14
II. 3.1.1. Fixation d'azote.....	15
II.3.1.1.1. Les bactéries diazotrophes.....	15
II. 3.1.2. Solubilisation du phosphate.....	15
II.3.1.3. Production des sidérophores.....	17
II. 3.1.4. Production des phytohormones.....	18
II. 3.1.5. Acide Indole Acétique (IAA)	18
II.3.2. Mécanisme indirect.....	19
II.3.2.1. Productions des antibiotiques.....	19
II. 3.2.2. Compétitions pour nutriments.....	19
II.3.2.3. Production des COVs (composés organiques volatils)	20
II.3.2.4. Les enzymes hydrolytiques.....	21
II. 4. Utilisation des PGPR.....	21

Partie II. Matériel et méthodes

1.Échantillonnage et sites d'échantillonnage.....	23
1.1. Échantillonnage des sols.....	23
1.2. Région El-Milia -Wilaya de Jijel-.....	24
1.3. Région El-l Hamma -Wilaya de Khenchela-.....	24
2.Poid sec des plantes.....	25
3. Étude des caractères physico-chimique du sol.....	26
3.1. Analyse physique.....	26
3.1.1. Humidité.....	26
3.1.2. Granulométrie.....	26
3.2. Analyse chimique.....	27
3.2.1. PH.....	27

Table des Matières

4. la préparation de la solution mère et les dilutions.....	27
4.1. la préparation de la solution mère du sol.....	27
4.2. Préparation des dilutions.....	28
5. Isolement et purification des isolats bactériens.....	28
5.1. Ensemencement	28
5.2. Purification des isolats bactériens.....	29
5.3. Conservation des isolats bactériens.....	29
6. Identification des isolats bactériens.....	29
6.1. Caractérisation morphologique des isolats.....	29
6.1.1. Caractérisation macroscopique.....	29
6.1.2. Caractérisation microscopique.....	29
6.1.2.1. Coloration de Gram.....	29
6.2. Caractérisation biochimique des isolats.....	30
6.2.1. Production de pigments.....	30
6.2.1.1. Détection de pyoverdine.....	30
6.2.1.2. Détection de pyocyanine.....	30
6.3. Etude des enzymes respiratoires.....	30
6.3.1. Test de catalase.....	30
6.3.2. Test d'oxydase.....	30
6.3.3. Nitrate réductase.....	30
6.4. Recherche de l'indole.....	31
7. Métabolisme des glucides.....	31
7.1. Etude de la fermentation du mannitol.....	31
7.2. Recherche de la β -galactosidase (ONPG)	32
8. Recherche des enzymes d'intérêt agricole	32
8.1. Activités enzymatiques.....	32
8.1.1. Production d'amylase	32
8.1.2. Détermination de l'activités estérasique et lipasique.....	32
9. Mesure d'activité des PGPRs.....	33
9.1. Dosage d'Acide Indole Acétique (AIA)	33
9.2. Production des sidérophores.....	33

Partie III. Résultats et Discussions

Table des Matières

1.Echantillonnage.....	34
2.Le poid sec de la partie aérienne et racinaire des plantes.....	34
2. Tests physico-chimiques du sol.....	36
2.1. Humidité.....	36
2.2. Granulométrie.....	37
2.3. Analyse chimique.....	39
2.3.1. La mesure du pH.....	39
3. Identification des isolats.....	41
3.1. Caractérisation morphologique des isolats.....	41
3.1.1. Caractérisation macroscopique.....	41
3.1.2. Caractérisationmicroscopique.....	43
3.2.1. Coloration de Gram et mobilité	43
3.2. Caractérisation biochimique.....	46
3.2.1. Test de catalase.....	46
3.2.2. Test de Nitrate réductase.....	47
3.2.3. Test d'oxydase.....	48
3.2.4. Production de pigments.....	49
3.2.4.1. Détection de pyoverdine.....	49
3.2.4.2. Détection de pyocyanine.....	50
3.2.5. Recherche de l'indole.....	51
3.2.6. Test d'ONPG.....	51
3.2.7. Mannitol mobilité.....	52
4. Activités enzymatiques.....	54
4.1. Activité estérasique et lipasique.....	54
4.2. Activité amylasique.....	55
5. Mesure d'activité des PGPRs.....	56
5.1. Dosage de l'acide Indole acétique (AIA)	56
5.2. Production de sidérophores.....	58
Conclusion et perspectives.....	60
Références bibliographiques.....	61
Annexes	

Liste des Tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Substances favorisant la croissance libérée par le PGPR.....	13
Tableau 2	Informations géographiques concernant la ville de El-Milia.....	24
Tableau 3	Informations géographiques concernant la ville d'El-Hamma.....	25
Tableau 4	Le poids sec de la partie aérienne et racinaire des plantes d'oignon présentés dans la région de Khenchela.....	34
Tableau 5	Le poids sec de la partie aérienne et racinaire des plantes d'oignon présentés dans la région de Jijel.	35
Tableau 6	Les valeurs de l'humidité des deux échantillons du sol.....	37
Tableau 7	Le nombre et la nomenclature des différents isolats.....	41
Tableau 8	Résultats de l'examen macroscopique des isolats bactériens.....	42
Tableau 9	Critères microscopiques des isolats bactériens isolés sur milieu GN...	44
Tableau 10	Résultats de la présence d'indole.....	51
Tableau 11	Résultats de la présence de l'enzyme β -galactosidase (test d'ONPG)...	52
Tableau 12	Résultats de la fermentation du mannitol (test du mannitol mobilité)...	53
Tableau 13	Résultats de production de sidérophores.....	58

Liste des Figures

LISTE DES FIGURES

Figure 1	La rhizosphère.....	03
Figure 2	Représentation des trois zones de la rhizosphère.....	04
Figure 3	Représentation schématique décrivant les interactions plantes-micro-organismes dans la rhizosphère	09
Figure4	Cycle d'interaction symbiotique.....	10
Figure 5	Mécanisme de promotion de la croissance des plantes par les rhizobactéries.....	14
Figure 6	Les PGPRs aident au mécanisme de solubilisation du phosphate.....	16
Figure 7	Fonctions biologiques des sidérophores.....	17
Figure 8	Les composés organiques volatils bactériens modulent la croissance des plantes.....	20
Figure 9	Schéma simplifié des principales activités du PGPR et de leurs interactions avec le système racinaire.....	22
Figure10	Triangle des textures du sol Test de sédimentation	27
Figure 11	Détection des sidérophores sécrétés par un microorganisme cultivé sur milieuCAS.....	33
Figure 12	La variation du poids sec de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes d'oignon dans les différentes variétés de kenchela.....	35
Figure 13	La variation du poids sec de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes d'oignon dans les différentes variétés de Jijel.....	36
Figure 14	Quantités d'AIA produite par les différents isolats testés.....	57

Liste des Photographies

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1	Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma (Khenchela).....	23
Photographie 2	Les plantes (Partie aérienne et partie racinaire) avant le séchage.	25
Photographie 3	Test de sédimentation.....	26
Photographie 4	Solution mère du sol.....	28
Photographie 5	Les dilutions et la solution mère du sol.....	28
Photographie 6	Les plantes après le séchage.....	34
Photographie 7	Test d'humidité selon la méthode gravimétrique.....	36
Photographie 8	Résultats de test de sédimentation.....	38
Photographie 9	L'analyse de la texture du sol d'El-Milia (Jijel).....	38
Photographie 10	L'analyse de la texture du sol d'El-Hamma (Khenchela).....	38
Photographie 11	La mesure du pH des 2 échantillons de sol.....	39
Photographie 12	Aspects des colonies obtenues sur milieu de culture GN.....	42
Photographie 13	Réaction de catalase.....	46
Photographie 14	Mise en évidence de la réduction du nitrate.....	47
Photographie 15	Réaction d'oxydase positive.....	48
Photographie 16	Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King B » sous lumière UV.....	49
Photographie 17	Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV.....	50
Photographie 18	Résultat de test de l'Urée-Indole.....	51
Photographie 19	Résultats de test ONPG.....	52
Photographie 20	Résultats de test Mannitol-Mobilité.....	53
Photographie 21	Résultats de test de mobilité.....	54
Photographie 22	Résultats des tests enzymatique estérase et lipase.....	55
Photographie 23	Résultats de l'amylase.....	55
Photographie 24	Production de l'AIA.....	56
Photographie 25	Résultats de test de production de sidérophores.....	58

Liste des Abréviations

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AIA	L'acide Indoleacétique.....
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylate.....
BN	Bouillon nutritif.....
CaCl₂ 2H₂O	Chlorure de calcium dihydraté.....
COVs	Composés organiques volatils.....
ED	Eau distillée.....
FeCl₂ 6H₂O	Chlorure ferreux tétra hydraté.....
GN	Gélose nutritive.....
HClO	L'acide perchlorique.....
KCl	Chlorure de potassium.....
K₂HPO₄	Dipotassium phosphate.....
K₂SO₄	Sulfate de potassium.....
LB	Luria-Bertani.....
MgCl₂	Magnésium chloride.....
MgSO₄7H₂O	Magnesium sulfate heptahydrate.....
NaCl	Chlorure de Sodium.....
Na₂HPO₄2H₂O	Di-sodium hydrogène phosphate dihydraté.....
	L'O-nitrophényl-bêta-
ONPG	Dgalactopyranoside.....
	..
PBS	Tampon phosphate salin.....
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes)
UV	Ultra-violet.....

Introduction

La recherche de caractères agronomiquement significatifs chez des bactéries spécifiques de la rhizosphère est une étape essentielle pour comprendre les mécanismes d'évolution des espèces ainsi que pour assurer une bonne gestion des ressources biologiques pour une utilisation durable.

Le sol est un réservoir important pour les micro-organismes, ces derniers se trouvant périphérique du sol dans une zone étroite appelée les racines. Cette région contient une microflore complexe et diversifiée qui joue un rôle essentiel dans l'écosystème tellurique et les organismes multicellulaires. Parmi les organismes supérieurs du sol, les plantes bénéficient des effets directs et/ou indirects des micro-organismes (Munees et Mulugeta, 2014).

Les plantes bénéficient des effets des micro-organismes tout en étant exposées aux à l'aggravation du contrôle des maladies, nous devons donc mener des recherches sérieuses pour identifier des méthodes alternatives de protection des plantes moins dépendantes des produits chimiques et plus environnementales. Où il a été constaté que la lutte biologique est l'une des méthodes prometteuses, car elle est représentée dans l'utilisation de micro-organismes qui ont soit la capacité d'inhiber l'agent causal, c'est-à-dire la capacité d'augmenter le mécanisme de défense des plantes, et parmi ces micro-organismes, les bactéries de la rhizosphère sont les meilleures candidates pour une application dans le modèle.

Une attention considérable a été accordée aux effets bénéfiques des bactéries racinaires sur la croissance des plantes en mobilisant les nutriments du sol, ce produisant plusieurs régulateurs de croissance des plantes et en protégeant les plantes des agents pathogènes des plantes en les contrôlant ou en les supprimant. Inhibition et amélioration de la structure et du traitement du sol. (Munees et Mulugeta, 2014).

Compte tenu de leur multiplicité d'effets positifs dans divers domaines, les bactéries racinaires favorisant la stimulation de croissance des plantes PGPR_s (Plant Growth Promoting Radical Bacteria) sont appliquées aujourd'hui dans un large éventail d'industries agricoles en tant que pollinisateurs sur une gamme de plantes agricoles et économiques importantes, y compris les légumineuses et les cultures non légumineuses, les arbres, forêts et cultures pour améliorer leur croissance et leur productivité (Aeron *et al.*, 2011).

L'objectif de ce travail est d'identifier des bactéries isolées à partir de la rhizosphère d'oignon (*Allium cepa*), de deux régions différentes en fonction de leurs caractéristiques morphologiques : macroscopique et microscopiques, biochimiques et physiologiques, ainsi que l'évaluation de

leur caractère d'intérêt agricole dans le but de concrétiser ses applications les plus importantes dans les filières agricoles. Pour atteindre ces objectifs nous avons réalisé les étapes suivantes :

1. prospecter et déterminer le site géographique de la plante d'oignon.
2. Isolement des isolats bactériens à partir de la rhizosphère de notre plante dans les différents sites.
3. Une caractérisation physico-chimique et pédologique des différents échantillons de sol.
4. Une caractérisation phénotypique des isolats obtenus a été menée pour évaluer leurs propriétés morphologiques, biochimiques et leur activité enzymatique.
5. Ensuite, étudier les caractéristiques des PGPR_s pour le développement économique dans le respect de l'environnement, en examinant sa capacité de produire des auxines (AIA), à fixer l'azote, et produire de l'acide ferreux.

Trois grandes parties sont illustrées dans ce présent mémoire, la première aborde une synthèse bibliographique permettant de situer le travail dans son contexte scientifique. Ensuite, la deuxième partie concerne le matériel et les méthodes utilisés pour chaque étape de travail depuis la mise en culture, d'étudier les caractères d'intérêt agricole qui peuvent favoriser la croissance des plantes d'oignon en améliorant la qualité de ce produit par leur capacité de produire des enzymes efficaces. Enfin, les résultats obtenus ont été analysés, discutés et comparés avec des résultats investigateurs sur le thème en question.

Ce mémoire est clôturé par une conclusion qui comporte une série de réflexions scientifiques et de perspectives qui restent à réaliser dans un avenir proche.

Partie 1

Synthèse Bibliographique

I.1. La Rhizosphère

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltne (Curl, 1982 ; Anton *et al.*, 2008). Est un terme apparu au début de six -ème siècle, il se compose de deux mots : Rhizo : vient du grec Rhizo signifiant racine et Sphère : qui vient du latin Sphaera au du grec anciens faire (signifiant balle) (Lombi *et al.*, 2001). Il définit la rhizosphère comme les quelques millimètres de sol immédiatement adjacente aux racines qui supporte des niveaux élevés d'activité microbienne (Sulsow, 1982), Elle est le lieu des échanges entre sol, racines, microorganismes et faune associés (Cherif *et al.*, 2020), où les micro-organismes et les plantes interagissent pour exploiter les micro et macronutriments présents dans le sol en quantités limitées, affectant ainsi la croissance des plantes (Cholami *et al.*, 2012). (**Figure 1**).

La rhizosphère est généralement divisée en deux parties :

- La rhizosphère au sens strict correspond à la fine couche de sol fermement aux racines.
- Le rhizoplan ou surface des racines dont la microflore est extraite par agitation vigoureuse des racines (Brahim, 1998).



Figure 1. La rhizosphère (Site 1).

La rhizosphère est largement divisée en trois zones, nommées endorhizosphère, rhizoplan et ectorhizosphère (**Figure 2**).

- L'endorhizosphère est constituée de tissus racinaires comprenant des cellules corticales et l'endoderme.

- Le rhizoplan est la zone de la surface racinaire où les microbes du sol et les particules du sol interagissent.
- La troisième zone est l'ectorrhizosphère qui est formée à partir du sol particules adjacentes aux racines (Lynch et Whipps, 1990 ; Nguyen, 2009).

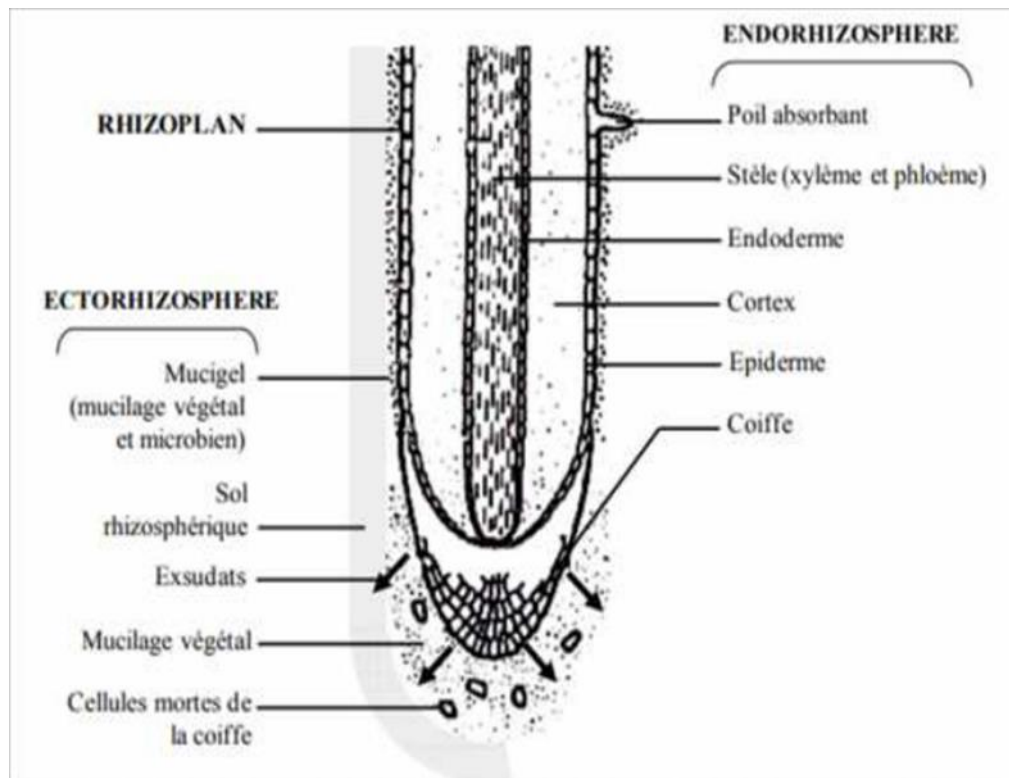


Figure 2. Représentation des trois zones de la rhizosphère (Ladjabi,2019)

La rhizosphère se décompose en trois régions qui sont l'endorrhizosphère (tissus racinaires), le rhizoplan (surface des racines) et l'ectorrhizosphère (sol adhérent aux racines ou sol rhizosphérique).

I.2. Rôle de rhizosphère

En effet, à l'intérieur des rhizosphères survenir une double relation fonctionnelle, en ce qui concernent l'effet des racines sur le milieu environnant, ainsi que l'interaction entre la microflore habitant la rhizosphère et l'activité racinaire, la rhizosphère jouent un rôle important représente les points suivants :

-La rhizosphère est un passage obligé de tous les éléments minéraux depuis le sol vers les plantes et aussi un site essentiel d'interactions fortes entre les plantes et les microorganismes du sol (Hirsch *et al.*, 2003 ; Girad et Water ,2005).

- La rhizosphère joue un rôle important concernant par la stimulation de la croissance et de l'activité des communautés microbiennes autour des racines (Grayston *et al.*, 1996).
- Elle possède une importance écologique (implication dans les cycles géo-biologiques par exemple le cycle de carbone, le cycle d'azote et de phosphore) (Meyer *et al.*, 2008).
- Elle est apparue comme le lieu privilégié des échanges de matières et d'énergie : la libération de composés organiques, l'absorption d'eau et d'ions, la synthèse des divers et variés (Girad et Water, 2005).
- La rhizosphère est une niche écologique présente dans le sol riche en gaz carbonique et pauvre en oxygène dissous, la rhizosphère est un site qui éveille et stimule diverses activités microbiennes et aussi un site réducteur, où se développe une activité dénitrifiante, réduisant l'ion nitrate en oxyde d'azote, voir en ammoniac (Carne, 2010).
- La rhizosphère possède une fonction directe dans la régulation de la santé et de la nutrition des plantes, en lien avec la nature des exsudats racinaires.
- La rhizosphère sont responsables de nombreuses relations trophiques par la libération une large gamme de composés organiques : sucres et polysaccharides, acides organiques et aminés, peptides et protéines.
- La rhizosphère peut aussi induire des changements substantiels dans les propriétés physiques et chimiques, qui finalement affectent les activités du sol micro-organismes (Hinsigre *et al.*, 2005).

I.3. Les rhizobactéries

Le terme « rhizobactéries » a été accepté pour décrire un groupe de bactéries de la rhizosphère capables de coloniser l'environnement racinaire (Ahemad et Kibret, 2013). On définit alors les bactéries associées aux racines des plantes comme les rhizobactéries, celles-ci sont généralement des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, tout au long du cycle de développement de la plante (Kloepper *et al.*, 1991). Ces bactéries peuvent en outre être subdivisées en trois groupes de valeur par rapport à la plante : bénéfique, délétère et neutre (Schroth et Hancock, 1981). Les bactéries non symbiotiques appartiennent à différents genres et à différents types, les plus courants étant : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp* et *Pseudomonas spp*. Fluorescent (Hallman *et al.*, 1997). Les processus d'échange sol-plante sont affectés par les rhizobactéries, en particulier lorsque leur densité et leur activité sont élevées. Les bactéries racinaires sont des hétérotrophes, elles ont donc besoin de composés organiques comme source d'énergie. Leurs

besoins sont entièrement satisfaits dans la zone racine elle-même. Les bactéries racinaires utilisent de nombreux substrats végétaux : cortex et épithélium des racines qui se détachent, polysaccharides du mucilage racinaire, polysaccharides, acides aminés et organiques des exsudats racinaires, etc (Cherif, 2014). Par conséquent, ils sont cruciaux pour la fertilité des sols (Ahemad et Kibret,2013).

I.4. Les exsudats racinaires

L'exsudation est définie comme la libération de composés solubles de faible poids moléculaire (Aouar, 2012), c'est aussi le métabolisme le plus rapide par les micro-organismes (Brahim, 1998). Au niveau de la rhizosphère, les racines libèrent beaucoup de matière organique sous forme de mucilage et plus de 40 % des produits photosynthétiques passent dans le système racinaire (Whipps,2001 ; Bretin *et al.*, 2003). Les exsudats représentent la partie la plus importante des substances libérées par les racines, surtout dans la région apicale. C'est également celle la plus rapidement métabolisée par les microorganismes (Aouar, 2012), il se compose généralement de sucres, d'acides aminés, de facteurs de croissance, de vitamines, d'enzymes et d'acides organiques, La composition des exsudats racinaires est susceptible de varier en fonction des conditions biotiques et abiotiques de l'environnement, mais aussi du stade de développement de la plante et de son état physiologique (âge, plante saine ou malade) (Bertin *et al.*, 2003). Ils représentent une source de nourriture pour les plantes-racines. Ils agissent soit par stimulation, soit par inhibition de certaines espèces (effet radical) (Ladjabi,2019). Les interactions positives des exsudats racinaires comprennent également des activateurs de croissance qui améliorent la croissance des plantes voisines et aident à la signalisation interspécifique, l'interaction négative des exsudats racinaires comprend la sécrétion d'insecticides et de nématocides composés, phytotoxines et sécrétion d'antibiotiques (Bais et Elmeriche,2006).

Ces exsudats ont trois rôles majeurs :

- La protection de la coiffe de la racine, les cellules du méristème apical, à l'origine de l'élongation de la racine.
- L'agrégation physique des particules d'argile (à l'image d'une colle).
- La ressource énergétique pour de nombreux microorganismes de la rhizosphère (Waligora, 2010).

I.5. Interaction dans la rhizosphère

Il existe différentes interactions dans la rhizosphère. Les processus racinaires impliqués dans ces réactions comprennent la décomposition des racines, la respiration des racines, l'absorption d'eau et de nutriments, entre autres (Bazout, 2005).

I.5.1. Interaction entre les microorganismes de la rhizosphère

Au niveau de la rhizosphère qui est une zone riche en matière organique et où les populations microbiennes sont très abondantes. Les interactions entre les microorganismes sont nombreuses et très intenses (Aouar,2012), Ces interactions sont souvent nutritionnelles. Un micro -organisme dépend d'un autre micro-organisme pour la dégradation de produits ou de substrats spécifiques, ou différents microorganismes sont en compétition pour le même substrat (Trevors et Vanelsas, 2019). Dans d'autres cas, le microorganisme peut exercer un effet néfaste sur d'autres microorganismes, par exemple en produisant des antibiotiques ou des composés toxiques (Kaioua et Grairi, 2015). Les interactions entre populations microbiennes peuvent être reconnues comme négatives (compétition, incompatibilité), positives (symbiose, synergie et symbiose), ou positives vis-à-vis d'un individu et négatives vis-à-vis des autres populations (parasitisme ou prédation) (Trevors et Vanelsas, 2019). Les interactions sont les suivantes :

I.5.1.1. Le mutualisme

Définie comme une interaction trophique directe. On distingue deux phénomènes : le mutualisme (symbiose) et le synergisme (proto- Coopération), Le mutualisme ou symbiose est une association mutuellement bénéfique avec des micro-organismes partenaires, où l'existence de chaque micro-organisme est un catalyseur nécessaire à la survie de l'autre (Nehem, 2008).

I.5.1.2. Le commensalisme

Le commensalisme existe au niveau de la rhizosphère est une relation directe à échange trophique entre communautés microbiennes dans les conditions environnementales (humidité, pH, le potentiel osmotique, etc.) où il est un microorganisme profite de la présence de l'autre, Cela peut avoir lieu si une des populations Produit une substance nécessaire pour la croissance de l'autre ou si elle consomme une substance inhibitrice de la croissance de l'autre (Nehem, 2008).

I.5.1.3. La compétition

La compétition est un mécanisme biologique être entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs. Dans ce

cas les deux populations se développent sur le même substrat et consomment toutes les deux un ou plusieurs nutriments communs nécessaires à leur croissance , l'effet sélectif des exsudats racinaires sur la microflore serait le résultat de la compétition qui oppose des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide , ces dernières sont particulièrement favorisées dans la rhizosphère parce que pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie . Les rhizobactéries doivent être présentes sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et capables d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Guilloux *et al.*, 1985 ; Mekahlia et Saidani, 2020).

I.5.1.4 Antagonisme

En écologie, le terme d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte. L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose (Brahim, 1998 ; Gaétan ,2004).

I.5.1.5. Hyperparasitisme

L'hyperparasitisme est l'attaque directe d'un micro-organisme par un autre dans un but Nutritionnel. La rhizosphère qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme (Brahim ,1998 ; Benhacene *et al.*,2016).

I.5.2. Interaction microorganismes/ plante dans la rhizosphère

Dans les écosystèmes naturels et cultivés, diverses interactions s'établissent entre les plantes et les micro-organismes. Les relations entre les plantes et les micro-organismes ont toujours suscité un très grand intérêt. Dans un premier temps, l'homme a exploité les interactions entre les plantes et les micro-organismes pour l'amélioration de leur rendement et l'approfondissement de leurs connaissances (Laradj ,2017). Les bactéries saprophytes bénéfiques peuvent promouvoir la croissance et la santé des plantes (Ladjabi ,2019).

Cette boucle de rétroaction schématisée sur la (**Figure 03**) :

- ✓ La libération d'exsudats racinaires (1).
- ✓ Ces exsudats favorisent des populations microbiennes particulières au sein de la communauté tellurique (2).

- ✓ En retour, certaines de ces populations favorisent la croissance (exemple présenté : nutrition en fer) et la protection (exemple présenté : antagonisme microbien) de la Plante-hôte (3) ; ces effets bénéfiques compensent le coût représenté par les exsudats racinaires pour la plante (Lemanceau *et al.*,2013).

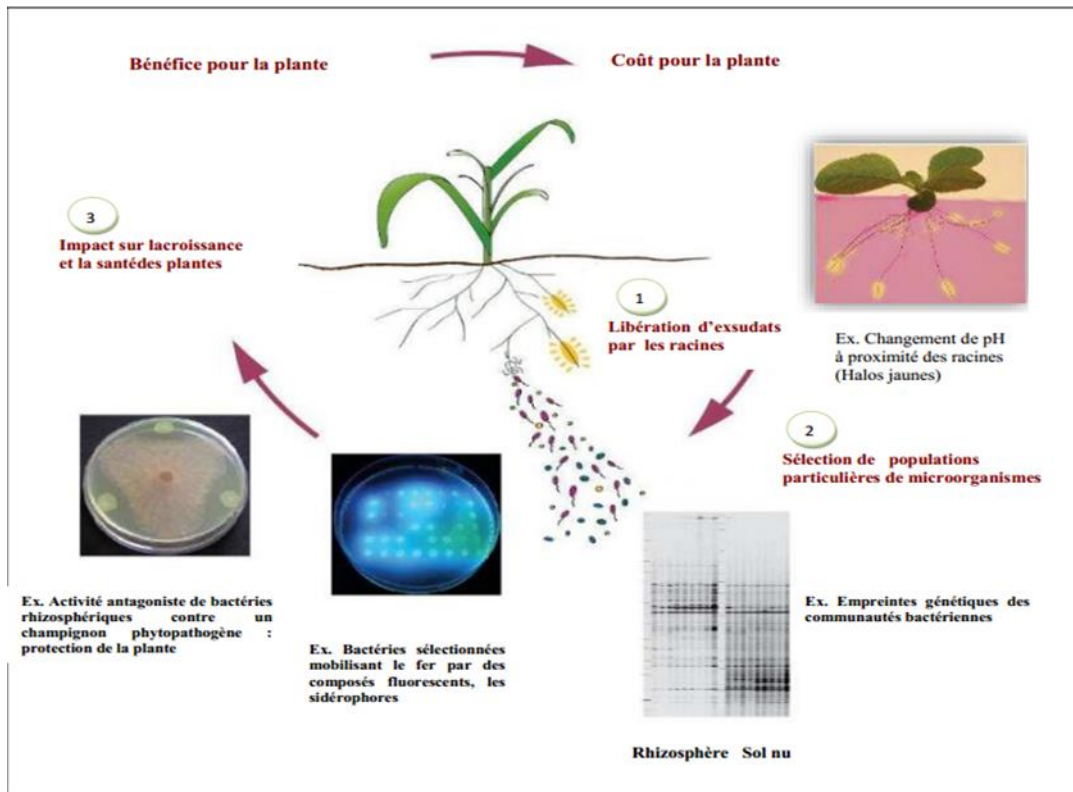


Figure 3. Représentation schématique décrivant les interactions plantes-micro-organismes dans la rhizosphère (Laradj, 2017).

I.5.2.1. Différents types d'interaction plantes microorganismes

I.5.2.1.1. Interaction non symbiotique

Dans la masse du sol environnante produisent des interactions entre les microorganismes et les racines, Cette activité sont stimulées par les exsudats racinaires qui représentent une source d'énergie pour les micro-organismes rhizosphérique et contribuer à sa multiplication. Les microorganismes non symbiotiques mutualistes vont donc influencer positivement la croissance de la plante en jouant un rôle sur la disponibilité et la répartition des nutriments. Certaines espèces microbiennes comme les bactéries *Pseudomonas* ou les champignons du genre *Trichoderma* sont des microorganismes libres non symbiotiques qui colonisent la rhizosphère produisent des composés organiques qui permettent le développement du système racinaire des plantes (Bakker *et al.*, 2007 ; Doornbos *et al.*,2012). Le rôle de protection passe le plus couramment par la production d'antibiotiques, Des bactéries comme

les *Pseudomonas* peuvent sécréter des enzymes (protéase, chitinase, lipase) (Bolwerk *et al.*, 2003). Par ailleurs, la résistance non hôte est définie comme l'immunité d'une espèce présentée par la plante entière contre toutes les variantes génétiques de l'agent pathogène, ce type d'immunité, parfois limitée dans le temps est très fréquent dans la nature mais n'est pas encore très bien connue en comparaison avec la résistance spécifique à la maladie chez certains génotypes de plantes hôtes qui sont habituellement sensibles, La plupart des interactions entre les plantes et les agents pathogènes sont des interactions non-symbiotique (Ladjabi, 2019).

I.5.2.1.2. Interactions symbiotiques

En plus de l'interaction des micro-organismes avec les plantes dans la zone racinaire. Au niveau des racines des plantes des relations symbiotiques spécifiques s'établissent avec les micro-organismes, la connexion est donc importante : l'apport de nutriments minéraux et de substances stimulantes (parfois aussi des relations symbiotiques fixatrices d'azote) (Dommergues et Mangenot, 1970). **(Figure 4).**

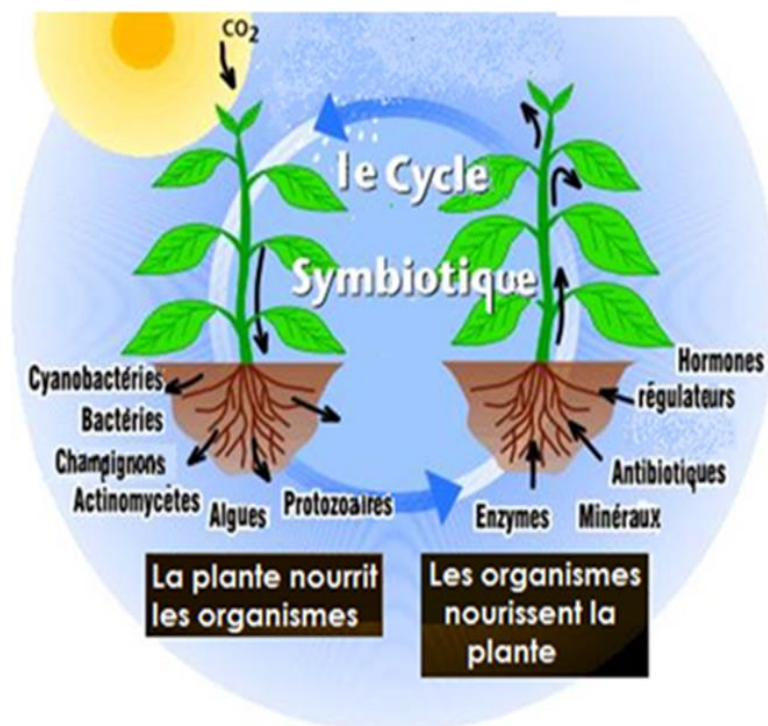


Figure4. Cycle d'interaction symbiotique (site 2)

II.1. Rhizobactéries promotrice de la croissance des plantes

Le terme PGPR a été inventé pour la première fois par Kloepper et schorth (1978) pour décrire cette population microbienne dans la rhizosphère, interagir intimement avec les racines des plantes et influencent par conséquent la santé des plantes et du sol la fertilité. Ces microorganismes bénéfiques ou PGPR peuvent provenir de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère, Ils offrent une excellente combinaison de caractères utiles dans le contrôle des maladies et la promotion de la croissance des plantes et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie et d'éléments nutritifs, généralement elles sont des souches très compétitives (Abnatura *et al.*, 2013).

Les PGPRs composent un groupe hétérogène de bactéries qui peuvent se développer dans, sur, ou autour des tissus des racines végétales, stimulant la croissance des plantes directement et / ou indirectement dont les genres les plus étudiés sont : *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* (Kloepper *et al.* , 1992).

II. 1.1. Les différentes formes des PGPRs

II.1.1.1. Bio fertilisant

Une substance qui contient des microorganismes vivants, capables de stimuler la croissance végétale lorsqu'elle est appliquée sur la surface de la plante des semences ou le sol, par la production des phytohormones comme les auxines, cytokinines et gibbérellines ou de changer la concentration des régulateurs de croissance tels que l'acide indole acétique AIA et l'éthylène, à l'intérieur de la plante. Et aussi La fixation biologique d'azote, Utilisation du phosphore insoluble (Vessey, 2003).

II.1.1.2. Bio pesticides

Les micro-organismes qui favorisent la croissance des plantes en contrôlant les agents phytopathogènes, principalement pour la production d'antibiotiques (sidérophores, HCN, métabolites antifongiques), et production d'enzymes hydrolytiques qui dégradent les parois cellulaires (Somers *et al.*, 2004).

II.1.1.3. Phytobénéfiques

Micro-organisme capable de produire ou modifier la concentration de la croissance régulateurs tels que l'acide indole acétique, l'acide gibbérellique, les cytokinines et de l'éthylène.

- Production des phytohormones.
- Diminution de la concentration d'éthylène (dans l'intérieur de la plante) (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

II.2. Biodiversité et taxonomie des PGPR_s de la rhizosphère

Au cours des dernières années, le nombre des PGPR_s identifiées a augmenté d'une façon significative, principalement puisque le rôle de la rhizosphère comme écosystème a gagné de l'importance dans le fonctionnement de la biosphère et que les mécanismes d'action des PGPR_s ont été suffisamment étudiés. Ces microorganismes cultivables, présentant une diversité de genres et d'espèces, appartiennent majoritairement aux quatre phyla suivants : *Protéobactéries*, *Firmicutes*, *Actinobactéries* et *Bactéroïdes* (Hugenholtz, 2002).

II.2.1. Alpha-proteobacteria

Les PGPR_s appartenant à cette classe sont classés par leur capacité à fixer l'azote et à noduler les plantes. Ces souches peuvent se comporter comme PGPR_s quand elles colonisent les racines des plantes non légumineuses dans une relation non spécifique (Sawada *et al.*, 2003).

II.2.2. Les Beta-proteobacteria

Dans la famille *Burkholderiaceae*, le genre *Burkholderia* forme un groupe monophylétique qui contient diverses espèces ayant des propriétés physiologiques et écologiques variées, elles sont isolées à partir des sols et des plantes. Quelques souches ont la capacité de fixer de façon symbiotique l'azote. *Ralstonia* est un genre également attribué à la famille des *Burkholderiaceae*. Il est, comme le genre *Burkholderia*, omniprésente (Moulin *et al.*, 2001).

II.2.3. Actinobacteria

Le genre *Frankia* est fixateur symbiotique d'azote. Cette capacité est une caractéristique du genre. Ces bactéries sont associées à des plantes actinorhiziennes pionnières de la colonisation des sols pauvres ou perturbés. D'autres *Actinobacteria* sont également des promoteurs de croissance des plantes mais ne participent pas à la symbiose. Ils appartiennent aux genres *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Streptomyces* (Gray et Smith, 2005).

II.2.4. Les Gamma-proteobacteria

Elle comprend le plus grand nombre de Proteobacteria regroupées dans 13 ordres, parmi ces ordres, les *Pseudomonadales* comprennent deux familles, les *Pseudomonadaceae* avec les genres *Pseudomonas*, bactéries communes des sols et des eaux, et les *Moraxellaceae* avec les

Partie I. Synthèse Bibliographique II- Les bactéries d'intérêt agricole

genres *Moraxella*, *Acinetobacter*, rencontrés dans les sols. Dans la famille des *Pseudomonadaceae*, le genre *Azotobacter* est composé de bactéries qui favorisent la croissance des plantes principalement à cause de sa capacité de fixer l'azote (Bertrand *et al.*, 2000). (Tableau 1).

Tableau 1. Substances favorisant la croissance libérée par le PGPR (Munees et Mulugeta, 2014).

PGPR	Traits de promotion de la croissance des plants
<i>Klebsiella sp</i> ; <i>Enterobacter asburiae</i> ; <i>Rhizobium sp</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Pseudomonas putida</i>	AIA, sidérophores, HCN, ammoniacque, exopolysaccharides, solubilisation du phosphate
<i>Bacillus spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Azotobacter spp.</i> <i>Rhizobium spp.</i>	AIA, production de l'ammoniacque.
<i>Rahnella aquatilis</i>	Activité nitrogénase, Solubilisation du phosphate, AIA, ACC désaminase.
<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas jessenii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas, Bacillus</i>	Solubilisation du phosphate, AIA sidérophore, HCN, potentiel de biocontrol ACC deaminase, AIA, sidérophore, Solubilisation Des métaux lourds, solubilisation du phosphate. Solubilisation du phosphate, AIA et sidérophores.
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Activité antifongique
<i>Psychrobacter sp. SRS8</i> <i>Bradyrhizobium sp. 750,</i> <i>Pseudomonas sp., Ochrobactrum cytisi</i>	Mobilisation des métaux lourds
<i>Rhizobium phaseoli</i>	En présence de tryptophane, rhizobium Réduire les effets néfastes de la salinité, Et une biomasse végétale élevée.

II.3. Mécanismes impliqués dans l'activité des PGPRs

Mécanisme de la promotion de la croissance des plantes médiée par les PGPRs se produit par l'altération de l'ensemble de la communauté microbienne dans la niche de la rhizosphère par la production de diverses substances (**Figure 5**). (Kloepper et Schroth, 1981). Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sont les bactéries du sol qui vivent autour/sur la surface des racines et sont directement ou indirectement impliquées dans la promotion de la croissance et du développement des plantes via la production et la sécrétion de divers produits chimiques régulateurs à proximité de la rhizosphère. Généralement, les PGPRs favorisent la croissance des plantes soit directement en facilitant l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou en modulant les niveaux d'hormones végétales, soit indirectement en diminuant les effets inhibiteurs de divers agents pathogènes sur la croissance et le développement des plantes sous la forme d'agents de lutte biologique (Munee et Mulugeta, 2014).



Figure 5. Mécanisme de promotion de la croissance des plantes par les rhizobactéries (Munee et Mulugeta, 2014).

II.3.1. Mécanisme direct

Les PGPRs peuvent affecter directement le développement de la croissance des plantes par la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la solubilisation du potassium et la production d'hormones végétales et l'augmentation de la disponibilité du fer. Les moyens par lesquels les PGPRs affecte la croissance des plantes varient d'une espèce à l'autre ainsi que d'une souche à l'autre. Les substances organiques qui améliorent la croissance des plantes sont

appelées régulateurs de croissance des plantes. Ils favorisent la croissance des plantes en affectant les processus morphologiques et physiologiques à de très faibles concentrations (Cherif, 2014).

II.3.1.1. Fixation d'azote

La fixation biologique de l'azote par les bactéries du sol est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel les plantes bénéficient de l'association microbienne (Cherif, 2014). L'azote 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, mais il n'est pas disponible pour les plantes en croissance (Muness et Mulugeta, 2014). La fixation biologique de l'azote se produit à des températures douces par des micro-organismes fixateurs d'azote largement répandus dans la nature (Sahin *et al.*, 2004), les bactéries fixatrices d'azote sont les premières PGPR utilisées pour améliorer la croissance des plantes, en particulier le rendement, car elles sont libres et capables de fixer l'azote dans la zone racinaire mais sans créer un tel symbiote végétal. Bien qu'elles ne pénètrent pas dans les tissus végétaux, il existe une relation étroite, car ces bactéries vivent près des racines où elles fixent l'azote atmosphérique qui n'est pas utilisé par ces bactéries mais absorbé par les plantes (Solano *et al.*, 2009).

II.3.1.1.1. Les bactéries diazotrophes

Les bactéries diazotrophes sont les plus intéressantes. Ils ont la capacité de développer différents types d'associations avec des racines et différents types d'espèces. Ces bactéries vivent dans le sol à l'interface entre le sol et les racines. Cette région est appelée la zone racine. (Hemerly, 2014).

Les PGPRs, capables de fixer N₂ sont également appelés diazotrophes leur rôle de stimulation des plantes grâce à leur capacité de fixer l'azote atmosphérique et le converti en formes utilisable par la plante sont : *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Azomonas*, se nourrissent des molécules sécrétées par les racines et fixent à leur tour le diazote pour le restituer à la plante sous forme d'ammonium (Santi *et al.*, 2013).

II.3.1.2. Solubilisation du phosphate

Après l'azote, le phosphore est le nutriment le plus important pour les plantes, est abondamment disponible dans les sols sous des formes organiques et inorganiques (Khan *et al.*, 2016). Les PGPRs peut minéraliser le phosphore organique dans le sol en solubilisant les phosphates à structure complexe tels que le phosphate tricalcique, le phosphate d'aluminium, le phosphate naturel, etc., ce qui transforme le phosphore organique en une forme inorganique qui

augmente la disponibilité du phosphate pour les plantes (**Figure6**)(Ahemad et Kibret ,2014). En effet, les bactéries utilisent deux mécanismes pour solubiliser le phosphore : en libérant des acides organiques qui mobilisent le phosphore par interactions ioniques avec les cations des sels de phosphate et en libérant des phosphatases responsables de la libération des groupements phosphate fixés sur la matière organique. Les PGPRs, utilisent les sucres des exsudats racinaires et produisent des acides organiques. Ces acides sont d'excellents chélateurs des cations Ca_2^+ divalents, libérant ainsi les phosphates des composés phosphates insolubles. De nombreuses bactéries solubilisant les phosphates abaissent le pH du milieu en sécrétant des acides organiques tels que les acides acétique, lactique, malique, tartrique, gluconique, oxalique et citrique (Alori *et al.*, 2017). L'implication des PGPRs dans la solubilisation des phosphates inorganiques est connue depuis longtemps. On estime que les bactéries solubilisant les phosphates représentent 1 à 50 % de la proportion de micro-organismes du sol et de la rhizosphère (Sharma *et al.*, 2013). La forte proportion de bactéries solubilisant le phosphate est concentrée dans les rhizosphères et est connue pour être plus active sur le plan métabolique que celles isolées de sources autres que la rhizosphère (Aloriet *al.*,2017). Il a été rapporté que *Bacillus megaterium*, *B. sircalmous*, *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *Pseudomonas striataet P. Polymyxa* sont parmi les solubilisant de phosphate les plus efficaces (Goswami *et al.*, 2013).

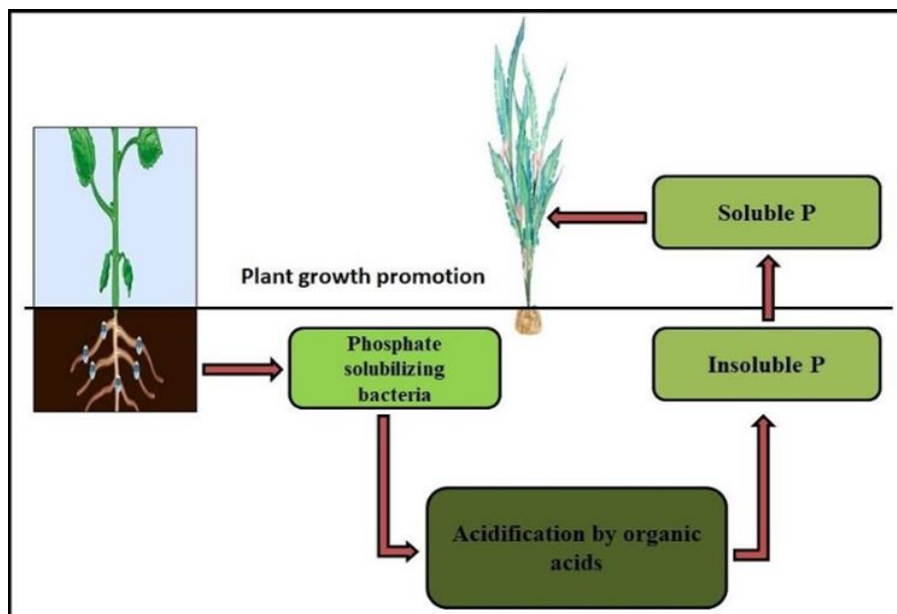


Figure 6. Les PGPRs aident au mécanisme de solubilisation du phosphate (Muhammad *et al.*,2018).

Il a également été signalé que les bactéries solubilisant le phosphate isolé de la rhizosphère induisaient la colonisation et la promotion de la croissance du maïs (Li *et al.*, 2017). Las

solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du phosphore insoluble en phosphore soluble, En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles (Ahemad et Kibret ,2013).

II.3.1.3. Production des sidérophores

Certaines souches bactériennes agissent comme agents de lutte biologique en produisant de l'acide ferrique (**Figure 7**). Dans ce cas, les roulements en acier en PGPR_s peuvent empêcher certains phytopathogènes d'obtenir suffisamment de fer, limitant ainsi la capacité de reproduction (Compant *et al*, 2005). Ce mécanisme est efficace car les PGPR_s se caractérisent par la production de transporteurs de fer qui ont une bien plus grande affinité pour le fer que les pathogènes fongiques. Le fer est un élément essentiel pour la nutrition des plantes. Une carence en cet élément engendre une altération de plusieurs réactions métaboliques à cause du rôle qu'il joue comme un cofacteur de plusieurs enzymes impliquées dans la respiration, la photosynthèse et la fixation d'azote (Schippers et Bakker, 1987). Le fer est très abondant dans le sol, mais il n'est pas assimilé par la plante et les microorganismes du sol, puis que la forme dominante est Fe₃⁺, la forme oxydée réagit pour former des oxydes et des hydroxydes insolubles, inaccessibles pour la plante ou les microorganismes (Khan *et al.*,2016). Beaucoup de plantes peuvent utiliser divers sidérophores bactériens comme sources de fer, beaucoup de bactéries productrices des sidérophores appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* de la rhizosphère (Kuffner *et al.*, 2008).

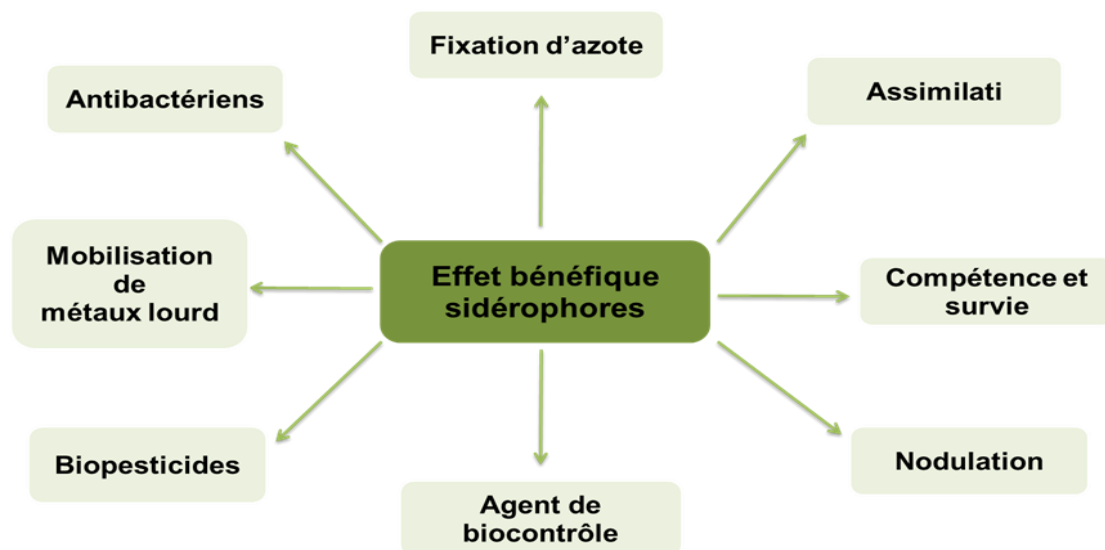


Figure 7. Fonctions biologiques des sidérophores (Khan *et al.*,2016).

II.3.1.4. Production des phytohormones

Les phytohormones sont des messagers chimiques qui jouent un rôle majeur dans la promotion de la croissance et du développement des plantes. Les phytohormones sont présentes à de faibles concentrations, sinon elles limiteraient la croissance et le développement des plantes ou deviendraient mortelles si elles ne sont pas contrôlées (Lymperopoulos *et al.*, 2018). La production de phytohormones par les PGPR_s est un mécanisme essentiel, car de nombreuses rhizobactéries soutiennent la croissance des plantes. Dans la zone racinaire, il existe un grand groupe de micro-organismes capables de produire des substances qui régulent la croissance et le développement des plantes. Les bactéries racinaires produisent des hormones végétales telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène qui peuvent affecter la reproduction cellulaire dans la structure racinaire par une surproduction de racines latérales et de rhizomes avec une augmentation des nutriments et un apport d'eau ultérieur (Spaepen *et al.*, 2008).

Le rôle des phytohormones réside dans la modulation de l'absorption des nutriments et la médiation de la réponse au stress et aux agents pathogènes, améliorant ainsi le rendement et la qualité des cultures. Il existe différents groupes chimiques d'hormones végétales de base, à savoir : les cytokinines, les auxines, les gibbérellines et les acidophilus, Abscissique, éthylène, polyamines, jasmonate et acide salicylique (Khan *et al.*, 2016).

II.3.1.5. Acide Indole Acétique

La synthèse microbienne de la phytohormone auxine (IAA) est connue depuis longtemps. Il est rapporté que 80% des micro-organismes isolés de la rhizosphère de diverses cultures possèdent la capacité de synthétiser et de libérer des auxines comme métabolites secondaires (Patten et Glick, 1996). L'AIA est le plus important du groupe des auxines et quantitativement le plus produit par les PGPR_s. Les plantes ont développé des systèmes élaborés pour réguler les niveaux cellulaires de l'IAA (Normanly et Bartel, 1999). L'IAA représente l'une des hormones végétales les plus importantes, ce qui renforce de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes tout au long du cycle cellulaire de la plante, de la division cellulaire, de l'allongement cellulaire et de la différenciation (Narula *et al.*, 2006). 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 bactériennes

augmentant la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol.

Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en imitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines (Cherif, 2014).

II.3.2. Mécanisme indirect

II.3.2.1. Productions des antibiotiques

Les PGPR_s produisant des antibiotiques sont considérées comme l'un des mécanismes de biocontrôle pour l'agent pathogène cible. Ces antibiotiques produits à faibles concentrations, peuvent inhiber la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents pathogènes. Ils peuvent être transmis dans le sol par des micro-organismes antagonistes (Ulloa-Ogaz *et al.*, 2015).

Parmi les antibiotiques produits par PGPR_s dans la rhizosphère d'une variété de plantes hôtes : l'acide phénazine-1-carboxylique, l'oomycine A, les rhamnolipides (Fernando *et al.*, 2005).

Plusieurs facteurs abiotiques peuvent influencer sur la production d'antibiotiques par des agents de lutte biologique bactériens tels que l'oxygène, la température, des sources spécifiques de carbone et d'azote, et des micro éléments.

Parmi les facteurs biotiques qui peuvent jouer un rôle déterminant dans la production d'antibiotiques figurent la plante hôte, l'agent pathogène, la microflore indigène et la densité cellulaire de la souche productrice (Raaijmakers *et al.*, 2002).

II.3.2.2. Compétitions pour nutriments

Les PGPR_s sont souvent en concurrence avec de nombreux microbes nocifs pour les nutriments et les niches dans la rhizosphère. A été suggérée pendant des décennies comme un mécanisme possible de lutte biologique, Ces nutriments sont présents à l'état de traces, par conséquent, ils peuvent réduire l'agent causal de la maladie (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Les microbes non pathogènes qui sont présents dans le sol peuvent coloniser rapidement les surfaces des plantes et utiliser des nutriments disponibles. Ces derniers peuvent inhiber la croissance des microbes pathogènes. La compétition pour les nutriments entre PGPR_s et les agents pathogènes sont l'une des interactions importantes qui indirectement soutient la croissance des plantes (Nelson, 2004).

II.3.2.3. Production des COV (composés organiques volatils)

Certaines souches des PGPR_s jouent un rôle crucial pour aider les plantes à faire face à des conditions défavorables où Plusieurs petites concentrations de COV produits par les PGPR_s sont impliquées dans le contrôle biologique en induisant la résistance systémique chez la plante contre les différents pathogènes, dont ils servent de médiateurs pour la connexion entre la plante et l'agent antagoniste.

Diverses espèces de *Bacillus* produisent ces composés, à savoir, des phénylpropanoïdes, des dérivés d'acide gras et un mélange complexe de terpénoïdes et de lactones volatiles qui présentent des propriétés antibiotiques (Morath *et al.*, 2012 ; Velivelli *et al.*, 2015).

Il a été rapporté aussi *B. megaterium* sécrète de la spermidine et induit la production de polyamines chez *Arabidopsis*, entraînant une augmentation de la biomasse racinaire et une élévation de la capacité photosynthétique (Zahou *et al.*, 2016).

Les composés organiques volatils bactériens modulent la croissance des plantes comme indique dans (**Figure 8**), Dans les sols hétérogènes les micro-organismes peuvent produire des concentrations efficaces de composés ayant des effets inhibiteurs (à gauche) ou améliorants (à droite) sur la productivité des plantes. Les effets observés vont de la mort des plantes à un meilleur enracinement et à une plus grande biomasse (Bailly et Weisskopf, 2012).

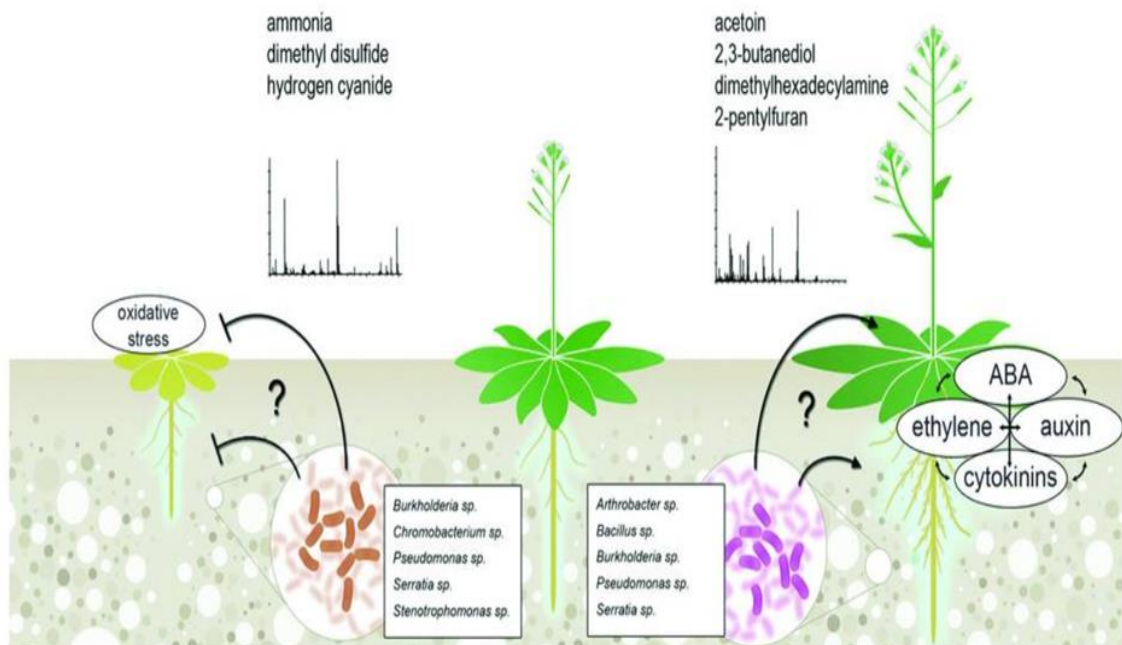


Figure 8. Les composés organiques volatils bactériens modulent la croissance des plantes (Bailly et Weisskopf, 2012).

II.3.2.4. Les enzymes hydrolytiques

La communauté microbienne de la rhizosphère produit une variété d'enzymes hydrolytiques extracellulaires, ces enzymes responsables de la dégradation de divers composants de la paroi cellulaire des microbes pathogènes des plantes (Aeron *et al.*, 2011 ; Mabood *et al.*, 2014).

La production d'enzymes hydrolytiques par PGPR_s (chitinase, glucanase, protéase et cellulase) est un mécanisme important dirigé contre les pathogènes des plantes pour une gestion durable des maladies des plantes, Les propriétés anti-hydrolytiques des enzymes hydrolytiques contre divers agents pathogènes des plantes jouent un rôle clé dans la lutte biologique, améliorant ainsi la croissance des plantes (Jadhav *et al.*, 2017).

Il a été signalé que l'effet des enzymes et antibiotiques produits par les microorganismes donne une efficacité plus élevée de la lutte biologique (Howell, 2003).

II.4. Utilisation des PGPR_s

- Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), représentant des groupes microbiens et capables de coloniser les racines des plantes, influencent la croissance des plantes par divers modes indirects et directs afin de favoriser leur croissance et/ou de les protéger des maladies ou des dommages dus aux attaques d'insectes (Pratikhya *et al.*, 2021).
- Les PGPR_s sont des acteurs essentiels en agriculture (Etesami et Maheshwari, 2018). Joue un rôle important dans l'amélioration de la croissance des plantes à travers une grande variété de mécanismes. Le mode d'action du PGPR qui favorise la croissance des plantes comprend la tolérance au stress abiotique chez les plantes, la fixation des éléments nutritifs pour une absorption facile par la plante, régulateurs de croissance des plantes, la production de sidérophores, la production de composés organiques volatils, et la production d'enzymes de protection telles que la chitinase, la glucanase et l'ACC-désaminase pour la prévention des maladies des plantes. Cependant, le mode d'action des différents PGPR varie selon le type de plantes hôtes (Choudhary *et al.*, 2011).
- Les PGPR_s ont été utilisées pour améliorer l'absorption d'eau et de nutriments, la tolérance au stress abiotique et biotique (Backer *et al.*, 2018).
- Les mécanismes des PGPR_s comprennent la régulation de l'équilibre hormonal et nutritionnel, l'induction de la résistance contre les agents pathogènes des plantes et la

solubilisation des nutriments pour une absorption facile par les plantes (Paravin *et al.*, 2016).

- Les PGPRs offrent des connaissances essentielles à la biotechnologie agricole et environnementale en fournissant plusieurs nouveaux gènes et une compréhension des voies biochimiques des enzymes, des antibiotiques et de nombreux autres bioproduits à valeur ajoutée (Backer *et al.*, 2018).

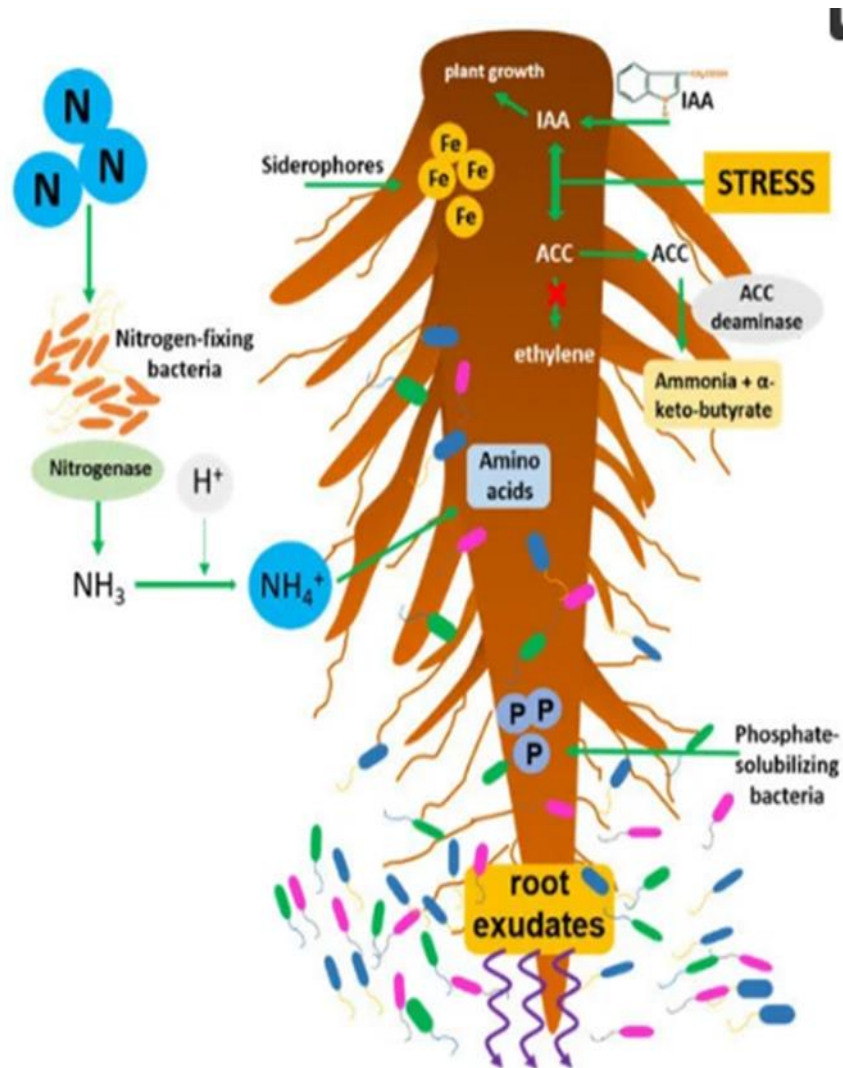


Figure 9. Schéma simplifié des principales activités du PGPR et de leurs interactions avec le système racinaire ; fixation de l'azote, solubilisation du phosphate, absorption du fer par les sidérophores, activité de l'ACC désaminase abaissant les niveaux d'éthylène, production d'IAA stimulant la croissance des cellules végétales (Vocciante *et al.*, 2022).

Partie 11

Matériel et Méthodes

Notre étude appliquée fut menée au niveau du complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma (**Photographie1**) pendant une période d'un mois, sous la direction de responsable du hall de technologie de Mme : Chorfi.R.



Photographie 1. Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma (Khenchela).

1.Échantillonnage et sites d'échantillonnage

1.1. Échantillonnage des sols

Les échantillons du sol que nous avons utilisés ont été prélevés de la rhizosphère des plantes d'oignon (*Allium cepa*) prélevés à partir de deux sites :



- Le premier site la zone El-Milia située à 59 km de la wilaya de Jijel.
- Le deuxième site la zone d'El –Hamma située à 6 km de la wilaya de Khenchela.

De chaque site, trois plantes ont été prélevés. La distance pour arracher les plantes entre chaque échantillon est 1mètre et une profondeur de 10 cm de la surface d'échantillonnage, après placer les échantillons dans des récipients stériles et les transporté immédiatement au laboratoire.

1.2. Présentation générale de région El-Milia

Le prélèvement fut extrait sur un champ privé de la commune El-Milia de la wilaya de Jijel. Le (Tableau2) apporte les informations géographiques de cette commune.



Tableau 2. Informations géographiques concernant la ville **El-Milia** (Site 3).

Coordonnées géographiques de Milia	L'altitude : 36.75 , Longitude : 6.26667 36° 45'0 Nord, 6°0' Est
Superficie El-Milia	23 207 hectares 232.07 Km ²
Altitude El-Milia	36 m
Climat El-Milia	Climat méditerranéen avec été chaud (Classification de Koppen : Csa)
 <p>La zone de prélèvement de la zone de El-Milia (wilaya de Jijel)</p>	 <p>Les échantillons de sol prélevés sur 3 sites</p>

1.3. Présentation générale de région d'El-Hamma

Le prélèvement fut extrait sur un champ privé de la commune d'El-Hamma de la wilaya de Khenchela. Le (Tableau3) apporte les informations géographiques de cette commune.

Tableau 3. Informations géographiques concernant la ville d'**El-Hamma** (Site 4).

Coordonnées géographiques d'El-Hamma	L'altitude : 35.4636 , Longitude : 7.08262 35° 27'49Nord,7°4'57°Est
Altitude d'El-Hamma	999m
El-Hamma d'El-Hamma	Climat semi solide-aride sec et froid (classification de Koppen : BSk).
	
La zone de prélèvement de la zone El-Hamma (wilaya de Khenchela).	Les échantillons de sol prélevés sur 3 sites.

2. Le Poids sec des plantes

Après séparation des racines de la partie aérienne des plantes (**Photographie 2**), prélevée de la zone une El-Milia (Wilaya de Jijel) et la zone deux d'El-Hamma (Wilaya de Khenchela), les sols rhizosphériques ont été récupérés puis stockés à -20°C. Les poids secs des différentes parties de la plante ont été déterminés après séchage à l'étuve de type (Memment) à 70°C pendant 48h.

**Photographie 2.** Les plantes (Partie aérienne et partie racinaire) avant le séchage.

3. Étude des caractères physico-chimique du sol

3.1. Analyse physique

3.1.1. Humidité

Des creusets contenant notre échantillon de sol prélevé de la zone une de la wilaya de Jijel et la zone deux de la wilaya de Khenchela a été pesé, puis placé dans une étuve à 105 °C pendant 48 heures pour sécher et ensuite repesé (Petard, 1993).

La teneur en eau est déterminée par gravimétrie après séchage à une température maximale de 105°C. Cette température, maintenue pendant une période de temps contrôlée, est suffisamment élevée pour éliminer les formes "libres" de l'eau et suffisamment faible pour ne pas provoquer une perte importante de matière organique et des sels instables par volatilisation. La répétabilité et la reproductibilité sont satisfaisantes dans la majorité des sols si les procédures sont rigoureusement respectées selon (Pansu et Gautheyrou, 2006).

Les résultats des taux d'humidité sont donc déterminés selon l'équation suivante :

$$\text{L'humidité (\%)} = (P1-P2) \times 100 / (P1-P3)$$

- **P1** : Poids initial de l'échantillon.
- **P2** : Poids final de l'échantillon.
- **P3** : Poids du creuset vide.

3.1.2. Granulométrie

Mettre d'un échantillon du sol prélevé de la zone El-Milia et la zone d'El-Hamma dans une éprouvette graduée (**Photographie 3**). Ajouter d'eau jusqu'au 2/3. Ensuite laisser sédimenter quelques jours afin de laisser apparaître les strates permettant la mesure des différents éléments composants l'échantillon de terre. L'analyse granulométrique des différentes fractions, classées selon le triangle textural (Jamagne, 1967) (Figure 10), permet de déterminer les classes des différentes fractions des sols étudiés.



Photographie 3. Test de sédimentation.

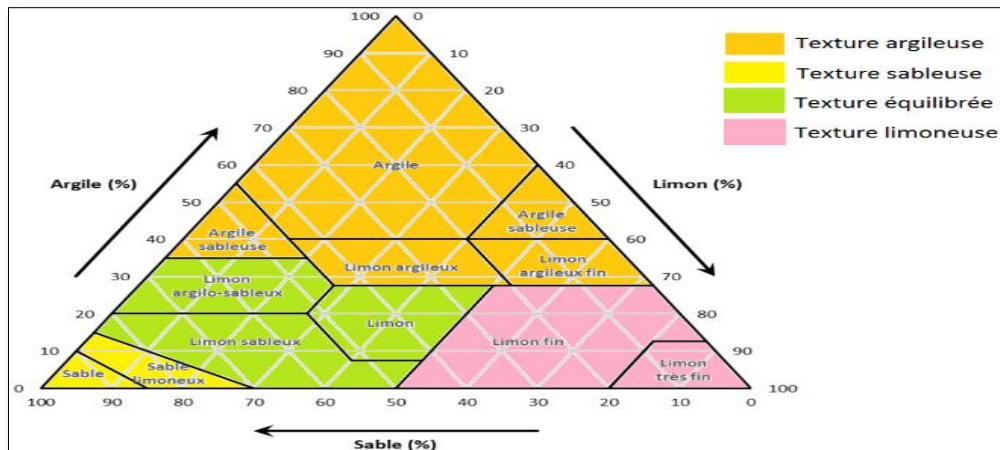


Figure 10. Triangle des textures du sol Test de sédimentation (Site 5).

3.2. Analyse chimique

3.2.1 pH du sol

➤ pH eau

Mise d'un échantillon de sol dans un bécher étiqueté. Ajout d'eau en proportion de 5 ml pour 1 g. Ensuite passé à l'agitateur de type (Nahita Blue) pendant 30 secondes et laissé reposer durant une heure. Le pH de l'eau fut effectué à l'aide d'un pH-mètre de type (Ph 211 Microprocessor ph meter).

➤ pH KCl

5 volumes de KCl 1M ont été ajoutés à 1 g de sol prélevé de la zone El-Milia et El-Hamma, ensuite, le mélange secoué est laissé reposer pendant 1 heure. La lecture du pH se fait à l'aide d'un pH mètre. Entre chaque mesure, l'électrode est rincée avec de l'eau distillée (Petard, 1993).

4. la préparation de la solution mère et les dilutions

4.1. La préparation de la solution mère du sol

A partir de chaque échantillon de sol de deux plantes prélevées des deux sites de prélèvement, destinées à l'analyse microbiologique. Nous avons mis en suspension le sol rhizosphérique 1 g à reformuler dans un tube Falcon de 50ml contenant de tampon PBS stérile (**Annexe 1**). Le tube est ensuite agité à l'aide d'un vortex de type (Zx₃) pendant deux minutes. Le contenu représente la solution mère (**Photographie 4**).



Photographie 4. Solution mère du sol.

4.2. Préparation des dilutions

Dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile (**Annexe 1**), 1 ml de la solution mère est ajouté, ce qui représente la dilution 10^{-1} , 1 ml de cette dilution est mélangé à 9ml d'eau physiologique stérile, ce qui correspond à la dilution 10^{-2} , On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-5} (**Photographie 5**).



Photographie 5. Les dilutions de la solution mère du sol.

5. Isolement et purification des isolats bactériennes

Le milieu utilisé pour l'isolement et la purification des bactéries est la gélose nutritive (GN). (**Annexe 1**).

5.1. Ensemencement

Un ensemencement en surface est réalisé. Un volume de 100 μ l de chaque dilution est dispersé dans deux boîtes de Pétri, coulé avec le milieu GN. Après ensemencement, les boîtes ont été incubé à 28°C pendant 48h.

5.2. Purification des isolats bactériens

Après isolement des isolats, nous avons procédé à la purification, c'est une étape très importante et très délicate, qui demande beaucoup de temps, puisqu'il s'agit d'un prélèvement qui abrite des milliers de microorganismes, et c'est de la pureté des cultures que va dépendre notre expérimentation. Après le premier ensemencement sur boîte de Pétri, différentes colonies sont obtenues. Chaque colonie d'aspect différent est ensemencée à part. Les boîtes ensemencées sont incubées à 24h à 28°C. La purification des isolats se fait par des repiquages successifs par la méthode des trois quadrants en milieu solide (GN) jusqu'à l'obtention au sein d'une boîte de Pétri de colonies identiques par l'aspect et la couleur.

5.3. Conservation des isolats

Les isolats obtenus sont conservés dans des tubes contenant un milieu GN incliné (Les isolats sont ensemencés sur la pente des tubes par la méthode des stries), puis incubés à 28 °C pendant 24 heures. Les tubes dans lesquels il y a eu une croissance sont conservés à 4°C.

6. Identification des isolats bactériens

L'identification des isolats bactériens a été basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques.

6.1 Caractérisation Morphologiques des isolats

6.1.1. Caractérisation macroscopique

L'aspect des colonies est observé après culture pendant 24 heures à 28 °C sur le milieu GN. L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. L'étude macroscopique a été réalisée en tenant compte de : La forme des colonies, la taille, relief, la couleur, le contour et la surface....

6.1.2. Caractérisation microscopique

Une technique de coloration utilisée pour observer la morphologie cellulaire bactérienne au microscope optique :

6.1.2.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram (**Annexe5**) permet de vérifier la pureté de la culture et de classer les bactéries en deux grands groupes : bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif.

6.2. Caractérisation Biochimique des isolats

6.2.1. Production de pigments

6.2.1.1. Détection de pyoverdine

La production de la pyoverdine a été recherchée sur milieu solide « King B » (**Annexe1**) favorisant la production et la détection de ce sidérophore grâce au sulfate de magnésium et au phosphate bi potassique (King *et al.*, 1954). L'incubation a été faite à 28°C pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) à 365 nm.

6.2.1.2. Détection de pyocyanine

Afin de mettre en évidence la production de pyocyanine, les isolats ont été cultivées sur milieu solide « King A » (**Annexe1**) (King *et al.*, 1954) à 28°C pendant 24 h. Le développement du pigment fluorescent a été révélé sous lumière ultraviolette (UV) de type (VILBER LOURMAT) à 365 nm.

6.3. Etude des enzymes respiratoires

6.3.1. Test de catalase

Sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes). La présence d'une catalase est révélée par l'apparition immédiate de bulles de gaz qui correspondent à l'oxygène dégagé.

6.3.2. Test d'oxydase

Ce test se réalise à l'aide d'une lame sur laquelle déposée des disques d'oxydase sur lesquels une colonie pure à l'aide d'une pipette pasteur est déposée. Le résultat positif se manifeste par l'apparence de la couleur rose-violet, si le disque reste incolore, il s'agit d'une réaction oxydase négative.

6.3.3. Nitrate réductase

Certaines bactéries ont la capacité de réduire le Nitrate en Nitrite selon la réaction suivante :



Tandis que d'autres peuvent poursuivre cette réaction jusqu'au stade d'azote gazeux :



La première et la dernière réaction sont respectivement catalysées par le nitrate et le nitrite réductase. La mise en évidence du nitrate réductase se base sur la recherche des nitrites formés en fin de réaction en utilisant les réactifs NR1 et NR2.

Après ensemencement et incubation pendant 24 heures à 37°C d'un tube contenant du bouillon nitraté, on rajoute 4 gouttes du réactif NR1 et 4 gouttes du réactif NR2, puis on agite bien le tube. Les résultats probables seront les suivants :

- ✓ Apparition d'une couleur rouge : nitrate réductase positive (**NR+**).
- ✓ La couleur du milieu ne change pas : dans ce cas on rajoute un peu de zinc (réducteur de nitrates) et on agite :

-Si le milieu devient rose ou rouge, donc il y'a présence des nitrates dans le milieu, ces derniers n'ont pas été réduits par la bactérie ; donc cette dernière est nitrate réductase négative (**NR-**).

-Si le milieu reste incolore, donc il ne reste plus de nitrate dans le milieu ; dans ce cas la bactérie les a réduits au-delà du stade nitrite atteignant le stade azote gazeux donc nitrate réductase positive (**NR+**).

6.4. Recherche de l'indole

La recherche d'indole est effectuée sur milieu riche en tryptophane et exempt de indole préformé (urée-indole). L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs.

On ensemencé une colonie pure à un tube contenant le milieu urée-indole puis incubé à 30°C pendant 24 heures. On rajoute 5 gouttes du réactif de Kovacs après l'incubation , puis laisser le réactif remonter en surface . Le résultat est immédiat :

- Indole + : anneau rouge en surface.
- Indole - : anneau brunâtre (teinte originelle du réactif).

7. Métabolisme des glucides

7.1. Etude de la fermentation du mannitol

La dégradation du mannitol conduit à la formation de fructose dont l'attaque aboutit à des acides à chaînes très courtes (acide acétique, acide formique). Le milieu utilisé est le milieu Mannitol-Mobilité (**Annexe 1**), aussi utilisé pour l'étude de la mobilité des isolats.

Les isolats bactériens sont ensemencés dans le milieu Mannitol-Mobilité en tube par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur scellée chargée de culture en milieu solide ou liquide ; incubé à 37°C pendant 24 heures, puis on observe les résultats :

- Mannitol positive : le milieu vire du rouge au jaune.
- Mannitol négative : le milieu reste rouge.
- Mobilité positive : diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu.
- Mobilité négative : les bactéries croissent uniquement le long de la piqure d'ensemencement.

7.2. Recherche de la β -galactosidase (ONPG)

Préparer une suspension bactérienne dense de la souche bactérienne voulue étudier dans 0,5 ml d'eau physiologique stérile, y ajouté un disque d'ONPG. Incuber à 37°C pendant 24 heures. La lecture se fait après 15min, 30 min, 1 heure, 6 heures, 24 heures.

- ONPG+ : la suspension se colore en jaune citron.
- ONPG- : la couleur de la suspension ne change pas (incolore).

8. Recherche des enzymes d'intérêt agricole

8.1. Activités enzymatiques

8.1.1. Production d'Amylase

Ce test est réalisé en cultivant les isolats bactériens sur milieu gélose nutritive contenant 1% d'amidon soluble (**Annexe 2**). Les boites sont incubées à 45°C pendant 48h.

Après incubation, le milieu gélosé est recouvert d'une solution de lugol (**Annexe 4**), pendant 30 secondes suivie d'un rinçage avec de l'eau distillée. L'eau iodée contenant l'iode se complexe avec l'amidon présent dans le milieu et donne un précipité bleu sombre. La présence d'une activité amylolytique se traduit par l'apparition d'une zone claire autour des colonies (absence de coloration autour des colonies). A l'inverse, un résultat négatif se traduit par une couleur brune autour de la culture (Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun) (De Vos *et al.*, 2009).

8.1.2. Détermination de l'activité estérasique et lipasique

Ces activités sont recherchées sur le milieu de culture décrit par Sierra (1957) qui contient en g/l : peptone (10) ; NaCl (5) ; CaCl 2H₂O (0.1) ; Agar (18), le Tween 80 (1%, v/v) est ajouté pour révéler l'activité estérasique, alors que le Tween 20 est utilisés pour mettre en évidence l'activité lipolytique. Le pH est ajusté à 7,4 (Carrim *et al.*, 2006). Après ensemencement, les boites sont incubées à 30C° /48h. La présence d'une activité est traduite par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

9. Mesure d'activité des PGPRs

9.1. Dosage de l'acide Indole acétique (AIA)

Les bactéries sont mises en culture pendant 48h dans le milieu LB liquide (**Annexe1**). Contenant 0,5g/l du tryptophane, la croissance est assurée à une température de 28 °C sous agitation et en l'obscurité totale. Après croissance, les cultures de différentes bactéries sont centrifugées avec une centrifugeuse de type SiGmA a 14000 t pendant 5 minutes pour récupérer le surnageant.

Après récupération du surnageant ,1ml de celui-ci est mélangé avec 1ml du réactif salkowski déjà préparé (**Annexe3**), les préparations sont ensuite mises à température ambiante a l'obscurité pendant 20 minutes. L'absorbance de la couleur rose résultante qui indique la production de l'AIA a été lue à 530nm avec un spectrophotomètre de type unico 1200 spectrophotometer (Gravel, 2007).

9.2. Production de sidérophores

La production des sidérophore est effectuée sur milieu King B solideensemencé par un spot de 2 µl de la culture bactérienne et incubé à 30°C/48h. Après croissance, 15 ml de la gélose au CAS(**Annexe1**) sont coulés sur la culture bactérienne. Après contact de quelques heures, un changement de couleur du bleu à l'orange apparaît autour de la colonie productrice des sidérophores. Le changement de couleur est dû au transfert des ions ferriques du CAS vers les sidérophores. Le calcul du rapport (diamètre du halo/ le diamètre de la colonie bactérienne) permet de comparer les différences de production entre les souches bactériennes. L'examen visuel permet de s'assurer de la capacité des souches à produire des sidérophores et le calcul du rapport permet de comparer les différences de production entre les souches étudiée.



Figure 11. Détection des sidérophores sécrétés par un microorganisme cultivé sur milieu CAS

Partie III

Résultats et Discussion

1. Le poids sec de la partie aérienne et racinaire des plantes

Les parties aériennes et racinaires des plantes d'oignon des deux régions après le séchage. (Photographie 6).



Photographie 6. Les plantes après le séchage

➤ Région de Khenchela

Les poids secs des parties aériennes et racinaire des plantes d'oignon présentés dans le (Tableau 4). et les résultats traduits par l'histogramme (Figure 12).

Tableau 4. Le poids sec de la parties aériennes et racinaire des plantes d'oignon présentés dans la région de Khenchela.

Les plantes d'oignon	Le poids sec de plante (g)	
	Aérien	Racinaire
Site 1	1.161 g	1.146 g
Site 2	1.433 g	1.195 g
Site 3	2.825 g	2.105 g

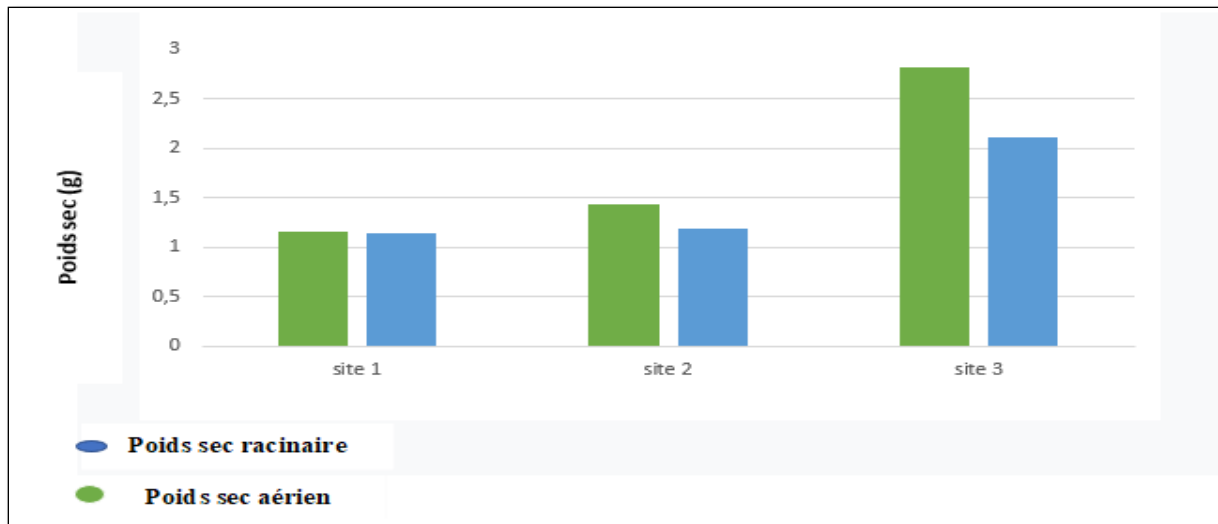


Figure12.La variation du poid sec de la partie aérien et la partie racinaire des plantes d'oignon dans différentes variétés de Khenchela.

➤ Région Jijel

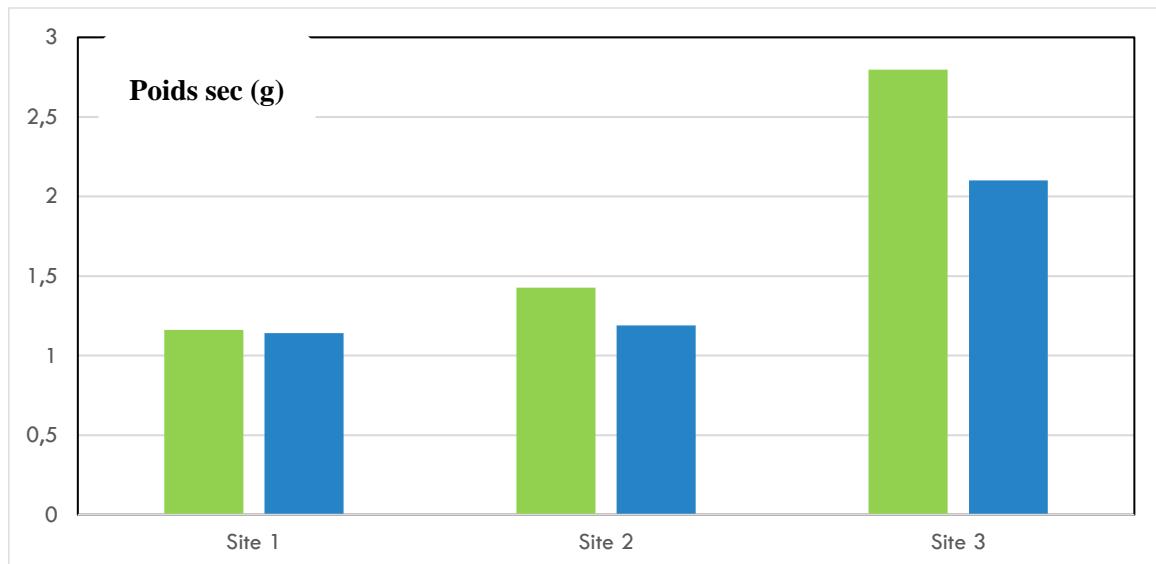
Les poids sec des parties aériennes et racinaire des plantes de l'oignon, présentés dans le (Tableau 5). Et les résultats traduits par l'histogramme (Figure13).

Tableau 5. Le poid sec de la parties aériennes et racinaires des plantes d'oignon présentés dans la région de Jijel.

Les plantes d'oignon	Le poid sec de plante (g)	
	Aérien	Racinaire
Site 1	1.161 g	1.141 g
Site 2	1.428 g	1.189 g
Site 3	2.798 g	2.101 g

Ces résultats montrent qu'il n'existe pas une différence significative entre les variétés de la région de Khenchela et la région de Jijel concernant la biomasse aérienne et racinaire après le séchage de chaque plante d'oignon.

Plusieurs études ont montré que le poids sec des plantes est un bon indicateur de l'efficacité des PGPRs et contient un effet positif dans l'augmentation du rendement agricole par l'absorption des nutriments par les plantes pollinisées, avec cette efficacité est une épreuve due à la production des PGPRs régulatrices des plantes à la surface des racines, qui stimulent la croissance des racines et conduisent à une meilleure absorption de l'eau et des nutriments (Lifshitz *et al.*,1987).



- Poid sec aérien
- Poid sec racinaire

Figure13. La variation du poids sec de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes d'oignon dans les différentes variétés de Jijel.

2. Tests physico-chimiques du sol

2.1. Humidité

L'humidité du sol détermine principalement la variation des propriétés des différents matériaux du sol (Mellal,2019).

Les sols étudiés avaient une teneur en humidité comprise entre 17,98 et 22,41. le test d'humidité présenté dans la (**Photographie7**), les résultats sont résumés dans le (**Tableau 6**).

- **E1** : la moyenne de trois échantillons de la région d'El-Milia.
- **E2** : la moyenne de trois échantillons de la région d'El-Hamma.



Photographie 7. Test d'humidité selon la méthode gravimétrique.

Tableau6. Les valeurs de l'humidité des deux échantillons du sol.

Echantillon	E1	E2
Humidité (%)	17.98 %	22.41 %

La teneur en humidité du sol est très variable, dans l'espace et dans le temps, en raison des hétérogénéités des propriétés du sol et de la topographie ainsi que de la distribution des précipitations et de la transpiration (Juglea, 2011).

La différence de teneur en humidité entre les deux échantillons de sol est principalement due à la zone d'échantillonnage. L'échantillon (**E2**) a une teneur élevée en humidité de 22,41%.

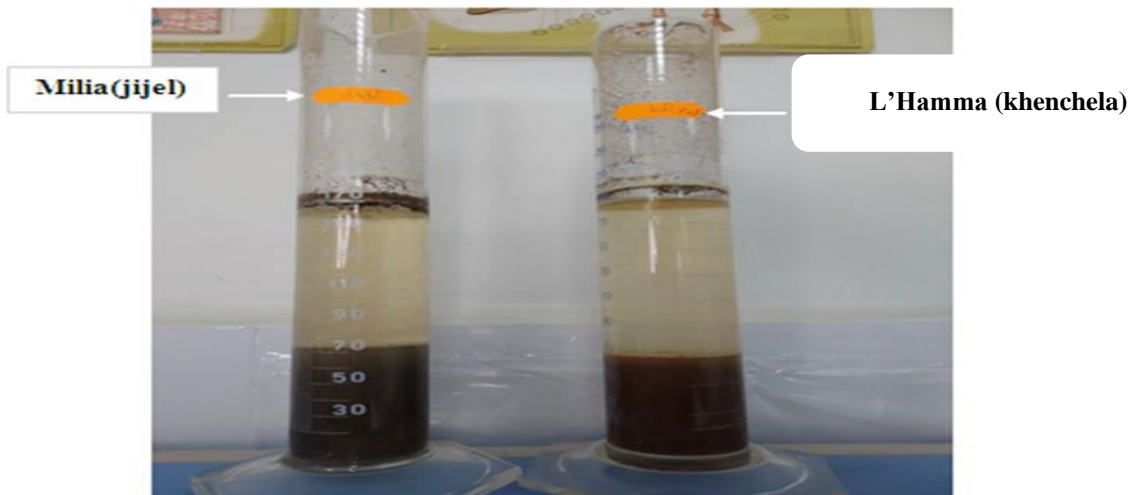
L'échantillon (**E2**) est un sol agricole plus riche en matière organique et en eau que l'échantillon(**E1**), avec une teneur en humidité de 17,98 %.

D'après nos résultats, l'échantillon(**E2**) c'est avéré avoir une teneur élevée en humidité et selon (Matthew et Beltin ,2003), ils ont conclu que les échantillons avec 1% d'humidité sont des sols sableux, 7% des sols argileux et des sols organiques et le facteur d'humidité a un effet positif sur la plante en contribuant à une productivité plus élevée, et il joue également un rôle dans l'augmentation de la diversité bactérienne, en raison de la disponibilité de la matière organique dans les sols à plus forte teneur en humidité. Ainsi l'augmentation du nombre des PGPR_s dans les racines favorise la croissance des plantes.

2.2. Granulométrie

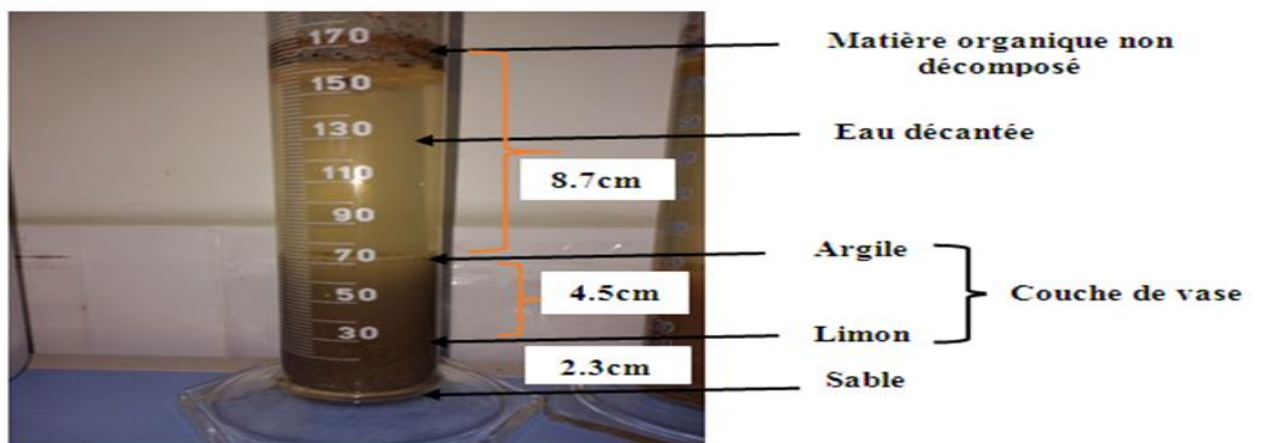
Le test de sédimentation permet de déterminer la proportion de particules solides du sol. La distinction entre (argile, limon et le sable) On finit par obtenir différentes strates qui correspondent aux différentes particules du sol : le sable se dépose dans le fond, le limon se situe au milieu et l'argile en haut. La matière organique flotte à la surface de l'eau.se fait uniquement sur base de la taille des particules (Jamagne ,1967).

Les résultats des analyses granulométriques révèlent un pourcentage d'argile et de limon supérieurs à 50%. D'après le triangle de texture (FAQ) qui permet de déterminer la classe texturale des sols (**Photographie 8**).

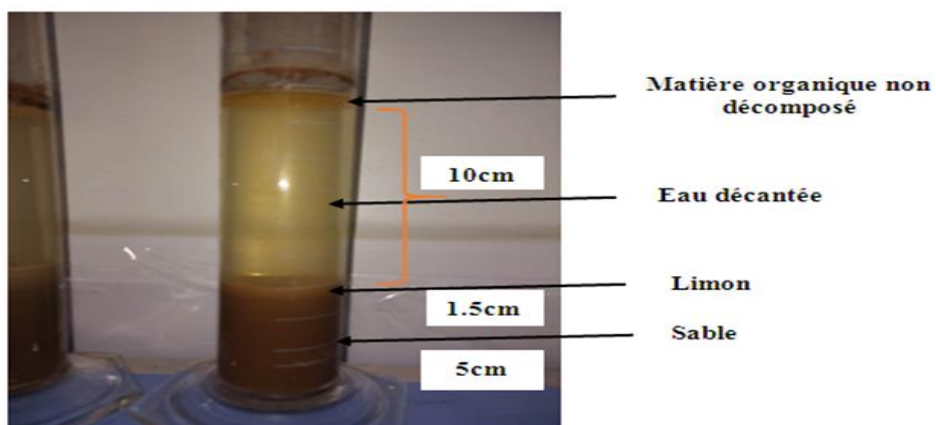


Photographie 8. Résultats de test de sédimentation.

Les zones d'études présentent : sol limon argileux pour la région d'El-Milia (**Photographie 9**), sol sable limoneux pour la région de l'Hamma (**Photographie 10**).



Photographie 9. L'analyse de la texture du sol de Milia (Jijel)



Photographie 10. L'analyse de la texture du sol de l'Hamma (Khenchela).

Nos résultats ont montré que le sol argileux (sol de la région d'El-Milia) joue un rôle essentiel dans l'augmentation de la croissance des plantes, en raison de sa rétention d'éléments minéraux tels que le potassium et le magnésium, et de sa rétention d'humidité (Jean *et al.*, 2017). Ce dernier a affecté la diversité bactérienne ou bactéries présentes dans les racines, et ainsi l'assimilation de ces minéraux dans l'alimentation des PGPR_s contribue à l'amélioration de la productivité, c'est-à-dire augmente le rendement agricole des PGPR_s.

Le sol sablonneux (le sol de la région d'EL'Hamma) est peu fertile et a une faible rétention d'eau. Pourtant, le sable présente des atouts indéniables dans la culture de certains légumes et plantes terrestres. Mais cultiver un sol composé uniquement de sable peut devenir un obstacle à la Croissance des plantes.

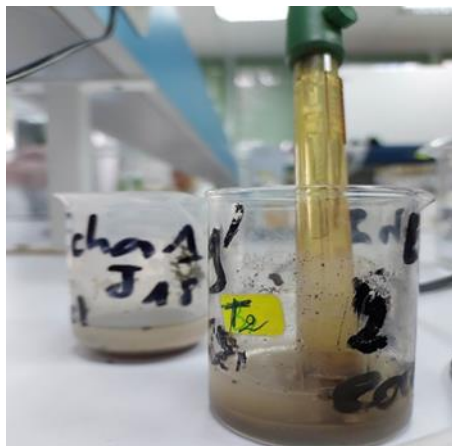
2.3. Analyse chimique

2.3.1. La mesure du pH

La mesure du pH (potentiel hydrique) d'un sol permet de définir son état d'acidité ou d'alcalinité (Aqua Portail, 2018).

Pour le sol et les plantes qui s'y développent, le pH a beaucoup d'importance, il influe notamment sur l'absorption des nutriments par les racines.

Dans cette étude le pH du sol a été mesuré de deux façons différentes : le pH à eau et le pH au KCL (**Photographie 11**).



Photographie 11. La mesure du pH des 2 échantillons.

- pH a eau : pour nos échantillons on note de valeur 7.40 pour la région d'El-Milia, et de valeur 7.59 pour la région d'EL'Hamma sont Légèrement alcalins. Cette différence de valeur est due aux changements climatiques et aux conditions environnementales. Les sols alcalins sont caractérisés par la présence de carbonates.

- pH au KCl : pour nos échantillons on note de valeur 7.04 pour la région d'El-Milia et de valeur 7.29 pour la région d'EL'Hamma Le pH au KCl indique une valeur inférieure à celle du pH à eau. En Effet, le KCl ajouté à la suspension de sol permet la libération des protons adsorbés sur les argiles ce qui conduit à la diminution des valeurs du pH (Zahran, 1999).

L'alcalinité du sol peut être le résultat de processus naturels d'altération ou de conditions créés par l'homme. L'altération des silicates, de l'aluminium et des composés contenant des carbonates tels que Na^+ , Mg_2^+ , K^+ et Ca_2^+ est associée à l'hydrolyse des silicates et à la libération subséquente d' OH^- , ce qui augmente le pH du sol. Les sols alcalins sont caractérisés par de fortes concentrations de carbonates (CO_3^{2-}) et de bicarbonates (HCO_3^-). (Bailey, 1996).

Le pH plus élevé des sols entraîne un déséquilibre des éléments nutritifs dans la production agricole en affectant la biodisponibilité du phosphore, du fer, du cuivre, du bore et du zinc (Chen *et al.*, 2011). Il y a des effets majeurs du pH sur les plantes qui sont en grande partie dus aux ions carbonate plutôt qu'aux ions hydroxyde (Whipker *et al.*, 1996).

La disponibilité des éléments nutritifs pour l'absorption par les plantes est liée à la chimie du sol, qui est principalement influencée par le pH et le stress d'alcalinité. (Lynch et Clair, 2004). La plupart des plantes soumises à un stress d'alcalinité manifestent un retard de croissance en raison d'une mauvaise absorption des nutriments et d'une chlorose des feuilles due à une absorption élevée et faible de Na^+ et Fe^+ , respectivement (Zhang *et al.*, 2012 ; Singh *et al.*, 2018). Des niveaux élevés de Na^+ interfèrent avec la fermeture des stomates, ce qui aggrave le problème de la perte d'eau pour les plantes (Bernstein, 1975). Les bicarbonates réduisent l'absorption de Fe et augmentent parfois la précipitation interne de Fe (Norvell et Adams, 2006), ce qui affecte la synthèse de la chlorophylle et conduit donc à la chlorose. La chlorose, qui est liée à une diminution de la photosynthèse, a un impact ultime sur la croissance des plantes.

Le stress d'alcalinité provoque une inhibition de la croissance des racines en raison de fortes concentrations de HCO_3^- dans la solution du sol, bien que cela varie selon les espèces de cultures. La suppression de la croissance des racines par HCO_3^- est associée à une inhibition de la respiration par les racines (Alhendawi *et al.*, 1997).

Les bactéries capables de maintenir leur pH en dessous de 9. Cette tolérance à l'alcalinité est obtenue grâce à un système de transfert de protons à membrane cytoplasmique (Torbaghan *et al.*, 2017). la famille de rhizobactéries *Bacillaceae* est parmi les mieux décrites à ce titre et

possède une large gamme de plantes ; le groupe des PGPR_s se compose de 15 genres qui incluent *Alkalibacillus*, *Bacillus* et *Haloalkalibacillus*, entre autres (Radhakrishnan *et al.*, 2017 ; Torbaghan *et al.*, 2017). L'utilisation de rhizobactéries tolérantes à l'alcalinité, capables de produire de l'acide indole acétique (IAA) et du 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC), présente l'avantage de réduire la production d'éthylène et d'augmenter les niveaux de K⁺. Cela augmente l'humidité relative des plantes et aide à maintenir l'homéostasie des ions (Soleimani *et al.*, 2018), Plusieurs autres mécanismes sont également rapportés par lesquels les PGPR_s atténue le stress abiotique chez les plantes, comme en modulant les hormones, les enzymes, la photosynthèse, la sécrétion d'acides organiques et de métabolites secondaires (Bisht *et al.*, 2019 ; Dixit *et al.*, 2020). De plus, les rhizobactéries sont impliquées dans le cycle des nutriments clés tels que N et C, ce qui assure des réserves à long terme de nutriments dans le sol.

3. Identification des isolats

L'analyse des échantillons du sol d'Oignon (de deux zones) a permis d'obtenir respectivement 8 isolats sur milieu GN à 28°C. Le nombre et les noms des isolats obtenus à partir de chaque site sont illustrés dans le (**Tableau 7**). L'identification des isolats a porté sur l'étude de leurs caractères morphologiques et biochimiques.

Tableau 7. Le nombre et la nomenclature des différents isolats

Sites	Nombre d'isolats	Nomenclatures des isolats
El-Milia	5	ISJ
El-Hamma	3	ISK
Total	8	

3.1. Caractérisation morphologique des isolats

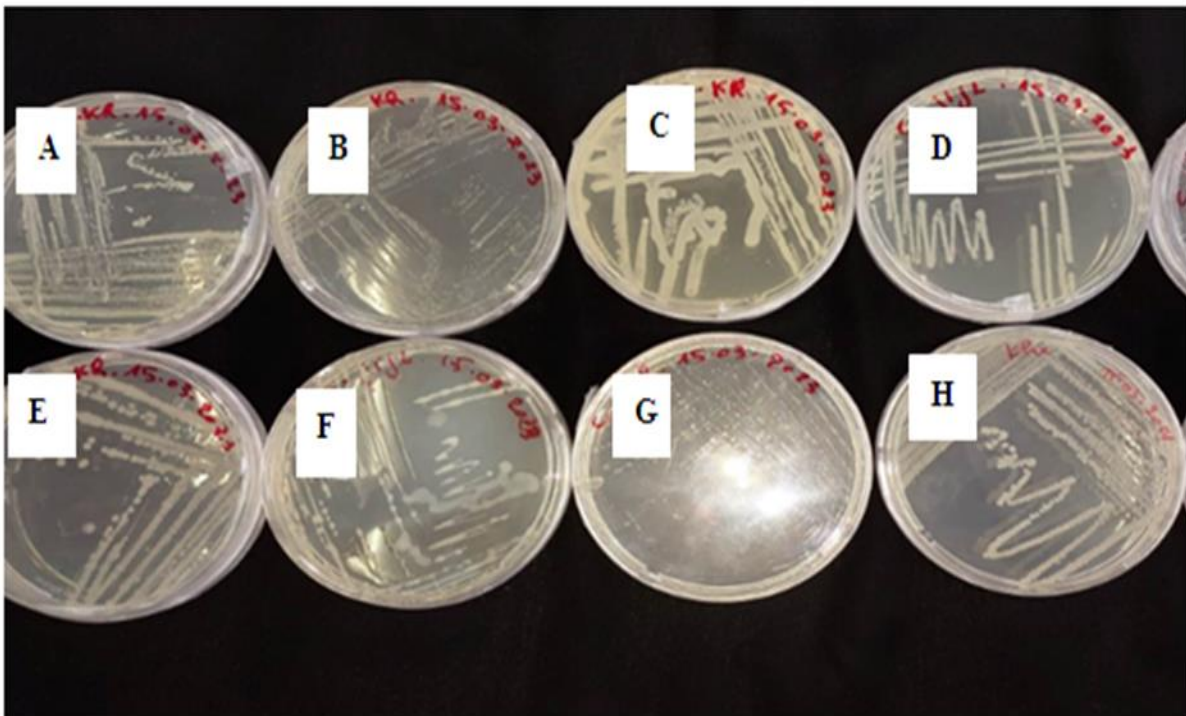
3.1.1. Caractérisation Macroscopique

Les critères morphologiques ou culturels des 8 isolats bactériens isolées sur milieu gélose nutritive (GN) sont présentés dans le (**Tableau 8**).

Tableau8. Résultats de l'examen macroscopique des isolats bactériens.

Isolats	Forme	Relief	Taille	Couleur	Coteur	Surface
ISJ1	Ronde	Bombé	2-3 mm	Blanc Jaunâtre	Régulier	Lisse Brillante
ISJ2	Ronde	Convexe	3-4 mm	Blanc Jaunâtre	Régulier	Lisse
ISJ3	Irrégulier	Légèrement Convexe	1 mm	Crème	Irrégulier	Rugueuse
ISJ4	Ronde	Bombé	1-2 mm	Crème	Régulier	Lisse
ISJ5	Irrégulier	Convexe	2-3 mm	Crème	Irrégulier	Lisse Brillante
ISK6	Ronde	Bombé	1-2 mm	Crème	Régulier	Lisse
ISK7	Ronde	Bombé	1 mm	Blanc Jaunâtre	Régulier	Lisse
ISK8	Irrégulier	Convexe	2-3 mm	Crème	Irrégulier	Lisse Brillante

Les aspects des colonies sur les milieux GN varient entre les différents isolats. Le type de Colonies dominantes est caractérisé par des aspects lisses réguliers et crémeux (**Photographie12**), le type de colonies non dominant est caractérisé par des aspects régue et blanc jaunâtre.



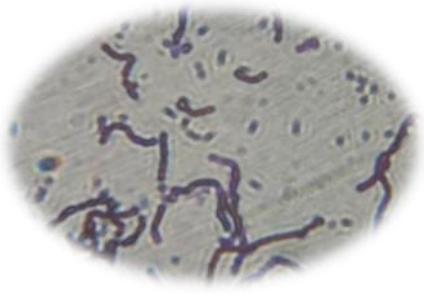
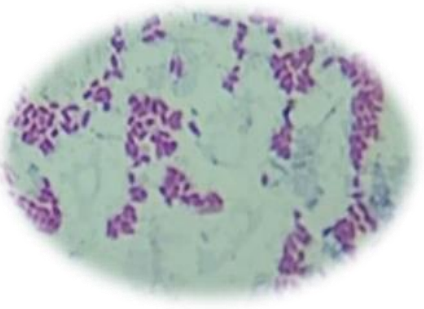

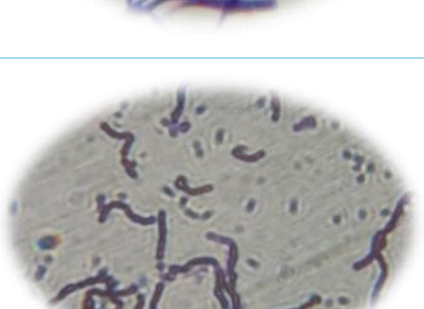
Photographie 12. Aspects des colonies obtenues sur milieu de culture GN (A : Isolats 1, B : Isolats 2, C : Isolats 3, D : Isolats 4, E : Isolats 5, F : Isolats 6, G : Isolats 7, H : Isolats 8).

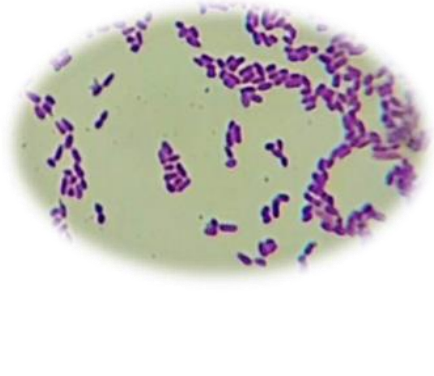
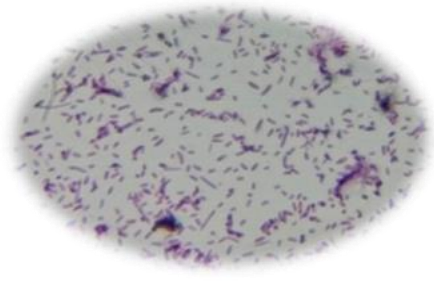
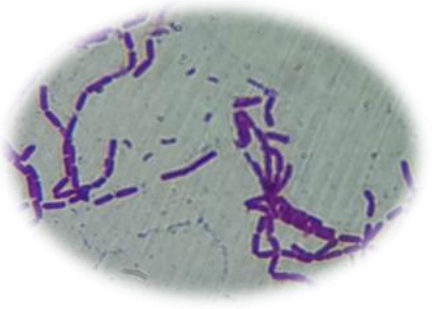
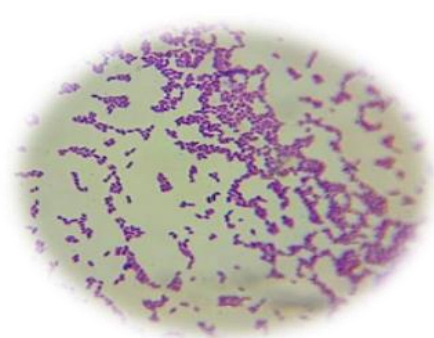
3.1.2. Caractérisation microscopique

3.1.2.1. Coloration de Gram et mobilité

La coloration de gram nous a permis de différencier les bactéries d'après leur forme (Bacille, coccobacille, coque), et leur affinité pour les colorants. Les bactéries à Gram positif se caractérisent par une coloration violette. Quant aux bactéries à Gram négatif, elles sont identifiées par une couleur rose. L'observation de la coloration de Gram et le test de mobilité ont permis de donner une idée sur la morphologie des cellules bactériennes, leur mobilité et la composition de leur paroi (**Tableau 9**).

Tableau9. Critères microscopiques des isolats bactériens isolés sur milieu GN.

Les isolats	Forme	Gr am	Agencement	Mobilité	Aspect microscopique
ISJ1	Bacille	+	En chaînette	Immobile	
ISJ2	Coccobacille	-	En Amas	Mobile	
ISJ3	Gros bacille	+	En chaînette	Immobile	
ISJ4	Bacille	-	En chaînette	Immobile	

ISJ5	Colibacille	-	En amas	Mobile	
ISK6	Coccobacille	-	Isolée	Mobile	
ISK7	Gros bacille	+	En chainette	Immobile	
ISK8	Coccobacille	-	En amas	Mobile	

Les résultats de la forme des bactéries à partir de l'observation microscopique sont variés 20 % sont des bacilles, 20 % des gros bacilles, 60 % des coccobacilles. Plusieurs études ont montré la présence d'un grand nombre des bactéries très variés présentant différentes formes telles que la forme bâtonnet, la forme spirale et la forme Cocci. Parmi celle-ci, les bacilles en forme de bâtonnet semblent être les plus abondants dans le sol (khan *et al.*,2016). Ce qui correspond à notre résultat. Mise à part les *Bacillus* la plupart des PGPRs sont connus peut être Gram négatif. Les bactéries à Gram négatif comme le genre *Pseudomonas* jouent un rôle très important dans l'agriculture. Ils forment une relation symbiotique avec les cultures des plantes entraînant une fixation biologique de l'azote et réduisant ainsi les besoins en engrais azoté ajoutés pendant la saison de croissance (Siczek et Lipiec., 2016).

3.2. Caractérisation biochimique

3.2.1. Test de catalase

Ce test a permis de mettre en évidence la présence de catalase, une enzyme qui catalyse la libération d'O₂ du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) selon l'équation :



Cette enzyme se trouve dans tous les organismes aérobies. Ce test est important pour l'orientation précoce dans l'identification des isolats bactériens purs (Moges,2022). Nos résultats ont montré que les isolats bactériens sont 100 % des catalases +(production de furane) (**Photographie 13**). La dégradation des bulles d'air a confirmé que les bactéries possèdent l'enzyme de la catalase et donc de pouvoir décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) ainsi qu'en oxygène (O₂).

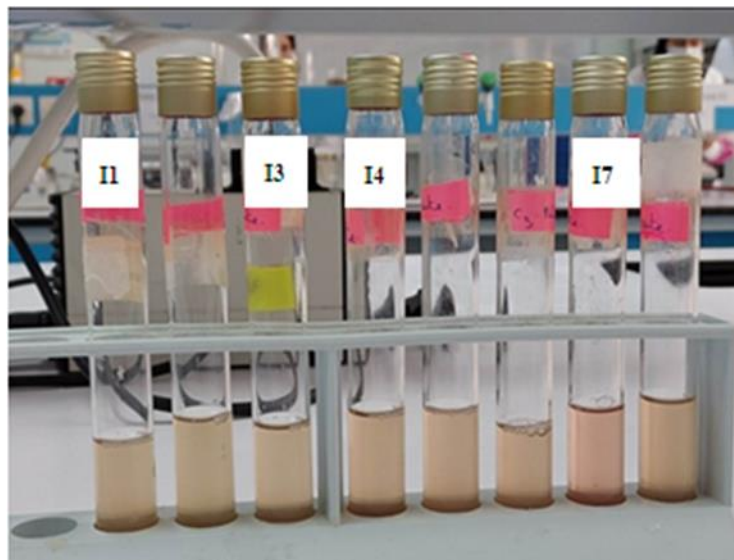


Photographie 13. Réaction de catalase positive.

La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase, y compris les PGPRs. Ainsi, les bactéries possédant cette propriété peuvent être protégées du peroxyde d'hydrogène car il est généralement toxique pour elles, c'est-à-dire celles qui ont besoin d'oxygène pour se reproduire (Lakhal, 2011). Cette caractéristique contribue donc à augmenter le taux de reproduction des bactéries à l'intérieur de la racine, ce qui contribue à améliorer la croissance des plantes.

3.2.2. Test de Nitrate réductase

Certaines bactéries possèdent une enzyme spéciale : La nitrate réductase qui catalyse la réduction des nitrates en nitrite et éventuellement en azote. (Frenry *et al.*, 2007). Nos résultats dans cette étude ont montré que les isolats bactériens sont 50 % en donnant une couleur rouge après l'addition des réactifs I et II de la nitrate réductase au milieu ce qui confirme que toutes les souches testées possèdent donc une nitrate réductase (**Photographie 14**).



Photographie 14. Mise en évidence de la réduction du nitrate en nitrite par le nitrate réductase.

Des résultats similaires étaient rapportés par (Beck et col. 1993), qui retrouve une enzyme impliquée dans le processus de fixation et transformation de l'azote atmosphérique dans les souches (Nitrate-réductase).

Des travaux précédents ont rapporté qu'un excès du nitrate dans le sol affecte la capacité de l'adsorption des rhizobactéries aux racines des plantes et inhibe leur capacité infective et effective selon (Mc Neil, 1982 ; Lucinski *et al.*, 2002). Cette capacité mesurée par l'activité de la nitrogénase existe chez 50% des souches de *Bacillus* qui sont capables de fixer l'azote atmosphérique. Selon (Guemori-Athmani *et al.*, 2000).

Dans le cadre des interactions bénéfiques il existe les interactions avec des bactéries rhizosphériques PGPR_s qui favorisent la croissance des plantes. Ces interactions permettent aux plantes de bénéficier d'avantages tel que la disponibilité de nutriment (fixation d'azote) ou la protection face à des stress ou des agents pathogènes (Wei et Zhang, 2006 ; Santoyo *et al.*, 2021). Ce test permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme du métabolisme énergétique (Guillaume, 2020).

3.2.3. Test d'oxydase

Ce test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder (en présence d'O₂) un réactif incolore par une enzyme : la phénylène diamine oxydase pour former un composé coloré en violet, l'indophénol (Bibirou, 2016).

L'activité oxydase est positive pour 50% des isolats bactériens suite à l'observation d'une teinte violette immédiate (**photographie 15**), cela indique qu'ils possèdent cette enzyme dans la chaîne respiratoire cytochromique bactérienne (Camille, 2006).



Photographie 15. Réaction d'oxydase positive.

Nos résultats peuvent être expliqués par le fait que les rhizobactéries sont des bactéries aérobies (Abdlhafid, 2011 ; Zied,2020).

Les micro-organismes aérobies qui utilisent l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et c'est cette respiration sur O₂ qui fournit le plus grand rendement énergétique après le potentiel redox élevé de l'oxygène. Il contient des cytochromes oxydases, qui sont des transporteurs d'électrons finaux qui interagissent directement avec l'oxygène (Latour et Lemanceau, 1997).

3.2.4. Production de pigments

3.2.4.1. Détection de pyoverdine

L'Observation d'une couleur jaune-vert a mis en évidence la production de pyoverdine (**Photographie 16**).

Les résultats montrent que deux isolats (**ISK6, ISK8**) ont présentés une fluorescence jaune-vert. Contre les restes des isolats sans fluorescence.

Cette fluorescence pourrait être indicatrice de l'appartenance des bactéries à l'espèce *Pseudomonas fluorescens*.



Photographie 16. Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King B » sous lumière UV.

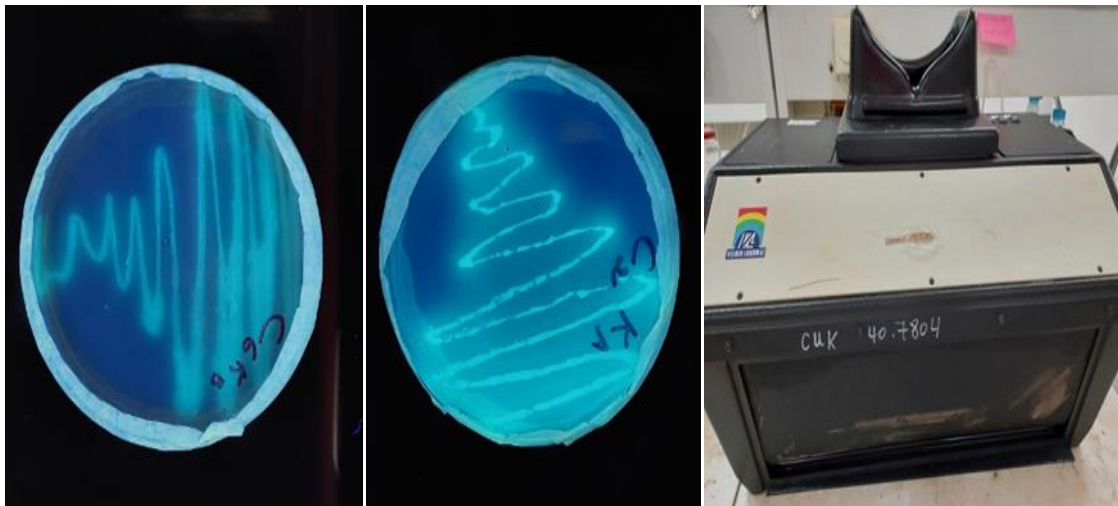
Les fluorophores de *Pseudomonas spp* sont des rhizobactéries non symbiotiques qui occupent la rhizosphère (Kloepper et Schroth, 1978). Ils appartiennent aux PGPRs, leurs capacités à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est donc remarquable (Haas et Keel, 2003). Ils sont capables de coloniser les systèmes racinaires et d'agir efficacement de manière bénéfique sur la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant des infections causées par les phytopathogènes.

Ces souches présentent un intérêt pour l'agriculture car elles améliorent la croissance et la santé des plantes. Ces effets bénéfiques sont associés à la production de métabolites secondaires (antibiotiques, acide ferrique, phytohormones) dont la formation est affectée par le métabolisme primaire. Les *Pseudomonas spp* fluorescents jouent également un rôle dans la protection de

l'environnement. Le métabolisme carboné et énergétique est en effet responsable de la dissipation des nitrates et de la dissociation des composés xénobiotiques, caractérisé par sa capacité à synthétiser des transporteurs de fer à l'état appauvri en fer appelé pyoverdine (Latour et Lemanceau, 1997), ces derniers étant des pigments jaune-vert, solubles dans l'eau et fluorescentes sous irradiation ultraviolette, les *Pseudomonas* ont un grand potentiel de colonisation des sols. En effet, depuis une dizaine d'années, de nombreuses études se sont intéressées au rôle joué par ces micro-organismes dans l'amélioration de la croissance des plantes et de la physico-chimie du sol (Judy *et al.*, 1993).

3.2.4.2. Détection de pyocyanine

L'Observation d'une couleur jaune-vert a mis en évidence la production de pyoverdine (**Photographie 17**), les résultats montrent que deux isolats (**ISJ2, ISJ5**) ont présentés une fluorescence bleu-vert, contre les restes des isolats sans fluorescence bleu-vert.



Photographie 17. Détection du pigment pyocyanine sur milieu « King A » sous lumière UV.

Nos résultats sur le milieu sélectif « King A » et qui ont montrés des bactéries fluorescentes de couleur bleu-vert peut montrer qu'il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit spécialement ce pigment (Joffin et Leyral, 1998 ; Dumas *et al.*, 2013).

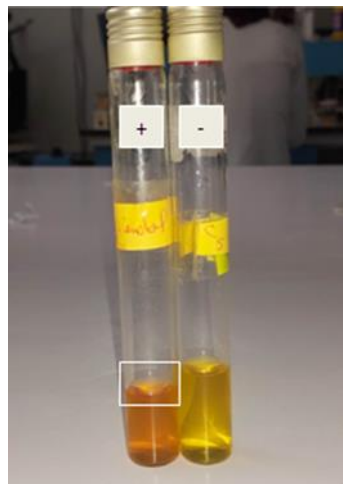
La pyocyanine est soluble dans le chloroforme, en outre, elle est toxique pour une large gamme de pathogènes contrairement à la pyoverdine (Bouras, 2014).

Certaines souches de *P. aeruginosa* perdre leurs capacités à produire le pigment puis qu'ils ont subi d'une mutation (El-Fouly *et al.*, 2014).

3.2.5. Recherche de l'indole

Certaines bactéries dégradent le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole et donne une coloration rouge en présence du réactif de Kovacs (para-diméthylaminobenzaldéhyde). La formation d'un anneau rouge correspond à une réaction positive. Par contre l'absence d'un anneau rouge signifie que la bactérie est indole négative (Lanotte *et al.*, 2016).

Nos résultats de l'étude de la recherche d'un indole des isolats bactériens sont représentés dans la (**Photographie 18**) et le (**Tableau 10**).



Photographie 18. Résultat du milieu Urée-Indole.

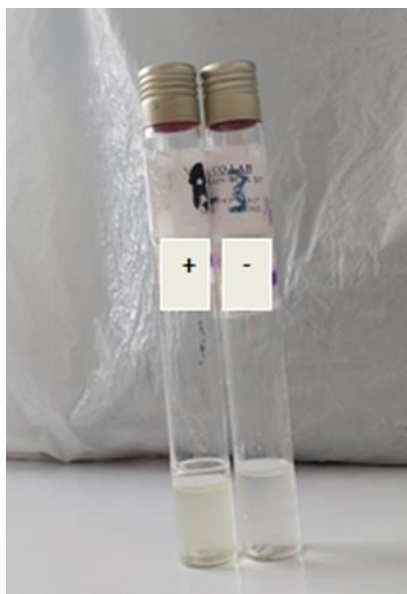
Tableau 10. Résultats de la présence d'indole.

Les isolats	ISJ1	ISJ2	ISJ3	ISJ4	ISJ5	ISK6	ISK7	ISK8
La fomentation D'indole	+	-	+	+	-	-	+	-

3.2.6. Test d'ONPG

Nos résultats de l'étude de la recherche d'une bêta-galactosidase (test d'ONPG) des isolats bactériens sont représentés dans la (**Photographie 19**) et le (**Tableau 11**).

- Test ONPG positive signifie que l'eau distillée devient jaune ce qui traduit la présence de l'enzyme β -galactosidase en fournissant à la bactérie un substrat de cette enzyme : l'Ortho nitrophénol.
- Test ONPG négative signifie que l'eau distillée reste transparente, donc la bactérie est dépourvue de la β -galactosidase.



Photographie 19. Résultats de test ONPG

Tableau 11. Résultats de la présence de l'enzyme β -galactosidase (test d'ONPG).

Les isolats	ISJ1	ISJ2	ISJ3	ISJ4	ISJ5	ISK6	ISK7	ISK8
L'enzyme β -galactosidase	-	-	+	-	-	-	+	-

Il s'agit de la recherche d'une bêta-galactosidase qui dégrade le lactose en galactose et glucose. En pratique, ce test utilise l'ortho-nitrophényl-galacto-pyranoside (ONPG) qui diffusé spontanément dans la bactérie (à la différence du lactose qui nécessite une perméase) et ce dégradé par la bêta-galactosidase en galactose et orthonitrophénol ou paranitrophénol respectivement (Lanotte *et al.*, 2016).

3.2.7. Mannitol mobilité

Le milieu mannitol mobilité permet de détecter la fermentation du mannitol et la mobilité de la bactérie à étudier (Frenry *et al.*, 2007). Nos résultats de l'étude de la fermentation du mannitol (test du mannitol mobilité) des isolats bactériens sont représentés dans la (Photographie 20) et le (Tableau12).



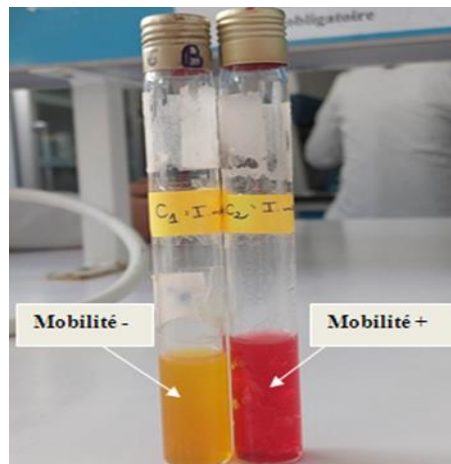
Photographie20. Résultats du test Mannitol-Mobilité

Tableau12. Résultats de la fermentation du mannitol (test du mannitol mobilité).

Les isolats	Mannitol		Mobilité	
	Pas de fermentation (rouge)	Fermentation (Jaune)	Mobile	Non mobile
ISJ1		+		-
ISJ2	-		+	
ISJ3		+		-
ISJ4		+		-
ISJ5	-		+	
ISK6	-		+	
ISK7		+		-
ISK8	-		+	

Le virage au jaune indique que le mannitol est fermenté donc la bactérie est mannitol positif, alors que si le milieu reste rouge, la bactérie est dite mannitol négatif. S'il y a une diffusion des bactéries dans la gélose, la bactérie est mobile, si la culture est uniquement au niveau de la pique d'ensemencement la bactérie n'est pas mobile (Afssaps, 2008).

Durant notre étude les isolats bactériens qui fermentent le mannitol ils l'utilisent comme source de carbone et d'énergie. Conformément à la littérature de (Nkang *et al.*,2009). Pour la mobilité, Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement. Et celles de (Marchal *et al.*,1991), une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (**Photographie 21**).



Photographie 21. Résultats de test de mobilité.

4. Activités enzymatiques

L'utilisation des bactéries productrices d'enzymes d'intérêt agricole, afin d'améliorer la disponibilité des nutriments pour la plante, a été largement étudiée par plusieurs auteurs et présente beaucoup d'avantages.

4.1. Activité estérasique et lipasique

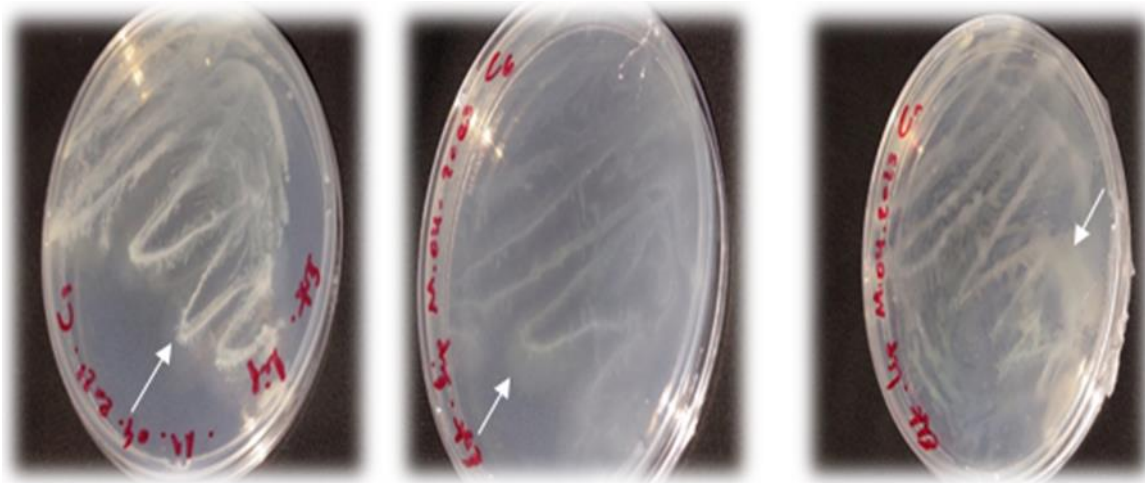
Les estérases et les lipases ont été mises en évidence dès 1901 dans des bactéries telles que *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Bacillus fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* (Fickers *et al.*, 2007).

Parmi les isolats bactériens testés, les activités estérase et lipase ont été détectées par l'apparition d'un halo clair autour des colonies des isolats bactériens suivantes (**ISJ1, ISJ3 et ISK6**). Ceci confirme que les souches produisent déjà des enzymes extracellulaires responsables de ce type d'activité.

Les résultats de cette d'activités obtenus sur les isolats montrent que La synthèse de lipases et d'esters par les bactéries testotrophes contribue à la décomposition de la matière lipidique, et

ainsi, ces bactéries peuvent participer au recyclage de la matière organique en apportant les éléments nécessaires aux plantes (**Photographie 22**).

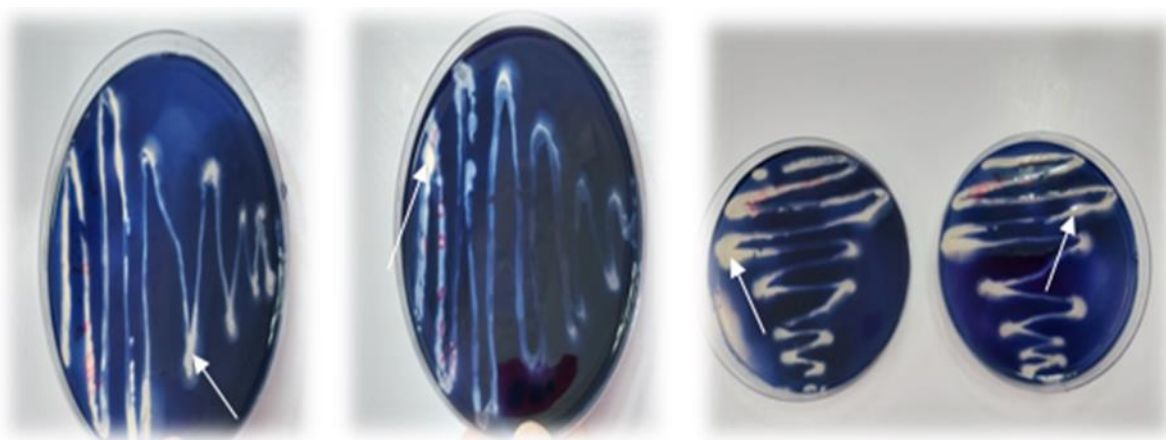
Les résultats de cette activité sont en accord avec les résultats obtenus par (Sharma *et al.*, 2001 ; Gupta, 2004 ; Fickers *et al.*, 2007), les lipases sont largement distribuées dans les bactéries. Les deux sont produits dans les bactéries Gram + (*Bacillus et Staphylococcus*) et les bactéries Gram - (*Pseudomonas*).



Photographie 22. Résultats des tests enzymatiques estérase et lipase.

4.2. Activité amylasique

Dans ce travail, nous avons constaté que tous les isolats bactériens ISJ1, ISJ2, ISJ3, ISJ4, ISJ5, ISK6, ISK7 et ISK8 sont positifs avec une zone sous-coloniale claire apparaissant (pas de coloration autour des colonies). Cela signifie que tous les isolats bactériens produisent l'amylase. (**Photographie 23**).



Photographie 23. Résultats de l'enzyme amylase.

La production d'amylase de *Pseudomonas* stimule la croissance et la protection des plantes. et Dans nos résultats, nous pouvons conclure que *Bacillus sp* est capable de dégrader l'amidon en exprimant une production élevée d'amylase (Whipps, 2001 ; Siddiqui, 2005 ; Viollet, 2010).

La synthèse d'enzymes amylases par les bactéries du sol permet la dégradation de la matière organique dans la nature en apportant les éléments minéraux dont les plantes ont besoin pour leur croissance (Shankor *et al.*, 2011) que les espèces du genre *Bacillus* sont capables de produire des métabolites ayant un effet bénéfique sur la santé des plantes, des métabolites à activité antibiotique (contre les phytopathogènes) et des enzymes Extracellulaire (amylase, chitinase, etc.).

5. Mesure d'activité des PGPRs

5.1. Dosage de l'acide Indole acétique (AIA)

L'acide indole acétique est l'un des auxines les plus physiologiquement actives, c'est un type de phytohormone connue (Malhotra et Srivastava, 2008). Il fonctionne comme un signal important dans la régulation du développement des plantes (Ryu et Patten, 2008).

Les résultats de cette activité obtenus de nos isolats bactériens sont représentés dans la (Photographie 24).



Photographie 24. Production de l'AIA par quelques isolats bactériens.

Les valeurs d'AIA produite par chaque isolat sont illustrées dans la (Figure 14).

Les résultats de notre étude ont démontré que 37.5% de nos isolats ont la capacité de produire l'auxine AIA avec des concentrations qui varient de 9.4 μ g/ml à 13,2 μ g/ml Ces résultats sont

en accords avec les travaux de (Sandhya *et al.*,2010) qui ont constaté qu'environ 80 % des bactéries rhizosphériques sont capables de produire l'AIA. Il est bien établi que le mécanisme le plus important dans la stimulation de la croissance directe des plantes par les PGPR_s est la production des régulateurs de croissance (Baca et Elmerich, 2007).

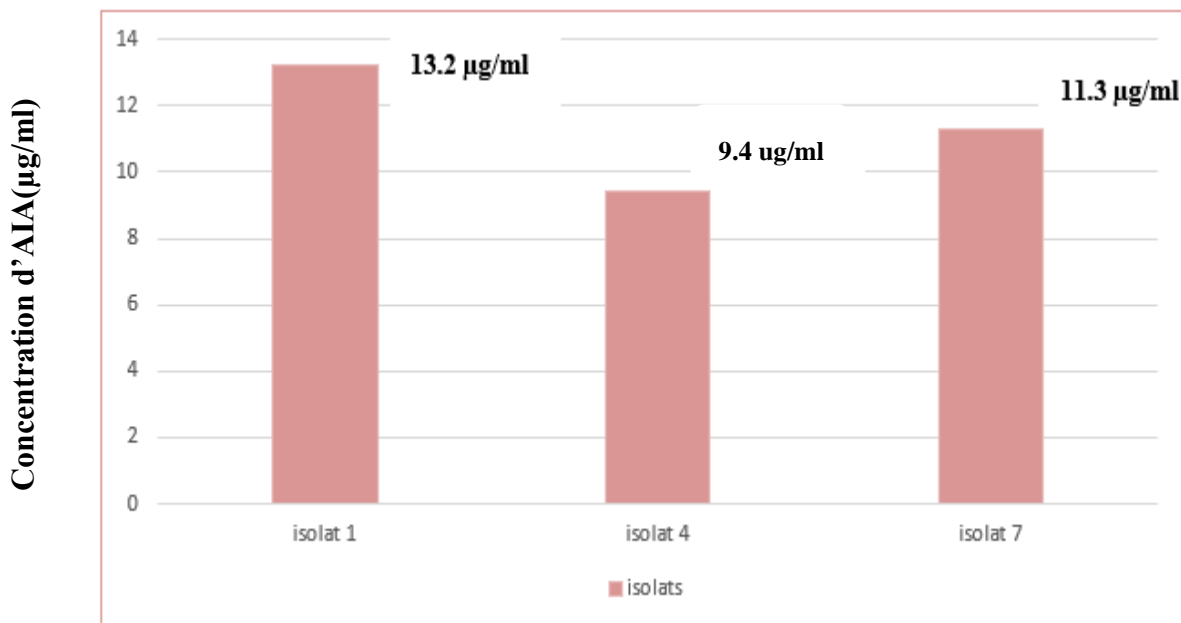


Figure 14. Quantités d'AIA produite par les différents isolats testés

A partir de nos résultats on constate que les isolats testés sont producteurs d'AIA, mais avec des concentrations différentes. Les isolats ISJ1, ISJ4 et ISK7 produisent l'AIA avec des quantités (13.2 ;9.4 ; 11.3 µg/ml), ce qui confirme les résultats obtenus par (Ji *et al.*, 2014). Qui ont montré que *Bacillus subtilis* ; *Microbacterium binotii*, *Microbacterium trichotecenolyticum* et *Microbacterium trichotecenolyticum* sont des souches productrices d'AIA, et les résultats de (Egamberdieva *et al.*,2010) qui ont aussi révélé que les deux souches de *Pseudomonas trivialis*3Re27et *Pseudomonas extremorientalis*TSAU20 produisent 12µg/ml et 10,1µg/ml d'AIA respectivement.

La quantité de l'AIA produite par l'isolat ISJ1 est supérieure à celle produite par les isolats ISJ4 et ISK7. D'après (Calvo *et al.*,2010 ; Tri-Wahyudietal.,2011), la production d'auxine et l'effet stimulateur de la croissance des plantes vont de pair, cet isolat pourrait donc être un bon stimulateur de la croissance des plantes.

Les bactéries sécrétant une grande quantité d'auxine soient l'AIA, dans le sol causent une augmentation maximale de la croissance et le rendement des récoltes (Khalid *et al.*, 2004). La production de ce composé est variable entre les souches de différentes espèces. Cette variation

est aussi influencée par les conditions de culture, la phase de croissance et la disponibilité du substrat (Mirza *et al.*, 2001). La production de l'AIA par les microorganismes est effectuée à partir des exsudats racinaires, la production d'auxine par les bactéries augmente lorsque le milieu de culture est additionné de précurseur plus approprié, comme le tryptophane pour la production d'AIA, cette production s'améliore avec l'augmentation de la concentration du précurseur (Barazani et Friedman, 2000 ; Tsavkelova *etal.*, 2006). 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. Les bactéries productrices d'AIA stimulent la germination des graines, la division, l'élargissement des cellules et des tissus, l'expansion des feuilles et jouent un rôle majeur dans l'élongation racinaire (Egamberdieva *et al.*, 2010 ; Maleki *et al.*, 2010 ; Martínez -Viveros *et al.*, 2010).

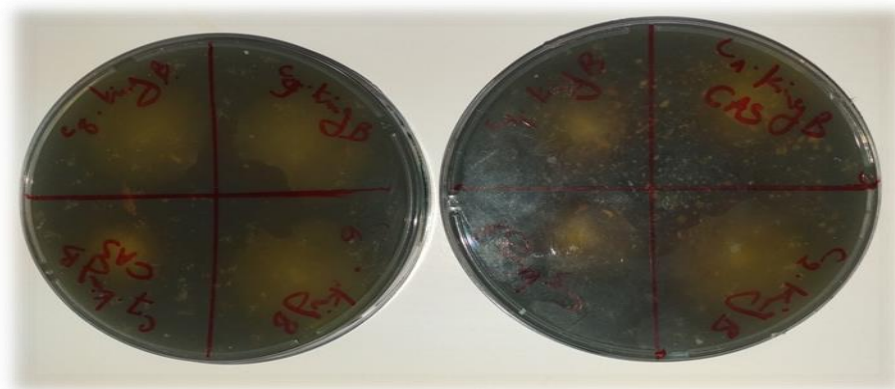
5.2. Production de sidérophores

Tableau 13. Résultats de production de sidérophores

Les isolats	ISJ1	ISJ2	ISJ3	ISJ4	ISJ5	ISK6	ISK7	ISK8
Production de Sidérophores	++	+++	++	++	+++	+++	++	+++

++ : Moyenne production, +++ : forte production

D'après les résultats obtenus, il a été constaté que les isolats ISK8, ISK6, ISJ5 et ISJ2 sont de bons producteurs des sidérophores. Indiquent également la sortie moyenne du ISJ1, ISJ3, ISJ4 et ISK7 et évalue en changeant sa couleur Bleu moyen à orange (**Photographie 25**).



Photographie 25. Résultats obtenus pour le test de production de sidérophores.

Nos résultats pour cette activité prouvent que nos isolats sont de bons producteurs de sidérophores, mais les rendements sont en quantités différentes, ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par (Mezzaache, 2012) qui a montré que le genre *Pseudomonas*

produit des sidérophores avec un pourcentage de 100%. Et c'est prouvé aussi D'après (Ji *et al.*, 2014), la production des sidérophores est observée chez les souches de *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

Les *Pseudomonas* produisent des sidérophores in vitro qui interviennent dans l'élimination des maladies causées par les phytopathogènes comme *Aspergillus niger* (Sindhu *et al.*, 2010). (Meyer et Abdallah ,1978) ont rapporté que la synthèse de sidérophores est observée chez les souches : *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas aureofaciens*.

A partir des résultats précédents, les tests d'identification phénotypiques de nos isolats bactériens ont révélé qu'il appartient aux deux genres des bactéries.

On constate que ces 4 isolats bactériens (ISJ1, ISJ3, ISJ4 et ISK7) sont des bâtonnets Gram + et la présence de spores, aérobies anaérobies facultatives, oxydase positive, catalase positive et Immobile avec fermentation mannitol positive, nitrate réductase négative, indole positif, la capacité de produire de l'acide indole acétique (IAA), la présence des enzymes efficace (Amylase et estérase). Donc ont été apparentées au genre *Bacillus sp.*

Ensuite les autres 4 Isolats bactériens ISJ2, ISJ5, ISK6 et ISK8, sont des Cocci Gram -, Aérobie stricte, oxydase positif, catalase positif et mobile avec une fermentation de mannitol négatif, Nitrate réductase positif, Indole négatif, capacité de la production des sidérophore, la présence des enzymes efficace (Amylase et estérase). Ont été rattachées au genre *Pseudomonas sp.*

Conclusion et Perspectives

L'axe de notre recherche couvre l'étude des caractères d'intérêt agricole chez certaines bactéries rhizosphériques, deux échantillons du sol de la rhizosphère de la plante d'oignon (*Allium cepa*) sont prélevés d'une manière aléatoire de deux régions dans l'Est d'Algérie, El-Milia située à la wilaya de Jijel et El-Hamma située à la wilaya de Khenchela. Ces échantillons ont fait l'objet d'un isolement et l'identification de bactéries d'intérêt agricole.

En effet, ce travail a permis d'atteindre les objectifs que nous sommes fixés au début, la caractérisation des caractères d'intérêts agricole des bactéries PGPRs qui peuvent favoriser la croissance des plantes d'oignon en améliorant la qualité de ce produit par leur capacité de produire des enzymes efficaces.

Le nombre total des isolats sélectionné dans cette étude est huit isolats ont été purifiés et identifiée sur la base d'une caractérisation phénotypique.

Les résultats des tests d'activités enzymatiques, synthèse des lipases, estérases et lipasique, amylases, ainsi que la synthèse des sidérophores et la production de l'acide Indole acétique ont permis de montrer l'intérêt des bactéries testées en agriculture. Ces tests ont permis d'affilier ces isolats aux genres *Bacillus* et *pseudomonas*. Ces résultats ont permis de constater que les bactéries étudiées seraient capables de stimuler la croissance végétale, de contrôler la rhizosphère, de fertiliser et dépolluer le sol.

Dans ce travail à partir de ces données et résultats expérimentaux, Cette méthode est pertinente pour l'identification des bactéries appartenant au groupe PGPR, ainsi sur des critères morphologiques de culture, nutritionnels et biochimiques, nous pouvons classer nos isolats dans la famille des bactéries de la rhizosphère.

Les résultats obtenus sur les tests PGPR montre l'importance agronomique et écologique de la croissance d'oignon à partir de l'association avec leurs partenaires microbiens. De meilleures connaissances des mécanismes d'interaction plantes-microorganismes permettent de favoriser des populations déjà présentes dans la rhizosphère et qui sont bénéfiques pour les plantes. Donc ses isolats, peuvent donc être plus en profondeur étudiées et valorisées, afin d'être utilisées en agriculture et en biotechnologie.

A l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour l'amélioration de l'utilisation des isolats obtenus :

- ✓ L'identification génotypique des isolats.
- ✓ Réaliser des Tests de stimulation de la croissance des plantes.
- ✓ Vérification des résultats obtenus hors laboratoire et leur application aux plantes.

Références Bibliographiques

A

- **Abdlhafid, L.**, (2011). Effet de certains indicateurs de gènes nod (composé phénoliques) sur la croissance de rhizobium en symbiose avec *Vicia faba* caractérisation et lutte biologique. En vues de l'obtention du diplôme de doctorat –es- sciences en biologie moléculaire et cellulaire, université ABoubakerbelkaid. Telmcen. P 43.
- **Abnatura, P., Eméric K., Yédéou O., Adolphe A., Marcellin A., Rachidatou S., Emma W., Simeon O., K., Lamine, B M.**, (2013). Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. *American Journal of Plant Sciences*. 44 : pp 1013-1014.
- **Aeron, A., Sandeep, K., Piyush, P., Maheshwari, D., K.**, (2011). Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In : *Bacteria in agrobiolgy : croecosystems*. Springer, Berlin. 161 : pp 1–36.
- **Afssaps, H.**, (2008) . Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. Agence française de sécurité et produit de santé.
- **Ahemad, M., Kibret M.**, (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria : Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*. 26 : pp 1–20.
- **Alhendawi, R., A., Römheld, V., Kirkby, E. A., and Marschner, H.**, (1997). Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum, and maize. *J. Plant Nutr.* 20 : pp 1731–1753.
- **Alori, E.T , Glick, B.R , and Babalola, O.O.**, (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Plant Pathogen Interactions*. 8: pp 1–8.
- **Anton, H., Michael R., et Michael S.**, (2008). « Lorenz Hiltner, apioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », *Plant and Soil*. 312 : p7.
- **Aouar, L.**, (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine, p5.
- **AquaPortail.**(2007).(Mise à jour le 13/11/2021) [https://www.aquaportail.com/definition-2236-fixation-de-l-azote.html#la_biologique]

B

- **Baca, E., Elmerich C.**, (2007). Microbial Production of Plant Hormones. *Bacteria and Cyanobacterial Associations*. 25 : pp113-143.
- **Backer, R., Rokem, J., S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E.**, (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria : context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Front Plant Science*. 9 : p1473.
- **Bailey, D.**, (1996). Alkalinity, pH, and Acidification. *Water, Media, and Nutrition for Greenhouse Crops*. Batavia, IL : Ball Publishing, pp 69-91.
- **Bailly, A., et Weisskopf, L.**, (2012). L'effet modulateur des volatils bactériens sur la croissance des plantes. *Signal de l'usine. Comportement* .7 : pp79–85.
- **Baise, E., Elmerich C.**, (2006). Microbial Production of Plant Hormones. *Bacteria and Cyanobacterial Associations*. 25 : pp113-143.
- **Bakker, P., A., H., M., Raaijmakers, J., M., Bloemberg, G., V., Höfte, M., Lemanceau, P., & Cooke, M.**, (2007). Special Issue on New perspectives and approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research : Foreword. *European Journal of Plant Pathology*. 119 : pp 241-242.

Références Bibliographiques

- **Barazani, O., Friedman, J.,** (2000). Effect of Exogenously Applied L-Tryptophan on Allelochemical Activity of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), *Journal of Chemical Ecology*. 26 : pp343-349.
- **Bazot, S.,** (2005). Contribution à l'étude de l'allocation des photoassimilats récents dans la plante et la rhizosphère chez une graminée pérenne (*Lolium perenne L.*), Unité Mixte de Recherche INRA INPL agronomie Environnement Nancy Colmar. 101 : pp 25-26.
- **Beck, DP, Materon, LA et Afandi, F.,** (1993). Manuel pratique sur la technologie des légumineuses à rhizobium. Manuel pratique sur la technologie des légumineuses à *Rhizobium*. p19 .
- **Benhacene, Z., Bolwerk, A., Lagopodi, A.L., Wijfjes, A.H.M., Lamers, G.E.M., Chin-A-Woeng, T.F.C., Messiad, I.,** (2016). Évaluation et Taxonomie Numérique des Bactéries Promotrices des Plantes Isolées de Rhizosphère de *Capsicum Annuum*. Université 8 Mai 1945 Guelma. Thèse de Doctorat. pp 5-50.
- **Benhamou, N., le Floch, G., Vallance, J., Gerbore, J., Grizard, D., and Rey, P.,** (2012). *Pythium oligandrum* : an example of opportunistic success. *Microbiology* .158 : pp 2679-2694.
- **Bernstein, L.,** (1975). Effects of salinity and sodicity on plant growth. *Annu. Rev., Phytopathol.* 13, : pp 295–312.
- **Bertin, C., Xiaohan, Y., et Leslie, A., W.,** (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Sec Plant Breeding*. 8 : p1.
- **Bertrand, H., C., Plassard, X., Pinochet, B., Touraine, P., Normand et J., C., Cleyet-Marel, H.,** (2000). Stimulation of the ionic transport system in *Brassica napus* by a plant growth-promoting rhizobacterium (*Achromobacter sp.*). *Canadian Journal Microbiology*. 46: pp229 -236.
- **Bibirou, K.,** (2016). Tests utilisés en bactériologie. *Biologie technique de laboratoires pour laboratoire de brousse*.
- **Bisht, N., Tiwari, S., Singh, P. C., Niranjana, A., and Chauhan, P. S.,** (2019). A multifaceted rhizobacterium *Paenibacillus lentimorbus* alleviates nutrient deficiency-induced stress in *Cicer arietinum L.* *Microbiol. Res.* 223 : pp110-119.
- **Bouras, M.,** (2014). Isolement et identification des *Pseudomonas* spp fluorescents à partir de la Rhizosphère des plantes actinorhiziennes, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine. p 94.
- **Brahim, S.,** (1998). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Mémoire de maîtrise. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval, Québec. pp 1-10.



- **Calvo, P., Ormeño-Orrillo, E., Martínez-Romero, E., et Zúñiga, D.,** (2010). Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from Andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41 : pp 899-906.
- **Camille, D.,** (2006). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. 2^{ème} édition, TEC et DOC. P 15 .
- **Carne, C.Ch.,** (2010). *Agriculture biologique, une approche scientifique*. Edition : France agricole. *Productions végétales et grandes cultures*. 29 : p 434 .

Références Bibliographiques

- **Carrim,A.,J. ,I., Barbosa.,E.,C., et Gonçalves,V.,J.,D., (2006).** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). Brazilian Archives of Biology and Technology. 49 :PP 354-355.
- **Chen, L., Yin, H., Xu, J., and Liu, X., (2011).** Enhanced antioxidant responses of a salt-resistant wheat cultivar facilitate its adaptation to salt stress. Afr. J. Biotechnol. 10 : pp 1684-1686.
- **Cherif ,H.,(2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea* agglomerans isolées de sols arides. Thèse de doctorat. laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1. pp 19-20 .
- **Cherif, H. ,Dainge, N. ,Ndour, M. ,Pape, I. ,Ngoum, D., Nédaban, M., C ., Ganna· N. ,Sergio , S.,(2020).** Plant growth-promoting microorganisms for sustainable agricultural production , *Frontiers in Sustainable Food systems* . 4 : pp 24-28 .
- **Cholami , A ., Biyari , A., Chlipoor , M., Rahmani , H ., (2012).** Growth promotion of maize (*Zea mays*. L) By growth-promoting rhizobacteria under field condition studies Ababa université addisababa .Thèse de doctorat . p 150 .
- **Choudhary, D.K.; Sharma, K.P.; Gaur, R.K., (2011).** Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnology Letters* . 33 :pp1905–1910.
- **Compant, S; Duffy, B; Nowak, J; Clément, C; and Barka, E.A., (2005).** Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Application Environnement Microbiology* .71: pp 4951–4959.
- **Curl,E.A., (1982).** The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. *Plant Dis* . 66 : p 624 .
- **Gravel,V., Antoun,H., Russell ,J., Twedde , H., (2007) .** Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology & Biochemistry* . 39 : p 1970 .

D

- **De Vos ,P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. and Whitman W. B. (2009).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2 ed., The Firmicute. Springer. New York. Volume Three.
- **Dixit, V. K., Misra, S., Mishra, S. K., Tewari, S. K., Joshi, N., and Chauhan, P. S., (2020).** Characterization of plant growth-promoting alkalotolerant *Alcaligenes* and *Bacillus* strains for mitigating the alkaline stress in *Zea mays*. *Antonie Van Leeuwenhoek* .113 : pp 889-905.
- **Dommergues, Y., Manganot, F., (1970) .** *Ecologie microbienne du sol*. Edition Masson.3 : p 624.
- **Doornbos, R.F., Loon, L.C. & Bakker, P.A.H.M., (2012) .** Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy*
- **Dumas,Z., Ross-Gillespie,A., Kümmerli,R.,(2013).** Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments. *for Sustainable Development* .32 : pp 228-231 .

E

Références Bibliographiques

- **Egamberdieva ,D., Berg ,G., Lindström ,K et Räsänen,L,A.,** (2010). Co-inoculation of *Pseudomonas* spp. with *Rhizobium* improves growth and symbiotic performance of foddergalega(*Galega orientalis* Lam.). *European Journal of Soil Biology*. 46 : pp 269-272
- **El-Fouly, M.Z., Sharaf, A.M., Shahin A.A.M., El-Bialy, H.A., Omara, A.M.A.,** (2014). biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiationresearch and Applied Sciences* . 8(1):pp 36-48.
- **Etesami, H., and Maheshwari, D. K.,** (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology Environnement* .156: pp 225–246 .

F

- **Fernando, J., Mark, D., Lazzaro, M., Danilo, R.,** (2005). Growth and development of conifer pollen tubes. *Sex Plant Reprod*. 18 : pp 149- 162.
- **Fickers ,P., Destain, J., Thonart ,P.,** (2007). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications .*Biotechnol. Agron. Soc. Environ*.12 (2) : pp119-130.
- **Frenry J., Renard R. P.,** (2007). Précis de bactériologie clinique. 2ème édition, paris .p1764.

G

- **Gaetan ,f.,** (2004). Conditions d'expression de l'activité antagoniste de *Pythiumoligrandrum* seule ou en association avec d'autre micro-organismes, au sein de la rhizosphère de plants de tomate (*hycopsiconesvulentum* mill). Thèse de doctorat . sciences agroalimentaires.
- **Girad, M. C., Water, C.,** (2005). Sol et environnements. Dunod, Paris . 12 : pp 306-307
- **Giri B, Giang PH, Kumari R, Prasad R.,**(2005). Microbial diversity in soils. In: Buscot F, varma A, editors. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*.3: p 352
- **Glick B. R., Pasternak J.J.,** (1998). Plant growth-promoting bacteria in molecular biotechnology principles and applications of recombinant DNA. 2ème édition , glutamine synthetase expression and accumulation. *Environmental and Experimental Botany*. 60 : pp 121–126.
- **Gobat J.M., Aragon, M., Matthey, w.,**(2003). Le sol vivant, bases de pédologie et biologie des sols. Édition press Polytechniques et Universitaires romandes., Lausanne coll Gérer environnement, 2ème édition.14 : p 569 .
- **Goswami, D; Vaghela, H; Parmar, S; Dhandhukia, P; and Thakker, J.N.,** (2013). Plant growth promoting potentials of *Pseudomonas* spp. strain OG isolated from marine water . *Plant Interact*. 8 : pp 281–283.
- **Gravel, V.,** (2007). Lutte contre *Pythiummultimum* chez la tomate de serre : une approche microbienne. Thèse de doctorat , Faculté des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, Québec. p 138
- **Gray, E. J., et D. L. Smith.,** (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology & Biochemistry*. 37: pp 395-406.

Références Bibliographiques

- **Grayston S.J., Vanghan ,D ., . Jones, D.,**(1996). Rhizosphere carbon flow in trees, incomparaison with annualplants: the importance of root exudation and its impact onmicrobialactivity and nutrient availability. *Applied SoilEcology* .5: pp 29-56 .
- **Guemori-Athmani, S., O. Berge, , M. Bourrain,, P. Mavingui, , JM. Thiery, T. Bhatnagar et T. Heulin,** (2000). Diversity of *Paenibacillus polymyxa* populations in the rhizosphere of wheat (*Triticumdurum*) in Algerian soils. *Eur. J. Soil Biol.* 36 : pp 149-159.
- **Guillaume ,T., J., C.,** (2020). $\delta^{15}\text{N}$ values in plants are determined by both nitrate assimilation and circulation . Research School of Biology, ANU JoitCollege of Science, Australian National University . 10 : p 2 .
- **Guilloux B.M., Le Fur Y, Feuillat M.,** (1985). Influence of fattyacids on the growth of wine microorganisms *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcusoeni*. *MicrobiolBiotechnol.* 20: pp 144-149 .
- **Gupta ,R., Gupta ,N., Rathi ,P.,** (2004). Bacteriallipases: an overview of production, purification and biochemicalproperties. *ApplMicrobiolBiotechnol.* 64 : pp 763–781.

H

- **Haas, D., Keel, C.,** (2003) Regulation of Antibiotic Production in Root-Colonizing *Pseudomonas* spp. and Relevance for Biological Control of Plant Disease. *AnnualReview of Phytopathology.* 41 : pp 117-120.
- **Hallman, J.A., Quadt-Hallman, W.F. Mahaffee et Kloepper J.W.,** (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal Microbiology* .43: p 896.
- **Harsh , B., Tiffany , L. , Laura, G. , Simon, G. , Jorge , M. ,** (2006). The role of root exudates in rhizosphere interaction with and other organisms . *Plant Biologie* .57 : pp 233-266.
- **He, Y., Pantigoso, H. A., Wu, Z., and Vivanco, J. M.,** (2019). Co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas putida* at different development stages acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrientuptake of tomato. *Journal Application Microbiology.* 127: pp196-207.
- **Hemerly, A.,Carvalho T. L. G. , Balsemão-Pires E. , Saraiva R. M. , Ferreira P. C. G.,** (2014). Nitrogensignalling in plant interactions with associative and endophyticdiazotrophic bacteria. *Journal of ExperimentalBotany* . 19 : p 5632.
- **Hinsinger ,P.,Gobran ,G.R., Gregory, P.J.,Wenzel , W.,** (2005). Rhizosphere geometryand heterogeneityarising from root-mediatesphysical and chemical process. *New phytologist.* 168: pp 293-303 .
- **Hirsch, A.M., Bauer, W.D., Bird, D.M., Cullimore, J., Tyler, B. and Yoder, J.I.,** (2003). molecularsignals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plantsand other organisms. *Ecology* .84: pp 858-868
- **Howell, C.R.,** (2003). Mechanismsemployed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis* .87: pp 4-10.
- **Hugenholtz, P.,** (2002). Exploringprokaryoticdiversity in the genomicera. *GenomeBiology* . 3 : pp 1-2.

J

Références Bibliographiques

- **Jadhav, H.; Sheikh, S.S., Syed, R., (2017).** Le rôle des enzymes hydrolytiques dans la rhizosphère dans le contrôle biologique des pathogènes fongiques : un aperçu. Dans : Racines : Promouvoir la croissance des plantes pour la bioremédiation. Springer, Singapour. 23: pp 183–189.
- **Jamagne M, Bétrémieux R, Bégon J.C, Mori A. (1998).** Quelques données sur la variabilité dans le milieu naturel de la réserve en eau des sols. Bull Tech d'Info.8 : pp 324-325.
- **Jamagne, M., (1967).** Bases et techniques d'une cartographie des sols.
- **Jean B., Jean-Marie F., Moulay-Idriss Z., Budi S., (2017) .** Variations de volume des sols argileux lors de cycles de drainage-humidification .Rev. Fr. Geotech. 41 : pp 63-71 .
- **Ji ,S,H ., Gururani ,M,A., et Chul,C,S., (2014).** Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. Microbiological Research. 169 : pp 83- 98.
- **Joell, S. , Enrico , M. , Trent, N. , (2018).** Plant exudates shape the root microbiome .Joint Genome Institute, Walnut Creek , USA. 23 : pp 25-41 .
- **Joëlle F., Fabien L., Stephanie M., Jean-Bernard C., (2009).** Nitrogen rhizodeposition of legumes . Laboratoire d'Écophysiologie Végétale et Agroécologie, École Supérieure d'Agriculture, 55 rue Rabelais, Université de Caen, France . 30 : pp 63-64.
- **Joffin, J., Leyral , G., (1998).** Microbiologie technique, 2ème Ed, Collection Biogéotechnique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. p304.
- **Judy , L., Jakobek , J., A., Smith , P., B., (1993) .** Suppression of Bean Defense Responses by *Pseudomonas syringae* . The Plant Cell . 5 : pp 57-63 .
- **Juglea , S., (2011).** Simulation de l'humidité du sol/ température de brillance à partir des données in situ dans le cadre de la validation des produits SMOS- site test Valencia Anchor Station. Thèse de Doctorat en sciences de la terre et des planètes solide. Université Toulouse 3 Sabatier (UT3 Paul Sabatier). p 175.

K

- **Kaioua, A., Grairi, I., (2015).** Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre *Pseudomonas* isolées des sols rhizosphériques. Identification de souches représentatives. Microbiologie Générale et Biologie moléculaire des Micro-organismes, Thèse de doctorat . UFM Constantine I. p4 .
- **Khalid, A., Arshad, M., Zahir, A., (2004).** Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. Journal Application Microbiology. 96: pp 473-480.
- **Khan, M.; Khatun, A; and Islam, T., (2016).** Promotion of Plant Growth by Phytohormone Producing Bacteria. Microbes in Action; Nova Science Publishers: New York USA. 11: pp 2- 10.
- **King ,E.,D., Ward ,M.,K., Raney ,D.,E., (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine .44 : pp 301–7.
- **Kloepper , J.,W., Schorth,M.,N., (1978).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and plant Growth Under Gnotobiotic Conditions .Ecology and Epidemiology .71: pp 642-644 .
- **Kloepper ,W.,Gang ,W.,Sadik , T., (1991).** Induction of Systemic Resistance of Cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by Select Strains of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria . Département of Plant Pathology and Alabama Agricultural Experiment Station , Auburn University . 81 : p 1508 .

Références Bibliographiques

- **Kloepper, J. W., Mcinroy, J. A., Bowen, k. L.,** (1991). Comparative identification by fattyacidanalysis of soil, rhizosphere, and geocarposphere bacteria of peanut (*Arachishypogaea L.*).plant and soil, 139(1) : pp 85-90.
 - **Kloepper, J. W., R. Rodriguez-Ubana, G. W. Zehnder, J. F. Murphy, E. Sikora, and Beauchamp, C.J.,** (1992). A review of issues related to measuringcolonization of plant roots by bacteria. *Canadaine Journal of Microbiology* .38: pp 1219-1227.
 - **Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Gorfer M, SessitschA.,**(2008) . Rhizosphere bacteria affect growth and metaluptake of heavymetalaccumulatingwillows. *Plant Soil* . 304: pp 35- 44 .
-

L

- **Ladjabi ,Ch .,** (2019). Isolement et identification des bactéries dans la rhizosphère de 5 variétés de fèves et détermination leur caractères PGPR. Université des frèresmantouriconstantine Faculté des sciences de la nature et se la vie .Thèse de doctorat . p7 .
- **Lanotte ,P., Isnard, C., Garnier, F., Mereghetti ,L.,** (2016). b : Du prélèvement à la caractérisation dessouches In : *Bactériologie médicale Techniques usuelles*.3e édition Elsevier Masson SAS,. pp 32-34.
- **Laradj .Z ., K .,** (2017) . Isolement et caractérisation des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes capables de lutter contre le *Fusarium*. Thèse de doctorat .pp 5-8 .
- **Latour X.,Lemanceau P. ,** (1997). Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie* . 17 : pp 427-443.
- **Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. Berta, G.,** (2013). Microbialecology of the rhizosphere.*NatureReviews Microbiology*. 11 : pp 787-799 .
- **Li, Y; Liu, X; Hao, T; and Chen, S.,** (2017). Colonization and Maize Growth Promotion Induced by Phosphate SolubilizingBacterial Isolates. *International Journal of Molecular Sciences* .18: p 1253.
- **Lifshitz R., JosephW., Kloepper M., K ., Catherine S. , John C., Elizabeth M. , Tipping Z.,** (1987) . Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobioticconditions . *Canadian Journal of Microbiology* . 33 : pp 1-3.
- **Lkhal , R.,** (2011) . Etude de l'effet de l'oxygène sur la physiologie et le métabolisme de la bactérie hyperthermophile anaérobie thermotogamaritima .Thèse de doctorat .
- **Lombi ,E; Wenzel, W. W; George , R. G; Adrian , C. D.,** (2001). Trace Elements in theRhizosphere. CRC Press LLC. In:*Microbial Health of the Rhizosphere*.4: p 4.
- **Lucinski, R., Polcyn, W., Rotayczak, L.,** (2002) Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association *Rhizobium-legumes*. *Acta. Biochimia. Polonia*.49 : pp 537-546.
- **Lugtenberg, B., Kamilova, F.,** (2009). Plant-growt-promoting rhizobacteria.*AnnuleRevevies Microbiology*. 63 : pp 543-549.
- **Lugtenberg, B.J.J. &Bloemberg, G.V.,** (2003). Interactions in the tomato rhizosphere of two*Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusariumoxysporum f. sp.radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 16 : pp 983-990.
- **Lymperopoulos, P;Msanne, J; and Rabara, R.,** (2018). Phytochrome and Phytohormones:Working in Tandem for Plant Growth and Development. *Frontiers In Plant Science*. 9:pp 2-5.
- **Lynch, J. P., and Clair, S. B. S.,** (2004). Mineral stress: the missinglinkinunderstanding how global climate change will affect plants in real world soils.*Field Crops Res*. 90 : pp101– 115.

- **Lynch, J.M., Whipps, J.M.,**(1990) .Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*,129 : pp 1-10.

M

- **Mabood, F., Xiaomin, Z and Donald, L.S .,**(2014). Microbialsignaling and plant growth promotion. *Can J Plant Sci.*94: pp 1051–1063
- **Maleki ,M., Mostafae ,S., Mokhtarnejad ,L. , and Farzaneh ,M.,** (2010). Characterization of *Pseudomonas fluorescens* strain CV6 isolated from cucumber rhizosphere in Varamin as a potential biocontrol agent. *A J C S.* 4 (9) : pp 676-683.
- **Malhotra M., Srivastava S.,** (2008). Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum Brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. *European Journal of Soil Biology.* 45: pp 73-80.
- **Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, C.L.,** (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3^{ème} Ed., Doin éditeurs, Paris.
- **MartínezViveros,O.,Jorquera,M,A.,Crowley,D,E.,Gajardo,G.,Mora,M,L.,**(2010).Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10 (3) : pp 293-319.
- **Matthew , C., Beltin ,F.,** (2003). Prélèvement et préparation des échantillons de terre, In *Analyse chimique des sols « méthodes choisies »* . Edition TEC&DOC. pp1-22.
- **Mc Neil, D.L.,** (1982) Variations in Ability of *Rhizobium japonicum* Strains To nodulate Soybeans and Maintain Fixation in the Presence of Nitrate .*Appl. Environ. Microbiol.*44 : pp 647-652.
- **Mekahlia, R .,Saidani,A .,**(2020). Evaluation du pouvoir stimulateur de croissance "in situ" par des bactéries (PGPR) isolées de la rhizosphère du *Citrullus colocynthis* sur des variétés de blé dur. 164: pp 1-3.
- **Mellal, H.,** (2017) . Symbiose *Rhizobium-Lupin*. Biodiversité des microsymbiotes et leur caractérisation à partir des nodules racinaires de la Légumineuse *Lupinus angustifolius*. Thèse de doctorat . Université Mentouri-Constantine .p 54 .
- **Meyer,J,M.,Abdallah,MA.,**(1978).The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107 :pp 319-328
- **Mezaache, S.,**(2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Thèse de Doctorat en Sciences. Option : Microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif. p 221 .
- **Mirza, M., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., Malik, K. A.,** (2001). Isolation partial characterization and the effect of plant growth promoting bacteria (PGPR) on micro-propagated sugarcane in vitro . *Plant and Soil*, 237 : pp 47–54.
- **Morath, S. U, Hung, R and Bennett, J.W.,** (2012). Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biol Rev.* 26: pp 73–79.
- **Moulin, L., A. Munive, B. Dreyfus, et C. Boivin-Masson.,** (2001). Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria. *Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, IRD-INRA-CIRADENSAM Baillargue.* 411: pp 948–950.
- **Muhammad B ., Mahreen F ., Rameesha A ., Muther M. Q., Sidra N., Muhammad K. H., Tahir N .,** (2018) . Weed rhizosphere : a source of novel plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) . *International Journal Of Biosciences.* 13 : p 230.
- **Munees ,A., Mulugeta ,K.,** (2014) . Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria , *Journal of King Saud University – Science.* 26 : pp 1–20.

N

- **Narula, N., A., Deubel, W., Gans, K., Behl and Merbach, W.,** (2006). paranodules and colonization of wheat roots by phytohormone producing bacteria in soil. *plant soil environ.* 52: pp 119–129.
- **Nehem, N.,** (2008). Etude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni* : impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Pp 43-44 .
- **Nelson, I.,** (2004). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (pgpr): prospects for new inoculants. *crop management* . 3: p 1-10 .
- **Nguyen,** (2009). Antibiotic susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *J. Bacteriol. Res.* 1 (8) : Pp40-45.
- **Nkang, A.O., Okonko, O.I., Fowotade, A., Udeze, A.O., Ogunnusi, T.A., Fajobi, E.A., et al.,** (2009). Antibiotic susceptibility profiles of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *J. Bacteriol. Res.* 1 (8) : pp 89-96.
- **Normanly, J., and Bartel, B.,** (1999). Redundancy as a way of life – metabolism. *current opinion in plant biology* . 2 : pp 207-213 .
- **Norvell, W., and Adams, M.,** (2006). Screening soybean cultivars for resistance to iron-deficiency chlorosis in culture solutions containing magnesium or sodium bicarbonate. *J. Plant Nutr.* 29 : Pp 1855–1867.

P

- **Pansu, A., J., Gautheyrou.,** (2006) .Handbook of soil analysis mineralogical, organic and Inorganic methods. Springer (ed.). Berlin, New York . 25 : pp. 551-610.
- **Patten, C.L.; and Glick, B.R.,** (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal Microbiology* .42: pp 207–220.
- **Peoples, M.B., Giller, K.E., Herridge, D.F., Vessey, J.K.,** (2002). limitations to biological nitrogen fixation as a renewable source of nitrogen for agriculture . *Nitrogen Fixation global perspectives*, 356-360. publishing, Walling Ford, UK, p 448 .
- **Petard J. (1993).** Les méthodes d'analyse Tome 1 Analyses de sols ORSTOM.5 : p 7.
- **Pratikhya , M., Puneet , K., S., Debosmita , Ch., Snehasish , M., Ritesh , P.,** (2021) . Insight Into the Role of PGPR in Sustainable Agriculture and Environment . *Sec. Agroecology and Ecosystem Service* .5: pp 1-5 .
- **Pravin , V., Rosazlin, A ., Tumirah , Kh., Salmah , I ., Amru , N., B.,** (2016) . Role Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability — A Review . *MDPI Journal* .21: p 1 .

R

- **Raaijmakers ,M. , Maria , V., and Jory, T.,** (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents . *Anton van Leeuwenhoek*. 81: pp 538 – 544.
- **Radhakrishnan, R., Hashem, A., and Abd Allah, E. F.,** (2017). *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front. Physiol.* 8: P 667.
- **Roper ,M.,M., Gupta V., V., S., R .,** (2016) .enhancing non-symbiotic n₂ fixation in agriculture . *cross mark*. 10: p 7 .

- **Ryu RetPatten L.**, (2008). Aromaticaminoacid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am Soc Microbiol* .190: Pp 1-35.

S

- **Sahinet , F., Cakmakciet, R et Kantar, F.**, (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*. 265: pp 123-126 .
- **Sandhya,V., Ali S,K,Z., Venkateswarlu B, Reddy, G., Grover, M.**, (2010). Effect of osmotic stress on plant growth promoting *Pseudomonas spp.* *Arch. Microbiol*. 192 : pp 867-876.
- **Sandra ,M. Nathalie , B., Marc ,O.,W.,A., Jean-Marie ,M., Herbert ,B.**, (2016). Pyoverdine and histocorrugatin-mediated iron acquisition in *Pseudomonas thivervalensis* .*Electronicsupplementarymaterial* .29: pp 467-485 .
- **Santi, C; Bogusz, D; and Franche, C.**, (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*. 111: pp 743–745.
- **Santoyo,G., Urtis-Flores ,C.A., Loeza-Lara PD, Orozco-Mosqueda Ma delC, Glick ,B.R .**,(2021). Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth- Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology* .10: p 475 .
- **Sawada, H., L.D. Kuykendall et J.M. Young.**, (2003). Changing concepts in the systematic of bacterial nitrogen fixing legume symbionts. *J. Gen. Applied Microbiology*. 49: pp155-160.
- **Schippers, B; and Bakker, A.W.**,(1987). Interactions of Deleterious and Beneficial Rhizosphere Microorganisms and the Effect of Cropping Practices. *Annule Reviews Phytopathol*. 25 : pp 340-349.
- **Schroth ,M.N; Hancock, J.G.**, (1981). Selected topics in biological control. *Annule Reviews Microbiology* . 34: p 467.
- **Sharma ,R., Chisti ,Y., et Banerjee ,U,C.**,(2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances* .19 : pp 627–662.
- **Sharma, S.B; Sayyed, R.Z ; Trivedi, M.H; and Gobi, T.A.**, (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* . 2 : pp 1-14.
- **Shonkor ,K.D., Ajit ,V.**, (2011). Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. *soilenzymology*. 2 : pp25-45.
- **Siczek , A., Lipiec, J.**, (2016) . Impact of Faba Bean-Seed Rhizobial Inoculation on Microbial Activity in the Rhizosphere Soil during Growing Season . *Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Department of Soil and Plant System* . 17(5) : pp 2-5 .
- **Siddiqui ,Z,A.**, (2005). PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. In Siddiqui Z. A. (ed.), *PGPR: biocontrôle and Biofertilization*. pp111-142.
- **Siddiqui Z. A.**,(2003). PGPR : Prospective biocontrol agents of plant pathogens .*Biocontrol and Biofertilization* . 88 : pp 111-115.
- **Sindhu ,S,S., Dua ,S., Verma ,M,K., et Khandelwal A.**, (2010). Growth Promotion of Legumes by Inoculation of Rhizosphere Bacteria . *Microbes for legume Improvement*. pp195-235.
- **Singh, D., Singh, C. K., Singh, Y. P., Singh, V., Singh, R., Tomar, R. S. S.**, (2018). Evaluation of cultivated and wild genotypes of *Lens* species under alkalinity stress and their molecular collocation using microsatellite markers. *PLoS One* .13:

Références Bibliographiques

- **Solano B. R., Maicas J. B., et Mañero J. G.,** (2009) .Biotechnology of the Rhizosphere . Plant biotechnology . London New York . 44 : pp 6-8 .
- **Soleimani, R., Alikhani, H. A., Towfighi, H., Pourbabaei, A. A., and Khavazi, K.,** (2018). Indole-3-acetic acid and 1-aminocyclopropane-1-carboxylatedeaminase-producing bacteria alleviate sodium stress and promotewheatgrowth. Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci. 42 : Pp 1037-1048.
- **Soltner ,D.,** (1980) .les bases de la production végétale, tome1: le sol. 9 éme édition, collection sciences et technologie agricole. Angers. p 213.
- **Somasegaran ,S., Hoben, H,J.,** (1994).handbook for rhizobiasringerverlage new york.p 466.
- **Somers, E ., Vander, J., leyden, K et Srinivasan, M.,** (2004). Rhizosphere bacterialsignalling:a love parade beneathourfeet. Crit. Rev. Microbiol. 304 : pp 205–240.
- **Spaepen S., Sofie D., Anja C., Jos V.,** (2007). Effects of Azospirillum brasilense indole-3-acetic acid production on inoculatedwheat plants. Plant Soil. 62 : pp 15–23.
- **Suslow, T.V.,** (1982) . Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth ,Phytopathogenicprokaryotes.AcadémiePress, New york . 1 : pp 187-222 .

T

- **Torbaghan, M. E., Lakzian, A., Astarai, A. R., Fotovat, A., and Besharati, H.,** (2017). Salt and alkali stresses reduction in wheat by plant growth promoting haloalkaliphilic bacteria. J. Soil Sci. Plant Nutr. 17 : pp 1058-1087.
- **Trevors,J. T.&Vanelas,J. D.,**(2019). Microbial Interactions in soil. 3rd Edition .5 : p 21.
- **Tri -Wahyudi ,A., Puji, A.,R., Widyawati ,A., Meryandini ,A., et AsihNawangsih , A.,** (2011). Characterization of *Bacillus sp.* strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria . Journal of Microbiology and Antimicrobials . 3(2): pp34-40.
- **Tsavkelova,A.,Elena,S., Yu., Klimova, T. A. Cherdyntseva, Netrusov,L., Alexander ,E. ,** .(2006).Microbialproducers of plant growth Stimulators and their practicaluse:Areview,PrikladnaiaBiokhimiia i Mikrobiologii;42(2): pp 118-120.

U

- **Ulloa-Ogaz, A. L., Muñoz-Castellanos, L. N and Nevárez-Moorillón, G.V.,**(2015). Biocontrol of phytopathogens:antibiotic production as mechanism of control.the battle against microbialpathogens : basic science,technologicaladvances and educational programs. 31 : pp 305 – 307.

V

- **Van Loon, L.C.,**(2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria.European Journal Of Plant Pathology . 119: pp 243-250.
- **Velivelli, S., Kromann, P and Lojan, P.,** (2015). Identification of mVOCs from Andean
- **Vessey, J.K .,**(2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil .255 : pp 572-574.
- **Viollet,A.,** (2010). Influence du système de sécrétion de type III bactérien dans les interactions plante-Pseudomonas spp. Fluorescents non pathogènes. Thèse de Doctorat de Microbiologie des Sols et de l'Environnement. Spécialité : Ecologie Microbienne. Université de Bourgogne.
- **Vocciante ,M., Grifoni , M., Fusini,D., Petruzzelli ,G., Franchi , E.,** (2022). The Role of Plant Graowth-promoting Rhizobacteria (PGPR) in

Références Bibliographiques

Mitigating Plant's Environmental Stresses . Green Technologies for a Cleaner Environment .12: p3 .

W

- **Waligora , C.**, (2010) . Racine et Sol : Un monde de Communication et d'équilibres . Technique Culturelle Simplifiée . 57 : pp 2-5 .
 - **Wei ,H.L., Zhang ,L.Q.**, (2006) Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Antonie Van Leeuwenhoek*.89: pp 267-280 .
 - **Whipker, B. E., Bailey, D. A., Nelson, P. V., Fonteno, W. C., and Hammer, P. A.**, (1996). A novel approach to calculate acid additions for alkalinity control in greenhouse irrigation water. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 27 : pp 959-976.
-
- **Whipps ,J.M.**, (2001). Microbial Interaction and Biocontrol in the Rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.* 52 : pp 487-511.
-

Z

- **Zahou, C; Ma, Z; Zhu L; Xiao, X; Xie, Y; Zhu, J ; and Wang, J.**,(2016). Rhizobacterial Strain *Bacillus megaterium* BOFC15 Induces Cellular Polyamine Changes that Improve Plant Growth and Drought Resistance. *Internet Journal Microbiology Science* .16 : pp 17-97.
 - **Zahran HH.** (1999). Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation Under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiol Molec Biol Rev.* 63 (4) : pp 968-989.
 - **Zhang, P., Fu, J., and Hu, L.** , (2012). Effects of alkali stress on growth, free amino acids and carbohydrates metabolism in Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*). *Ecotoxicology.* 21: pp 1911–1918.
 - **Zied, A.**, (2020). Caractérisation phénotypique et étude de la tolérance aux métaux lourds de quelques souches rhizobiennes. Université de Biskra .p 53.
-

Site

-Site 1 : <https://www.projetecolo.com/rhizosphere-definition-composition-et-importance-268.html> .

-Site 2: <http://www.a2d.fr/page-activer-la-vie-du-sol.html>

-Site 3 : <https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Jijel--El-Milia--El-Milia>

-Site 4 : [https://www.wikiwand.com/fr/El_Hamma_\(wilaya_de_Khenchela\)](https://www.wikiwand.com/fr/El_Hamma_(wilaya_de_Khenchela))

-Site 5 : <https://formationcivamgard.fr/?SolFina>

Annexes

Annexe 01

❖ Composition des milieux de cultures utilisés au niveau Laboratoire de pédagogues de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma, sous la direction de responsable du hall de technologie Mme : Chorfi. R

❖ Milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

➤ **Eau physiologique**

Stérilisation à 120 °C/15 min

Composition	Quantité/ litre
NaCl	9g
Eau distillée	1L

➤ **Gélose nutritive (GN)**

Autoclaver à 120°C pendant 20mn

Composition	Quantité /litre
Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
NaCl	5g
Agar	7.5g
pH	7.2
Eau distillée	1L

➤ **Bouillon nutritif (BN)**

✓ Ajouter 13g à 15g de bouillon nutritif en poudre dans 1L d'eau distillée.

✓ Mélanger et dissoudre complètement.

✓ Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes.

➤ **King A**

Composition	Quantité/ litre
Peptone	20g
Glycérol	10g
K ₂ SO ₄	10g
MgCl ₂	1.4g
ED	1L
Agar	12g
pH	7.1

➤ **King B**

Composition	Quantité/ litre
Peptone	20g
Glycérol	10g
K ₂ HPO ₄	1.5g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.5g
Agar	15g
ED	1L
pH	7.2

➤ **Le tampon phosphate salin (PBS)**

Composition	Quantité/ litre
Kcl	0.2g
NaCl	8g
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	3.51g
K ₂ HPO ₄	0.48g
ED	1L

pH	7
----	---

➤ **Milieu urée indole**

✓ Autoclaver à 120°C pendant 20 mn

Composition	Quantité/ litre
L-tryptophane	3g
Dihydrogénophosphate de potassium	1g
Hydrophosphate de potassium	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Alcool à 95°	10ml
Rouge de phénol à 1%	2.5ml
Eau distillée	1L
pH	7.2

➤ **Gélose Mannitol-Mobilité**

Composition	Quantité/ litre
Peptone de viande	15g
Extrait de viande	3g
Mannitol	10g
Potassium nitrate	1g
Rouge de phénol	0,05g
Agar	5g
ED	1L
pH	8,1

➤ **Milieu LB**

Composition	Quantité/ litre
Tryptone	10g

Extrait de levure	5g
NaCl	5g
Agar	15g
Eau distillée	1L
pH	7.2

➤ **Milieu CAS**

2,7 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissous dans 10 ml de HCl 10 mM avec 1,21g/l de chrome Azurol S (CAS) dissous auparavant dans 50 ml d'eau distillée. Ce mélange, de couleur bleu foncé, est ajouté très lentement sous agitation à 1,821g de HDTMA (Hexa méthyl ammonium bromure) dissous dans 40 ml d'eau distillée, le pH est ajusté à 7. La solution bleu foncé obtenue est autoclavée à 121 °C /15 min. A 900 ml de King B, 100ml de la solution CAS- HDTMA est ajouté dans une erlenmeyer stérile (le mélange doit être homogénéisé). Couler ce milieu dans les boîtes de pitre, puis ensemencer les isolats.

Annexe 02

❖ Milieux pour les tests enzymatiques

➤ Milieu gélose à amidon 1%

Composition	Quantité/ litre
Gélose nutritive	1L
Amidon	10g

Annexe 03

❖ Réactifs

➤ Réactif salkowski

Composition	Quantité/ litre
FeCl ₂ 6H ₂ O	4g
HClO ₄	150ml
Eau distillée	1L

Annexe 04

❖ Les indicateurs colorés

➤ Solution de lugol

Composition	Quantité/ litre
Iode	10g
Iodure de potassium	20g
Eau distillé	1L

Annexe 05

Méthodologie

1. Coloration de GRAM

1.1. Faire un frottis

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H₂O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une anse stérile pour prélever des bactéries. Il n'est **pas** nécessaire de prendre beaucoup de bactéries
- Frotter l'anse dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

1.2. Coloration et explications

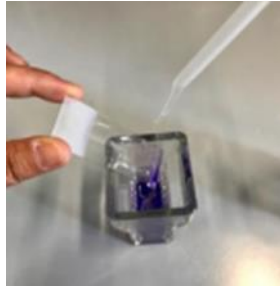
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.



- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.



- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).



- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
- Laisser agir 1 minute.
- Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.
- Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes).
- La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone. Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.
- Rincer à l'H₂O.
- Contre-colorer en déposant la solution de Fuchsine (rose) pendant 1 minute.
- Rincer à l'H₂O.
- Laisser sécher à l'air.
- Observer au microscope (grossissement 40x ou, avec une goutte d'huile à immersion au grossissement 100x).