



**République Algérienne démocratique et populaire**

**Ministère de L'enseignement Supérieur**

**et de la Recherche Scientifique**



**UNIVERSITÉ ABBÈS LAGHROUR KHENCHELA**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

**ET CELLULAIRE**

**MÉMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

**Thème**

**Étude de quelques paramètres favorisant  
la croissance des plantes chez les bactéries  
rhizosphériques.**

**Présenté Par :**

- ATMANE Khadidja
- HASBI Ikram
- NOUACER Marwa Yassmine

**Devant le jury compose de :**

**Président : Dr. HALASSI Ismahan**

**Encadreur : Dr. DALLI Youcef**

**Examineur : Melle. CHORFI Keltoum**

**Année universitaire : 2023- 2024**

# Remerciements

*Au terme de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné le courage et la volonté durant toutes ces années d'étude, afin que nous puissions achever ce travail.*

*En second lieu, nous avons l'honneur et le plaisir de présenter nos sincères remerciements à notre encadrant Dr. DALLI Youcef pour ces orientations, sa disponibilité, et ces conseils précieux qu'il nous a prodigués tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons nos réels remerciements aux membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail.*

*Nos remerciements les plus chaleureux à toute l'équipe du laboratoire de l'université spécialement Madame Sarra et monsieur Abdenor pour la confiance et l'aide qu'ils nous ont accordé.*

*Afin de n'oublier personne, on remercie nos enseignants pour tous les efforts et les conseils inestimables et nos amis qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel.*

## *Dédicace*

*Louange à dieu, par la grâce duquel les bonnes actions sont  
accomplies.*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années  
d'étude à ceux qui, quels soient les termes embrassés, je n'arriverais  
jamais à leur exprimer mon amour sincère*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite  
et tous mon respect : mon cher père **M'hammed**.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit  
non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre  
heureuse : mon adorable mère **Mímía**.*

*A mes chères sœurs **Hadjer, Latífa, Ahlam, Souad, Ghanía, Doudou,  
Hakíma** et mon fiancé **Ríadh** qui n'ont pas cessée de me conseiller,  
encourager et soutenir tous au long de mes études. Que Dieu les  
protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mes merveilleux neveux et nièces **Sadoula, Elya, Azhar, Alae,  
Younes, Baraa, Níbras, Zayd, Saad, Mouka, Rachad, Israa, Orkídía,  
límas, Safía, ...***

*Qui savent apporter la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A tous mes amis, spécialement mon jumeau **Romí**, et sans oublier ma  
copine **Nada** et trio **Ikram** et **Marwa Yassmine**.*

***Khadíja***

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à l'homme qui a pris ma main avant dix-sept ans à l'école pour ma première année et qui est absent aujourd'hui pour ma soutenance, à mon cœur, qui a toujours cru en moi, à ma force aux moments de faiblesse et ma vie, « Papa ».*

*J'espère qu'Allah te garde dans son vaste paradis, Je t'aime énormément.*

*À la plus chère au monde, ma Mère la lumière de ma vie, la source de mes efforts pour son amour, qui m'a toujours encouragé durant toutes mes années d'études.*

*Avec fierté et honneur, À mon frère Akram pour ses encouragements constants.*

*À tous mes frères et mes sœurs, À ma nièce soula.*

*À tous les membres de ma famille, mes cousines lamis, imene, chahí, nour et malak, salsabille, yassmine, ablla.*

*À ma belle cousine : fatima, je n'oublierai jamais les merveilleux moments qu'on a passés ensemble !*

*À mes très chers meilleurs amis : Wisseme, Salsabille, Rayane, Marwa, Khadidja, Chaïma.*

*À mes collègues de promotion Microbiologie Appliquée*

*Et bien sûr à moi-même.*

*À tous ceux que j'aime*

*LOVE U ALL*

*Ikram*

## *Dédicace*

*Avant tout chose, je remercie Dieu, Le Tout Puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite. Que Dieu te procure une bonne santé et une longue vie **mon très cher Papa.***

*A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, **à ma très chère Maman** que j'adore.*

*A mes chères sœurs Hadil et Ghofrane Vous avez toujours été à mes côtés pour me remonter le moral dans les moments les plus difficiles, merci pour votre amour et votre encouragement.*

*À tous les membres de ma famille, mes cousines et mes cousins.*

*À mes trinômes « Khadidja ET Ikram ». Pour les bons moments passés ensemble.*

*À tous mes amis (es) : donia, rayen, chaïma, ikram, khadidja...*

*À tous mes collègues de la promotion 2ème année Master Biologie, spécialité « microbiologie appliqué ».*

*Et bien sûr **à moi-même.***

*À ceux que je n'ai pas cité mais que je porte toujours dans mon cœur.*

***Marwa Yassmine***

## Résumé

La rhizosphère abrite plusieurs genres bactériens reconnus pour être capable d'améliorer la croissance des plantes, parmi ceux-ci les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Cette étude a été menée sur les PGPR dont les (*Pseudomonas spp.* fluorescents et actinobactéries) isolés de la rhizosphère d'olivier (*Olea europea*), des tests d'activités promotrice de croissance des plantes ont été entrepris.

Les résultats obtenus ont montré que 100% des isolats sont capables de fixer l'azote, de produire l'HCN (acide cyanhydrique) et l'acide indole 3-acétique avec des valeurs qui peuvent atteindre (38.84µg/ml), une absence de solubilisation de phosphore a été enregistrée.

L'activité antagoniste vis-à-vis des champignons phytopathogènes indique que les deux types d'isolats possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp.* et *Penicillium sp.* avec des pourcentages variés.

Le test sur la germination des graines de blé a démontré que plus de 55% des isolats ont améliorés le taux de germination avec un taux supérieur à 60%. Ces tests réalisés ont permis de conclure qu'un bioinoculum peut être développé à base de ces bactéries de la rhizosphère à savoir *Pseudomonas spp.* fluorescent et actinobactéries de par leurs capacités fortes à améliorer la croissance des plantes. Ainsi de limiter l'utilisation accrue d'engrais chimiques néfaste à l'homme et à l'environnement.

**Mots clés :** PGPR, phosphate, azote, HCN, Bioinoculum.

## **Abstract**

Several rhizospheric bacterial groups are known to be able to aid plant growth and are classified as PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

This study was conducted on this category of bacteria such as (*Pseudomonas spp.* fluorescents and actinobacteria) isolated from the olive rhizosphere (*Olea europea*). These have been tested of activities promoting plant growth.

The results obtained showed that 100% of the isolates are capable of producing phytohormone (3-acetic indole acid) with values that can reach (38.84µg/ ml), an absence of phosphorus solubilization was recorded for all isolates, but 100% of them are able to fix nitrogen and produce HCN (cyanhydric acid).

Antagonistic activity against phytopathogenic fungi indicates that both isolates have inhibitory activity against *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp.* with various percentages.

The wheat seed germination test showed that more than 55% of the isolates improved the germination rate with percentages greater than 60%. These tests have concluded that a bioinoculum can be developed based on rhizosphere bacteria such as *Pseudomonas spp.* fluorescent and actinobacteria due to their strong ability to improve plant growth. Thus, to limit the increased use of chemical fertilizers known to be harmful to man and the environment.

**Keywords:** PGPR, Phosphate, nitrogen, HCN, Antagonistic effect, Bioinoculum.

## المخلص

تستضيف منطقة الجذر عدة أنواع بكتيرية معروفة بقدرتها على تحسين نمو النباتات، ومن بينها بكتيريا تعزيز نمو النباتات (PGPR) (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

تم إجراء هذه الدراسة على بكتيريا PGPR بما في ذلك (*Pseudomonas spp. fluorescent, actinobactéries*) المعزولة من منطقة الجذر لأشجار الزيتون (*Olea europaea*) حيث تم إجراء اختبارات لنشاط تعزيز نمو النباتات، .

أظهرت النتائج أن 100% من العزلات قادرة على إنتاج هرمون نباتي (حمض الإندول 3-اسيتيك) بقيم تصل إلى (38.84 ميكروغرام/مل)، ولم يتم تسجيل أي نشاط لتذويب الفوسفور، و100% منها قادرة على تثبيت النيتروجين وإنتاج HCN (acide cyanhydrique).

تشير النشاطات المضادة تجاه الفطريات الممرضة للنباتات إلى أن كلا النوعين من العزلات يمتلكان نشاطاً مثبطاً تجاه *Alternaria sp*، *Penicillium sp*، *Aspergillus niger*، *Aspergillus sp* بنسب متفاوتة.

أظهر اختبار إنبات بذور القمح أن أكثر من 55% من العزلات حسّنت معدل الإنبات بنسبة تزيد عن 60%.

هذه الاختبارات التي أجريت أتاحت الاستنتاج بأن منتجاً حيويّاً يمكن تطويره استناداً إلى هذه البكتيريا من منطقة الجذر، وبالأخص (*Pseudomonas spp. fluorescent, actinobactéries*) نظراً لقدرتها الكبيرة على تحسين نمو

النباتات . وبهذا، يمكن الحد من الاستخدام المتزايد للاسمدة الكيميائية الضارة بالانسان والبيئة.

**الكلمات المفتاحية:** PGPR، فوسفات، نيتروجين، HCN، التأثير المضاد، منتجاً حيويّاً.

**Résumé**

**Abstract**

**المخلص**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des photographies**

**Liste des abréviations**

**Table des matières**

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>1. Généralité sur la rhizosphère</b> .....	<b>2</b>
1.1. La rhizosphère .....	2
1.2. La compartimentation de la rhizosphère .....	2
1.3. La communauté microbienne de la rhizosphère .....	3
1.4. Les bactéries rhizosphériques .....	3
<b>2. Importance des Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)</b> .....	<b>4</b>
2.1. Les mécanismes d'action des (PGPR) sur la plante .....	4
2.1.1. Les mécanismes directs .....	4
2.1.1.1. La fixation d'azote (N) .....	4
2.1.1.2. La solubilisation du phosphate .....	5
2.1.1.3. La solubilisation du potassium .....	6
2.1.1.4. La production de phytohormones .....	6
2.1.1.5. La production de sidérophores .....	7
2.2. Les mécanismes indirects .....	7

2.2.1. L'antibiose .....	7
2.2.2. La résistance systémique induite (RSI) .....	8
<b>3. Exemples de Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) .....</b>	<b>8</b>
3.1. Les <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents .....	8
3.1.1. Production d'Acide Indole 3 Acétique (AIA ) .....	9
3.1.2. Solubilisation du phosphore .....	9
3.1.3. activité antagoniste .....	9
3.2. Les Actinobactéries .....	10
3.2.1. Production d'Acide Indole 3 Acétique (AIA) .....	11
3.2.2. Solubilisation du phosphore .....	11
3. 2.3. activité antagoniste .....	12
<b>4. L'olivier <i>Olea europea L.</i> une espèce à multiples intérêts socioéconomiques .....</b>	<b>12</b>
4.1. Caractères généraux .....	12
4.2. Taxonomie .....	12
4.3. Distribution dans le monde .....	13
4.4. Distribution en Algérie .....	13
4.5. Intérêt économique .....	13
4.6. Intérêt écologique .....	14
4.7. La rhizosphère d'olivier .....	14
4.8. Les microorganismes rhizosphériques d'olivier .....	15
<b>Materiel et méthodes</b>	
<b>1. Prélèvement des échantillons .....</b>	<b>17</b>
2. Analyse physicochimiques du sol .....	17
2.1. Dosage de calcaire total (calcimètre de BERNARD).....	17
2.2. Mesure du pH .....	18
2.3. La conductivité électrique (CE) .....	18
2.4. La teneur en azote (méthode de KJELDAHL) .....	18

2.5. Dosage du carbone organique et matière organique (méthode de ANNE) .....	18
<b>3. Isolement et purification des bactéries rhizosphériques .....</b>	<b>18</b>
3.1. Isolement des actinobactéries .....	18
3.1.1. Préparation des solutions mère du sol et des échantillons .....	19
3.1.2. Ensemencement et incubation .....	19
3.1.3. Repiquage et purification des isolats .....	19
3.2. Isolement des <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents .....	19
3.2.1. Préparation des solutions mère du sol et des échantillons.....	19
3.2.2. Ensemencement et incubation .....	20
3.2.3. Repiquage et purification des isolats .....	18
<b>4. Conservation des isolats .....</b>	<b>19</b>
4.1. Conservation de courte durée .....	19
4.2. Conservation de longue durée .....	19
<b>5. Caractérisation et identification des actinobactéries et <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents .....</b>	<b>19</b>
5.1. Caractérisations microscopiques .....	19
5.2. Caractérisation biochimique.....	19
5.2.1. Recherche de catalase.....	19
<b>6. Mesure de quelques paramètres améliorant la croissance des plantes (PGP) .....</b>	<b>22</b>
6.1. Production d'HCN .....	22
6.2. Solubilisation du phosphate .....	22
6.3. Fixation d'azote .....	22
6.4. Production d'acide indole 3-acétique .....	22
6.5. Effet antagoniste .....	23
<b>7. Effet des isolats sur la plante .....</b>	<b>24</b>
7.1. Désinfection des graines .....	24
7.2. Inoculation des graines .....	24

## **Résultats et discussion :**

<b>1. Analyses physico-chimiques du sol</b> .....	<b>26</b>
1.1. Calaire total .....	26
1.2. Mesure du pH .....	26
1.3. La conductivité électrique .....	26
1.4. La teneur en azote .....	27
1.5. Dosage du carbone organique et matière organique.....	27
<b>2. Isolement des rhizobactéries qui ont un effet PGP</b> .....	<b>28</b>
2.1. Isolement et caractérisation des actinobactéries .....	28
2.1.1. Caractérisation macroscopique .....	28
2.1.2. Caractérisation microscopique .....	29
2.2. Isolement et caractérisation <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents .....	29
2.2.1. Caractérisation macroscopique .....	29
2.2.2 Caractérisation microscopique .....	27
2.3. Recherche de catalase .....	28
<b>3. Recherche d'activités améliorant la croissance des plantes, effet PGP</b> .....	<b>32</b>
3.1. Production d'HCN .....	29
3.2. Solubilisation de phosphate .....	33
3.3. La fixation d'azote .....	34
3.4. Production d'acide indole 3-acétique .....	35
3.5. Effet antagoniste contre les champignons phytopathogènes .....	38
<b>4. Effets des isolats sur la plante <i>Triticum dirum</i></b> .....	<b>40</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>39</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	

## **Annexes**

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1.</b> Analyses physico-chimiques du sol étudié.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Tableau 2.</b> Caractères phénotypiques et biochimiques des isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents .....	<b>28</b>
<b>Tableau 3.</b> Résultats de production d'HCN de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent. ....	<b>29</b>
<b>Tableau 4.</b> Résultats de production d'HCN sur les isolats d'actinobactéries.....	<b>29</b>
<b>Tableau 5.</b> Résultats de solubilisation sur les isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent.....	<b>30</b>
<b>Tableau 6.</b> Résultats de solubilisation de phosphate sur les isolats d'actinobactéries.....	<b>30</b>
<b>Tableau 7.</b> Résultats de la fixation d'azote sur les isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent.....	<b>31</b>
<b>Tableau 8.</b> Résultats de la fixation d'azote sur les isolats d'actinobactérie.....	<b>31</b>
<b>Tableau 9.</b> Résultats de production d'AIA sur les isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent.....	<b>33</b>
<b>Tableau 10.</b> Résultats du production d'AIA sur les isolats d'actinobactéries.....	<b>33</b>
<b>Tableau 11.</b> Effets d'inhibitions des champignons par <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent.....	<b>36</b>
<b>Tableau 12.</b> Effets d'inhibitions de champignons par les actinobactéries.....	<b>36</b>
<b>Tableau 13.</b> Résultats de l'Effet sur la plante sur les isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent.....	<b>38</b>
<b>Tableau 14.</b> Résultats de l'Effet sur la plante sur les isolats d'actinobactéries.....	<b>38</b>

**Liste des figures :**

<b>Figure 1.</b> Représentation schématique des zones de la rhizosphère .....	<b>4</b>
<b>Figure 2.</b> Mécanismes d'actions des bactéries solubilisant les phosphates .....	<b>6</b>
<b>Figure 3.</b> Isolement et purification des isolats .....	<b>20</b>
<b>Figure 4.</b> Histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) produit par les actinobactéries.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Figure 5.</b> Histogramme représente les variations des concentrations d'AIA ( $\mu\text{g/ml}$ ) produit par <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents .....	<b>37</b>
<b>Figure 6 .</b> Taux de germination des graines inoculés en comparaison t avec le témoin non inoculé. ....	<b>40</b>

## Liste des photographies :

<b>Photographie 1.</b> Technique de mesure de la production d'acide indole 3-acétique .....	<b>17</b>
<b>Photographie 2.</b> Site des prélèvements des échantillons.....	<b>23</b>
<b>Photographie 3.</b> Mesure du pH .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Photographie 4.</b> Etapes de la méthode de Kjeldahl pour dosage d'azote.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Photographie 5.</b> Dosage du carbone organique .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Photographie 6.</b> Isolat d'actinobactérie après purification .....	<b>28</b>
<b>Photographie 7.</b> Observation microscopique d'actinobactérie après coloration de Gram.	<b>29</b>
<b>Photographie 8.</b> Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV .....	<b>30</b>
<b>Photographie 9.</b> Observation microscopique de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents après coloration de Gram (G100x).....	<b>30</b>
<b>Photographie 10 .</b> Test catalase positif des isolats d'actinobactéries et <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescent .....	<b>31</b>
<b>Photographie 11.</b> Photo qui montre la production d'HCN .....	<b>32</b>
<b>Photographie 12.</b> Photographies montrent les résultats de solubilisation de phosphate....	<b>33</b>
<b>Photographie 13.</b> Croissance des isolats dans un milieu exempt de l'azote traduisant leur capacité à fixer l'azote. A : isolats de <i>Pseudomonas spp.</i> fluorescents. B : isolats d'actinobactéries.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Photographie 14.</b> Virement de couleur vers le rose indique la production d'AIA après l'addition du réactif de salkowski.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Photographie 15.</b> Photographies présentant l'effet antifongique des isolats bactériens contre les champignons phytopathogènes champignons testés, à l'exception d' <i>Alternaria sp.</i> , où ils ont démontré une activité.....	<b>40</b>

**Liste des abréviations :**

**AIA :** L'acide indole-3-acétique

**CaCO<sub>3</sub> :** carbonate de calcium

**CE :** conductivité électrique

**DO :** densité optique

**GN :** gélose nutritive

**HCN :** l'acide cyanhydrique

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** peroxyde d'hydrogène

**MO :** matière organique

**PDA:** Potato Dextrose- Agar

**pH:** potentiel hydrogène

**PGPR:** Plant Growth Promoting Rhizobacteria

**PSB :** Les bactéries solubilisatrices du phosphate

**RSI :** résistance systémique induite.

**SCA :** milieu amidon-caséine

**UV :** Ultra-Violet

## Introduction

La rhizosphère est une zone très riche en nutriments, constituant une niche écologique stimulatrice de diverses activités microbiennes (Bravin, 2008), les exsudats libérés par les racines des plantes sont la principale source de nutriments pour les micro-organismes et contribuent en tant que force motrice pour améliorer leur densité de population et leurs activités ((Marschner *et al.*, 2001 ; Raaijmakers *et al.*, 2002). Parmi les microorganismes établissant une symbiose associative avec la plante, se trouve un ensemble de bactéries qualifiées de PGPR (Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes) pour leurs effets stimulateurs de la croissance des plantes qu'elles colonisent. (Qureshi, 2012).

Les PGPR sont également très intéressantes en agriculture. Les plantes colonisées par ces bactéries expriment des phénotypes végétaux uniques qui montrent une augmentation de la masse des racines et des pousses, une meilleure absorption des nutriments et une atténuation du stress. De plus, les microbes peuvent fixer l'azote et le phosphate pour l'utilisation des plantes (Behl *et al.*, 2012 ; Calvo *et al.*, 2014 ; Moenne-Loccoz *et al.*, 2011).

Aujourd'hui les sols sont de plus en plus contaminés et moins fertiles. Ils sont exposés aux problèmes d'érosions, salinisation et manque de précipitations. Les recours à l'utilisation de bio-engrais à base de PGPR pourront être une solution durable prometteuse et respectueuse à l'environnement permettant aux plantes de survivre dans les conditions rudes ainsi d'augmenter leur rentabilité.

L'objectif de notre présente étude consiste à isoler et sélectionner les bactéries les plus performantes de la rhizosphère d'*Olea europea*, d'évaluer leur effet PGP au laboratoire tel que la production de phytohormones (acide indole acétique), fixation d'azote, solubilisation de phosphate, production d'HCN, de tester l'effet antagoniste vis-à-vis des champignons phytopathogènes puis expérimenter l'effet de leurs inoculations sur la germination de blé.

Pour bien structurer notre travail nous l'avons divisé en trois parties, la première représente une revue bibliographique rassemblant des sources documentaires sur la rhizosphère ainsi que les rhizobactéries favorisant La croissance des plantes (PGPR). La deuxième partie décrit les méthodes employées pour l'isolement et la caractérisation des rhizobactéries. La troisième partie présente et discute les résultats obtenus. Et enfin La conclusion finale exposera les grandes lignes de notre recherche.

**REVUE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1. Généralité sur la rhizosphère**

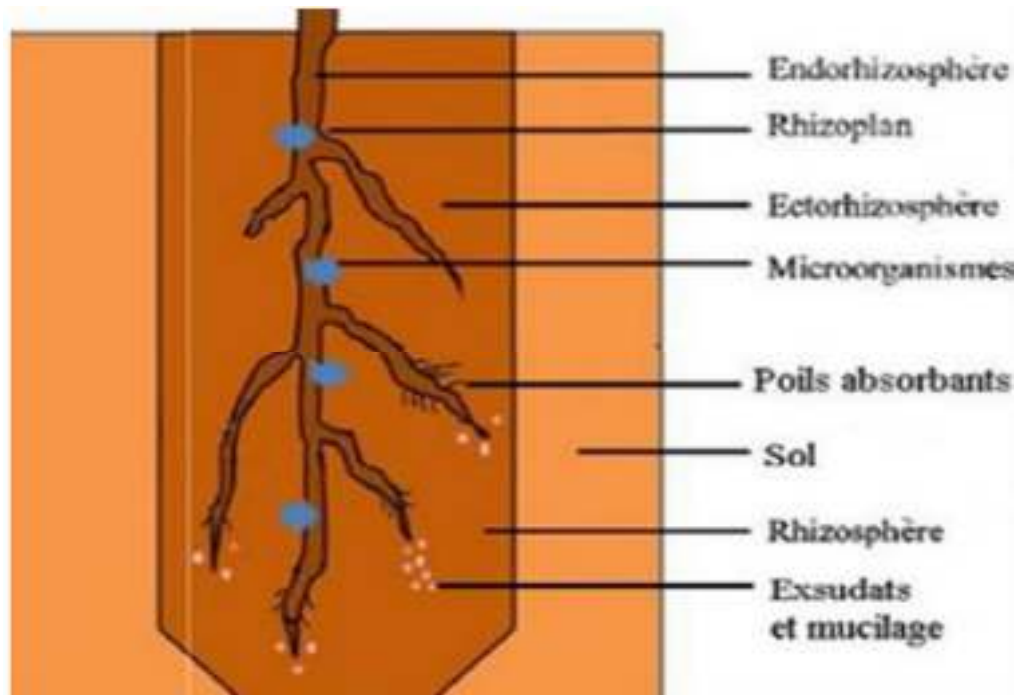
### **1.1. La rhizosphère**

La rhizosphère est la zone du sol entourant les racines des plantes où se produisent des interactions complexes avec les micro-organismes du sol et les minéraux. Il s'agit d'un écosystème microbien hautement dynamique et riche en nutriments dans lequel des micro-organismes bénéfiques tels que des bactéries, des champignons et des protozoaires jouent un rôle essentiel dans la santé des plantes (Philippot *et al.*, 2013). C'est un environnement chimiquement complexe qui abrite une communauté microbienne remarquablement diversifiée (Chepsergon et Moleleki, 2023)

Les micro-organismes de la rhizosphère interagissent avec les racines des plantes de diverses manières, notamment en aidant à la décomposition de la matière organique, en fixant l'azote atmosphérique, en dissolvant les minéraux du sol et en protégeant les plantes contre les agents pathogènes. Ces interactions favorisent la croissance et le développement des plantes en améliorant l'absorption des nutriments, en augmentant la résistance aux maladies et en favorisant la structure du sol (Donald *et al.*, 2003).

### **1.2. La compartimentation de la rhizosphère**

La rhizosphère relie les plantes et le sol, en fonction de la proximité de la racine, la niche écologique peut être classée en trois régions distinctes : la rhizosphère de sol, le rhizoplane et l'endosphère (Liang *et al.*, 2024). Ils sont définis comme suit : la rhizosphère est le sol près de la surface de la racine, le rhizoplane est la surface de la racine, et l'endosphère est la racine intérieure (Lan *et al.*, 2023). L'endosphère se compose de microbes qui vivent à l'intérieur des tissus végétaux pendant au moins une partie de leur cycle de vie. Les communautés microbiennes du rhizoplane et de l'endosphère sont affectées par la racine de la plante. Les microbes de la rhizosphère, du rhizoplane et de l'endosphère constituent le microbiote racinaire (Tang *et al.*, 2023).



**Figure 01** : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay, 2013)

### 1.3. La communauté microbienne de la rhizosphère

La communauté microbienne de la rhizosphère se réfère à l'ensemble des microorganismes notamment des bactéries, des champignons, des protozoaires et des virus, qui vivent dans la zone du sol directement affectée par les racines des plantes. Cette zone est caractérisée par une activité biologique intense en raison des nombreuses substances excrétées par les racines des plantes, telles que les sucres, les acides organiques et les composés phénoliques. Là où les microorganismes jouent un rôle crucial dans le cycle des éléments nutritifs du sol, en particulier dans la disponibilité des nutriments pour les plantes (Mendes *et al.*, 2013).

### 1.4. Les bactéries rhizosphériques

Les rhizobactéries, connues sous le nom de bactéries de la rhizosphère, peuvent coloniser les racines des plantes, que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur, et peuvent se diviser entre celles qui entretiennent une relation symbiotique avec la plante et celles qui ne le font pas. (Kloepper *et al.*, 1989).

Les rhizobactéries sont perçues comme des microorganismes microbiens efficaces dans la zone racinaire. L'association plante-microbe peut avoir un effet positif, neutre ou négatif sur la croissance des plantes. Certaines bactéries inhibent la croissance tandis que d'autres

la stimulent. Ces dernières sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). (Kloepper *et al.*, 1989 ; Zahir *et al.*, 2004 ; Peter *et al.*, 2015 ; Beauchamp, 1993).

## **2. Importance des Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)**

### **2.1. Les mécanismes d'action des (PGPR) sur la plante**

Les mécanismes d'action des PGPR ont été traditionnellement regroupés en mécanismes directs et indirects. La différence entre les deux n'est pas toujours évidente. Les mécanismes indirects sont, en règle générale, ceux qui se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et qui affectent directement son métabolisme (Antoun et Prévost, 2006).

#### **2.1.1. Les mécanismes directs**

Les Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) participent à augmenter la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ceci stimule directement le développement et la croissance de la plante, les mécanismes les plus importants sont cités ci-dessous.

##### **2.1.1.1. La fixation d'azote (N)**

L'azote constitue environ 2% de la matière sèche totale d'une plante est essentiellement nécessaire à la croissance des plantes. Les plantes ont besoin de N pour la synthèse d'acide nucléique, de protéines et d'enzymes (Bano et Iqbal, 2016). Bien qu'il y ait environ 78% de N<sub>2</sub> dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance (Kim et Rees, 1994).

Le N<sub>2</sub> atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique des bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim et Rees, 1994). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes ; symbiotiques et non symbiotiques (Munees et Mulugeta, 2014).

La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote (Kim et Rees, 1994).

### 2.1.1.2. La solubilisation du phosphate

Le phosphore est un autre élément important requis pour le développement de la plante (Malhotra *et al.*, 2018). Il est impliqué dans les aspects de la croissance des plantes, y compris la formation d'acides nucléiques, la synthèse des protéines, la croissance des tissus, la division cellulaire et la conversion énergétique (Mahler, 2004).

Cependant, les composés phosphatés sont disponibles sous une forme insoluble en agriculture. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agents bio fertilisants dans l'agriculture (Sharma *et al.*, 2007).

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes produisent des acides organiques, l'acidification du sol transforme le phosphore inaccessible en formes accessible pour la plante (Alori *et al.*, 2017). Plusieurs types de PGPR comme *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* et *Serratia* ont déjà été signalés comme solubilisant phosphatés (Raj *et al.*, 2014 ; Bechtaoui *et al.*, 2019 ; Maldonado *et al.*, 2020 ; Ahmed *et al.*, 2022) *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Burkholderia*, *Microbacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Erwinia*, et *Flavobacterium* sont parmi les genres bactériens les plus importants pour la solubilisation des phosphates du sol. (Bhattacharyya et Jha 2012).

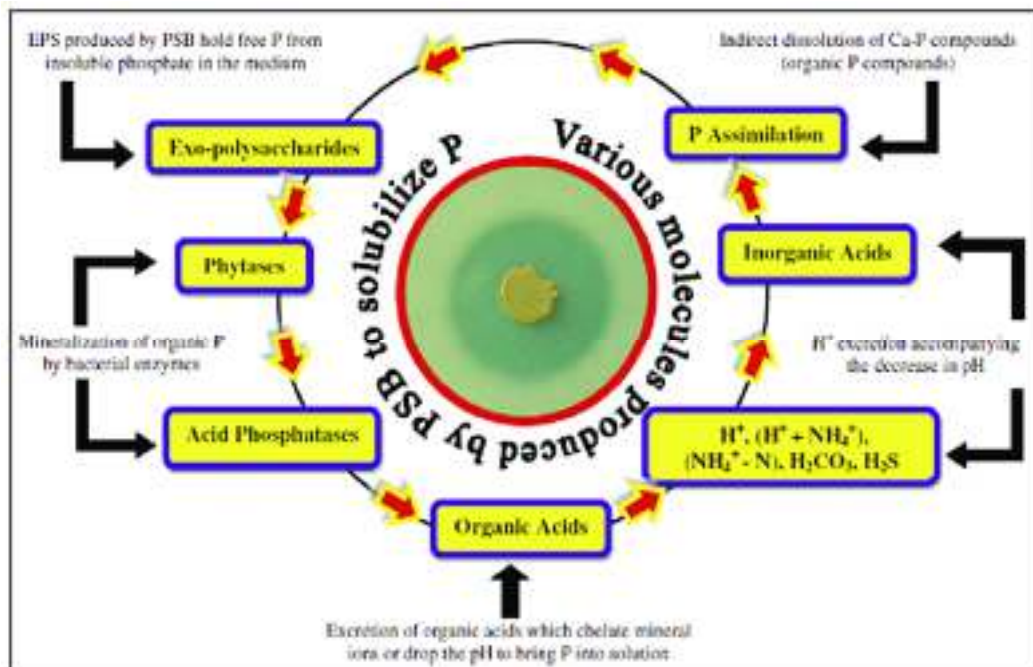


Figure 02 : Mécanismes d'actions des bactéries solubilisant les phosphates (Khan *et al.*, 2009)

### 2.1.1.3. La solubilisation du potassium

Les plantes ont également besoin de potassium comme macronutriment. Le potassium est essentiel pour le développement des plantes, à la fois biochimiquement et physiologiquement (Hasanuzzaman *et al.*, 2018). Cependant, la majorité des minéraux contenant du potassium se trouvent dans le sol sous une forme permanente qui sont difficilement exploités pour la plante (Khanna *et al.*, 2019).

Certains microorganismes rhizosphériques, comme les bactéries solubilisatrices du phosphore, solubilisent la forme insoluble du potassium et la libèrent sous une forme que la plante peut utiliser pour son propre développement et production (Wang *et al.*, 2020). Les PGPR utilisent divers procédés, y compris la chélation, excrétion d'acide organique, réduction, acidolyse et échange (Wang *et al.*, 2020). *Bacillus edaphicus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Burkholderia spp.*, *B. mucilaginosus spp.*, *Pseudomonas spp.*, et *Paenibacillus spp.* font partie de ces espèces microbiennes (Han et Lee, 2006).

### 2.1.1.4. La production de phytohormones

Les Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) produisent des phytohormones favorisent directement la croissance des plantes en modulant les niveaux endogènes d'hormones végétales, en augmentant l'absorption des nutriments et en améliorant la tolérance des plantes au stress (Kejela, 2024).

Elles peuvent synthétiser, ou moduler les concentrations de plusieurs phytohormones (Rehman *et al.*, 2020). Ces phytohormones sont très importantes parce qu'elles agissent comme des signaux de communication entre la plante hôte et sa microflore (Tsavkelova *et al.*, 2006). Elles sont des molécules de signal qui jouent un rôle important en tant que régulateurs au cours des différentes étapes de la croissance et du développement des plantes (Kang *et al.*, 2015).

Les principales phytohormones produites par les diverses rhizobactéries sont : L'acide indole-3-acétique (AIA), une hormone végétale clé impliquée dans la régulation de divers processus physiologiques, joue un rôle crucial dans la croissance et le développement des plantes (Kejela, 2024).

L'AIA sert de molécule de signalisation, influençant l'expression de gène dans diverses bactéries, soulignant son rôle critique dans les interactions rhizobactéries-plantes. Elle agit en tant que molécule de signalisation est associée aux mécanismes de défense des plantes contre diverses bactéries phytopathogènes (Ghosh *et al.*, 2024).

L'AIA peut être utilisée à la fois comme inhibiteur et comme stimulateur. La quantité d'AIA requise pour favoriser la croissance des plantes est fortement influencée par les types de plantes et de bactéries (Rehman *et al.*, 2020). Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en limitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines (Kloepper *et al.*, 2004).

### **2.1.1.5. La production de sidérophores**

Les sidérophores (sidéro = fer ; phoros = transport) (Rossum *et al.*, 1994) sont des métabolites chélatants du fer de faible poids moléculaire produits par plusieurs groupes de microorganismes rhizosphériques, y compris les bactéries et les champignons, et jouent plusieurs rôles fonctionnels dans des conditions limitant le fer (Shirvani et Yahaghi, 2022).

Le fer est un élément essentiel de croissance minérale pour la plante. Par conséquent, Fe<sup>3+</sup> doit d'abord être réduit en Fe<sup>2+</sup> avant d'être absorbé par la plante. Une fois le Fe<sup>3+</sup> chélaté à la surface de la racine, le complexe phytosidérophore-Fe est directement assimilé (Benaissa et History, 2019).

Les bactéries produisent fréquemment des sidérophores, Le sidérophore libère le Fe<sup>2+</sup> dans la cellule par un mécanisme de synchronisation qui relie les membranes interne et externe lorsque le complexe sidérophore-Fe<sup>3+</sup> présent sur la membrane des rhizobactéries il est réduit en Fe<sup>2+</sup> (Manzari *et al.*, 2024). Les *Pseudomonas spp.* Sont les bactéries les plus communes signalées pour produire sidérophores. Les sidérophores produits par les PGPR aident également dans la suppression des agents pathogènes de plante comme les champignons en limitant l'accès du fer à l'agent pathogène car le complexe de fer-sidérophore n'est pas absorbé par les champignons (Surojit, 2022).

## **2.2. Les mécanismes indirects**

### **2.2.1. L'antibiose**

L'antibiose est une activité antagoniste provoquée par des antibiotiques, résulte de l'activité de composants toxiques pour le pathogène (tel les phénazines ou le 2,4-diacetylphloroglucinol) synthétisé par les populations de Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). L'antagonisme microbien résulte à la fois de la compétition qui s'exerce en particulier pour les composés organiques du fait de la forte densité de microorganismes hétérotrophes dans l'environnement oligotrophe que constitue le sol. Elle s'exerce également pour le fer (Fe<sup>3+</sup>) qui est essentiel pour le métabolisme des plantes et

des microorganismes (surtout ceux qui sont aérobies) alors que sa biodisponibilité est faible dans les sols cultivés (Stengel *et al.*, 2009).

### **2.2.2. La résistance systémique induite (RSI)**

Certains PGPR induisent une résistance chez les plantes sous attaque des pathogènes, comme les champignons ou les nématodes, stimulant une réponse appelée résistance systémique induite ou RSI (Hyder *et al.*, 2023)

La résistance induite fait référence à la capacité améliorée d'une plante à se défendre contre une variété diverse de parasites après avoir été stimulé de façon appropriée (Kamal *et al.*, 2014).

La résistance systémique induite s'est avérée être induite par des microorganismes variés et plus particulièrement par des rhizobactéries. Celles-ci incluent des bactéries Gram+ ou des bactéries Gram- qui sont les plus étudiées dans le contexte de résistance systémique induite l'ISR. Ainsi, l'induction des rhizobactéries produisent un signal qui se propage de façon systémique à l'intérieur de la plante et augmente la défense, et la capacité des tissus d'éloigner l'infection causer par les agents pathogènes, (Jourdan *et al.*, 2008 ; Benhamou et Rey, 2012).

## **3. Exemples de Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)**

### **3.1. Les *Pseudomonas spp.* Fluorescents**

Les *Pseudomonas spp.* forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau. Ces bactéries Gram négatives, non sporulantes, sont des aérobies obligatoires, à l'exception de certaines pouvant utiliser le NO<sub>3</sub> comme accepteur d'électrons. Leur mobilité est assurée par plusieurs flagelles polaires, elles ont un métabolisme mésophile chimioorganotrophe, et la plupart étant des saprophytes (Bossis *et al.*, 2000).

Les *Pseudomonas spp.*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes. Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites à effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes phytopathogènes ou délétères (Kim *et al.*, 2004).

### **3.1.1. La production d'Acide Indole 3 Acétique (AIA)**

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acide indole 3-acétique (AIA) (Patten et Glick, 2002), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes en favorisant la croissance racinaire, l'augmentation du nombre des racines secondaires et les poils absorbants sont les principales raisons de l'amélioration du rendement (Khakipour *et al.*, 2008).

### **3.1.2. La solubilisation du phosphore**

Le phosphore est un élément essentiel pour les plantes, représentant jusqu'à 0,2 % de leur poids sec. Seulement 10 à 25 % du phosphore introduit sous forme d'engrais chimiques est utilisé par les plantes, car elles ne peuvent absorber que les phosphates inorganiques. La concentration de phosphates inorganiques dans le sol est généralement faible en raison de la présence majoritaire de phosphore sous des formes insolubles (Abouseud *et al.*, 2009 ; Park *et al.*, 2009).

Des bactéries telles que *Pseudomonas spp.* fluorescents ont la capacité de solubiliser le phosphore en produisant des acides organiques et des enzymes. Ces acides organiques abaissent le pH du sol, libérant ainsi le phosphore lié aux composés insolubles. Cette bactérie produit également des enzymes appelées phosphatases qui décomposent les composés organiques de phosphore en formes inorganiques absorbables par les plantes. Cela favorise la croissance des plantes en rendant le phosphore disponible pour leur absorption, améliorant ainsi la fertilité du sol (Guillou, 1994 ; Park *et al.*, 2009).

### **3.1.3. L'activité antagoniste**

Les *Pseudomonas spp.* Sont des colonisateurs massifs de la rhizosphère de diverses plantes cultivées et ont une activité antagoniste à large spectre contre les agents pathogènes des plantes. L'antibiose est une des activités par (la production de composés inhibiteurs). Certains *Pseudomonas spp.* Ont été reconnus comme antagonistes des pathogènes fongiques des plantes et des producteurs d'antibiotiques. Les *Pseudomonas spp.* fluorescents appartiennent aux rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), sont un groupe important de bactéries qui jouent un rôle majeur dans le contrôle biologique des agents pathogènes. (Ganeshan et Kumar, 2005)

La capacité de *Pseudomonas spp.* fluorescents à supprimer les pathogènes fongiques transmis par le sol dépend de leur capacité à produire des métabolites antibiotiques tels que

le pyrrolnitrine, la phénazine 1-acide carboxylique et 2, 4-diacétyl phloroglucinol(Koche *et al.*, 2013).

### **3.2. Les Actinobactéries**

Les actinobactéries sont des procaryotes fortement cosmopolites qui comprennent à la fois des bactéries en forme de bâtonnet et filamenteux. Le coefficient de Chargaff chez ces bactéries est élevé avec un GC% supérieur à 55%. La majorité des actinobactéries sont hétérotrophes et généralement mésophiles, saprophytes, aérobies stricts ou micro aérophiles. Quelques espèces sont considérées comme pathogènes pour l'homme et pour les plantes (Boukahili *et al.*, 2020). De nombreuses espèces ont été isolées à partir des environnements extrêmes (Ensinger *et al.*, 1993 ; Wattré *et al.*, 2001).

#### **3.2.1. Production d'Acide Indole 3 Acétique (AIA)**

Les actinobactéries ont des effets positifs pour le développement des végétaux ce qui favorisent la croissance des plantes en produisant des régulateurs de croissance. La production des phytohormones telles que les auxines, sont un groupe de composées possèdent un noyau indole. L'acide indole acétique (AIA) est le principale type d'auxines naturelles (Goudjal *et al.*, 2015). Il a un effet positif sur le développement de la plante, l'élongation, la formation des fruits, la réponse aux facteurs environnementaux comme les blessures et la lumière ainsi que le développement des organes (Chloe, 2006).

L'AIA peut agir comme régulateur endogène de la germination des spores de *Streptomyces* et peut être impliquée dans la différenciation des actinobactéries (Manulis *et al.*, 1994). Le genre *Streptomyces*, *Frankia sp*, *Nocardia sp*, *Kitasatospora sp*. Ont été largement étudiés en tant que producteurs d'AIA (Bhatti *et al.*, 2017).

#### **3.2.2. La solubilisation du phosphore**

Les bactéries solubilisatrices du phosphate (PSB), y compris Actinobactéries, pourraient augmenter la disponibilité du phosphate soluble par divers mécanismes tels que la production d'acide organique de faible poids moléculaire, ainsi que la production de groupes hydroxyle et carboxyle, servant d'agent chélatant des cations principalement le Sa liés au phosphate, les convertissant en formes solubles. D'autres actions sont impliquées, dites enzymatiques telles que la phosphatase et la phytase. Bien qu'il semble que l'action majeure d'actinobactéries aient enzymatique (Boukhatem *et al.*, 2022).

Les actinobactéries solubilisants le phosphate sont souvent associés à la production de régulateurs favorisant la croissance des plantes, augmentant l'efficacité de la fixation biologique de l'azote ou améliorant la disponibilité d'autres oligo-éléments tels que le fer.

### 3.2.3. L'activité antagoniste

Plusieurs microorganismes rhizosphériques agissent comme des biostimulants et présentent des propriétés antagonistes contre nombreux agents pathogènes (Djebaili *et al.*, 2021). L'antagonisme est défini comme un mécanisme d'action basé principalement sur l'activité inhibitrice directe entre deux microorganismes (Bhatti *et al.*, 2017). Les actinobactéries sont connus pour leur grand potentiel de production de métabolites secondaires, et ces caractéristiques pourraient contenir diverses enzymes et effets antagonistes (Dede *et al.*, 2020). Ils sont des producteurs de métabolites spécialisés, parmi lesquels de nombreux antibiotiques. D'autres actinobactéries ont été signalés pour inhiber le développement d'un large éventail de champignons phytopathogènes (Abdelrahman *et al.*, 2022).

La grande majorité des antifongiques naturels est synthétisés par les *Streptomyces* qui sont bien connues comme agents de biocontrôles inhibant plusieurs champignons pathogènes (El-Tarabily *et al.*, 2000). Celles-ci produisent environ 8700 antibiotiques (berdy *et al.*, 2005). Ainsi que de nombreux métabolites secondaires tels que les inhibiteurs enzymatiques (Bekmukhamedova *et al.*, 2023).

## 4. L'olivier *Olea europea* L. une espèce à multiples intérêts socioéconomiques

### 4.1. Caractères généraux

L'olivier ou *Olea europea* L. est un arbre méditerranéen par excellence, se distingue des autres espèces fruitières par sa grande longévité et également par sa grande rusticité qui lui permet de se développer et de fructifier même sous des conditions d'environnement extrêmes, C'est un arbre à grand développement, à feuilles persistantes, avec un tronc de 1.5 à 2 m de diamètre et d'une hauteur qui peut dépasser 10 à 15 mètres (Loussert et Brousse, 1978).

### 4.2. Taxonomie

L'espèce *Olea europaea* L. est nommée par Linné en raison de son aire géographique. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea* et la seule espèce portant des fruits comestibles. (Green et wickens, 1989).

Argenson et al (1999) ont adopté la classification suivante :

Embranchement : *Spermaphytes*.

Sous-embranchement : *Angiospermes*.

Classe : *Dicotylédones*.

Sous-classe : *Terebinthales*.

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Oléacées*.

Sous-famille : *Oleoidées*.

Genre : *Olea L.*

Espèce : *Olea europaea L.*

Sous-espèce : *Olea euromediterranea*.

Variété : *sativa*.

### **4.3. Distribution dans le monde**

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (Benhayoun et Lazzeri, 2007).

### **4.4. Distribution en Algérie**

L'oléiculture est la première richesse arboricole de l'Algérie. Elle constitue une source de subsistance pour de nombreuses familles. L'oliveraie occupe 45% du verger arboricole total et compte 32 millions d'arbres dont 80% sont destinés à la production d'huile d'olive (Mendil, 2009). La superficie oléicole algérienne a connu une légère progression en 2014 passant de 348196 ha en 2013 à 383443 ha, soit une évolution de 10%. La production d'huile d'olive, quant à elle, est passée de 429 980 hl en 2013 à 479700 hl en 2014, soit une évolution de 11.5%. L'Algérie se place ainsi au 8ème rang mondial (Cheikh, 2016).

### **4.5. Intérêt économique**

L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques

extrêmement importantes. (Djenane, *et al.*, 2012). La production de l'huile d'olive est une activité économique et socio industrielle très importante pour les pays de la région méditerranéenne (Baeta-Halla *et al.*, 2005 ; Albuquerque *et al.*, 2007). Elle est l'une des huiles végétales les plus anciennes et la seule qui peut être consommée sous sa forme brute sans traitement préalable. Ces bienfaits ont été liés l'un ou l'autre à sa composition en acides gras, où l'acide oléique est le composant principal et/ou à la présence des biomolécules mineures, telles que les vitamines et les antioxydants naturels (Bedjaoui et Bensalem, 2012) L'huile d'olive joue aussi un grand rôle dans la prévention et le ralentissement de l'apparition du diabète sucré. La consommation d'huile d'olive prévient la résistance à l'insuline et ses éventuelles conséquences négatives (Berra *et al.*, 1980).

#### **4.6. Intérêt écologique**

L'olivier est peu exigeant en matière de sol, il pousse pratiquement tout autant sur des sols siliceux que calcaires (Civantos, 1998). Le potassium est l'élément qui est le plus difficile à maintenir à un niveau adéquat pour le développement de la culture d'olivier (Martinez et Sanchez, 1975). Chez cet arbre, le potassium revêt une importance majeure, il intervient dans la nutrition de l'arbre, notamment, en période de pleine croissance végétative. Le phosphore joue un rôle déterminant sur le développement racinaire (Argenson *et al.*, 1999). Les besoins les plus importants en phosphore pour l'olivier se situent lors des processus de floraison et de développement des fruits (Boulila, 2001).

#### **4.7. La rhizosphère d'olivier**

La rhizosphère des plantes présente un intérêt particulier en tant que source et de diversité en Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Les relations de la plante avec cette communauté bactérienne sont mutuelles, ce qui peut aider l'arbre à résister au stress toute l'année. La rhizosphère d'olivier, peut représenter un réservoir pertinent de Plant Growth Promoting Rhizobacterie (PGPR). Il est pr

ossible que l'adaptabilité de cet arbre soit également due à l'interaction avec ces microorganismes bénéfiques du sol (Schillaci *et al.*, 2022). L'olivier possède un système racinaire puissant et son développement dépend des caractéristiques physiques et chimiques du sol, des réserves d'eau et l'aération du sol et du type de reproduction (Loussert et Brousse, 1978). Par conséquent, la rhizosphère est un environnement extrêmement dynamique où les

plantes et les micro-organismes s'influencent mutuellement les uns les autres. (Schillaci *et al.*, 2022)

### **4.8. Les microorganismes rhizosphériques d'olivier**

La grande majorité du microbiote associé à l'olivier doit être composée de micro-organismes fournissant des effets positifs à l'hôte. Le champignon *Verticillium dahliae* Kleb., causant le flétrissement *verticillium* de l'olivier représente une menace majeure dans de nombreuses régions où cet arbre est cultivé (Cabanás *et al.*, 2018). Certaines souches de *Pseudomonas spp.* sont très compétentes pour coloniser la rhizosphère d'olivier (Lugtenberg *et al.*, 2001). Elles sont aussi capables de supprimer les effets délétères causés par différents agents pathogènes (Cabanás *et al.*, 2018). *Actinophytocola*, *Streptomyces* et *Pseudonocardia* sont les genres bactériens les plus abondants dans l'endosphère des racines de l'arbre, elle peut jouer un rôle important dans son adaptation à l'environnement (Fernández-González *et al.*, 2021).

# MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Prélèvement des échantillons

Notre travail a été initié par un isolement et une purification des isolats d'actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents d'un sol de la rhizosphère d'olivier (*Olea europea*).

L'échantillonnage a été effectué dans la pépinière du Groupe Génie Rural ERGR Aurès Kais-wilaya de Khenchela le 08 février 2024.



**A** : Groupe Génie Rural ERGR Aurès Kais-Khenchela. **B** : Champ d'oliviers. **C** : la rhizosphère de l'olivier.

#### Photographie 01 : Site des prélèvements des échantillons.

A l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol ont été écartés, après des prélèvements d'échantillons du sol rhizosphérique de 50 à 100g a une profondeur entre 20 et 30 cm ont été effectués. Les différents échantillons ont été déposés dans des flacons stériles puis transférés au laboratoire pour un prétraitement.

Un amas d'échantillons par la suite a été mélangé puis séché et divisé en 3 lots :

- 1-Un lot sans traitement pour isolement de *Pseudomonas spp.* fluorescents.
- 2-Un lot a été mélangé avec 1% de Ca Co<sub>3</sub> pour favorise la sporulation des actinobactéries.
- 3- Le dernier lot sans traitement pour analyse physicochimique.

### 2. Analyse physicochimiques du sol

#### 2.1. Dosage de calcaire total (calcimètre de BERNARD)

Le dosage du calcaire total est réalisé par la méthode du calcimètre de Bernard selon Soltner (2005).

### **2.2. Mesure du pH**

Selon AFNOR (1999) et Soltner (2005), la mesure du pH a été effectuée avec un pH mètre (HANNA) sur une suspension de terre fine et eau distillée, le rapport terre/liquide étant de 1 / 5.

### **2.3. La conductivité électrique (CE)**

La mesure de la conductivité électrique permet d'obtenir rapidement une estimation de la teneur globale en sels dissous. Mesuré au Conductimètre (OHAUS) à partir de l'extrait de sol dont le rapport (terre/eau distillée) est de 1/5 (Aubert, 1978).

### **2.4. La teneur en azote (méthode de KJELDAHL)**

Dosage d'azote total par méthode de Kjeldahl (AOAC, 1999 ; 1995 ; 1999) La méthode de Kjeldahl comporte trois étapes principales successives :

A- Minéralisation d'azote organique en azote minéral en présence d'un acide concentré.

B-Distillation d'azote minéral formé, qui sera déplacé en présence de la soude puis récupération dans une solution standard.

C- La titration d'azote ainsi recueilli est titrée par un acide ayant une normalité connue.

### **2.5. Dosage du carbone organique et matière organique (méthode de ANNE)**

Le dosage consiste à déterminer le pourcentage du carbone organique et le pourcentage de la matière organique qui conditionne les propriétés physico-chimiques du sol et de la croissance des plantes (Annexe 02) (Annexe 03).

Le carbone organique est oxydé par du bichromate de potassium en milieu sulfurique. L'excès de bichromate de potassium est titré par une solution de sel de Mohr, en présence de diphenylamine dont la couleur passe du bleu foncé au bleu vert (Aubert, 1978).

## **3. Isolement et purification des bactéries rhizosphériques**

### **3.1. Isolement des actinobactéries**

L'isolement des actinobactéries a été réalisé sur milieu amidon-caséine (SCA) (Annexe 01) (Jean et Guy, 2014) le pH du milieu est ajusté à 7,2 et stérilisé à 120°C pendant 20 minutes.

### 3.1.1. Préparation des solutions mère du sol et des échantillons

À partir des échantillons de sol, 10g de sol a été homogénéisé avec 90ml d'eau physiologique stérile pendant 5 minutes à température ambiante, cette suspension est considérée comme étant la solution mère ( $10^{-1}$ ).

Des dilutions décimales ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) ont été réalisées dans 9ml d'eau physiologique stérile (Daur *et al.*, 2018).

### 3.1.2. Ensemencement et incubation

À l'aide d'une micropipette, 0,1 ml de chaque dilution ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) ont été prélevées puis étalées à la surface du milieu amidon caséine solide. Les boîtes de pétri portant les indications nécessaires (dilution, type du milieu de culture, la date) sont ensuite incubées à 30° C pendant une semaine.

### 3.1.3. Repiquage et purification des isolats

La purification des isolats d'actinobactéries est une étape essentielle dans notre travail, elle permet d'obtenir des colonies bien isolées et pures. Pour obtenir ces colonies, nous avons ensemencé successivement des boîtes de Pétri coulées dans un milieu Bennett (Annexe 01) (Boussaber *et al.*, 2012). L'ensemencement a été réalisé par la méthode de strie par épuisement pour chaque isolat. Ensuite, ces boîtes ont été incubées à une température de 30°C pendant 24h.

## 3.2. Isolement des *Pseudomonas spp.* Fluorescents

L'isolement des *Pseudomonas spp.* fluorescents a été réalisé sur milieu King B (Annexe 01), le pH du milieu est ajusté à 7,2 et stérilisé à 120°C pendant 20 minutes (Martinneau, 1996).

### 3.2.1. Préparation des solutions mère du sol et des échantillons

Après avoir homogénéisé 10g de sol avec 90ml d'eau physiologique stérile pendant 5 minutes à température ambiante, une suspension a été obtenue considérée comme la solution mère ( $10^{-1}$ ).

Des dilutions décimales ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) ont été préparées en ajoutant respectivement 1ml de la solution mère à 9ml d'eau physiologique stérile. Ces dilutions ont pour objectif de réduire la concentration initiale des micro-organismes présents dans l'échantillon tout en préservant leur proportionnalité (Daur *et al.*, 2018).

### 3.2.2. Ensemencement et incubation

Pour l'ensemencement et de l'incubation des *Pseudomonas spp.* fluorescents, nous avons utilisé une pipette pasteur stérile en forme de râteau, 0,1 ml de chaque dilution ( $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ ) ont été étalée à la surface d'un milieu gélosé (King B). Par la suite, les boîtes de Pétri, sont étiquetées et renseignées avec les informations essentielles, puis incubées à une température de  $30^{\circ}\text{C}$  pendant une durée de 3 jours.

### 3.2.3. Repiquage et purification des isolats

La purification des *Pseudomonas spp.* fluorescents est une étape indispensable afin de garantir l'obtention de colonies isolées et pures, pour cela un ensemencement successif des boîtes de Pétri coulées avec un milieu King B a été effectué. Chaque isolat a été ensemencé selon la méthode de strie d'épuisement. Par la suite, ces boîtes ont été incubées à une température de  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures (Martinneau, 1996).

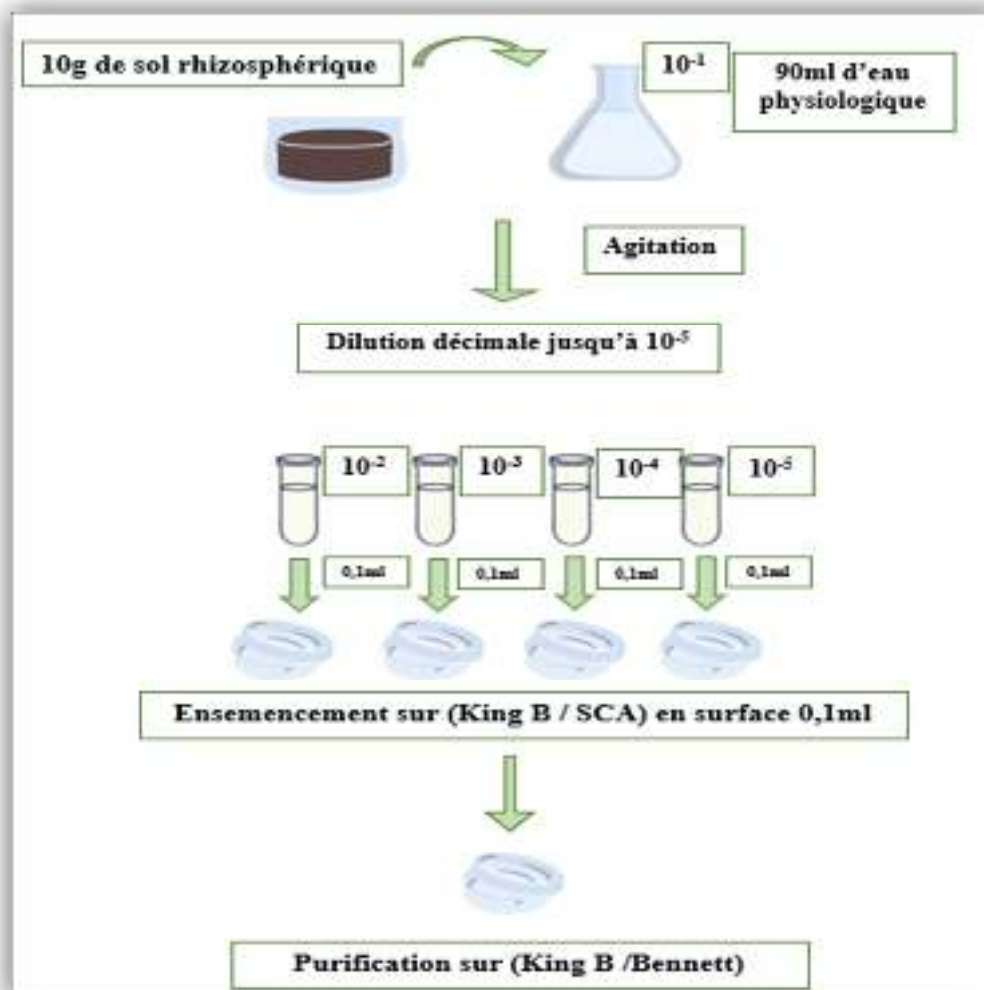


Figure 03 : Isolement et purification des isolats

### 4. Conservation des isolats

#### 4.1. Conservation de courte durée

La méthode de conservation des isolats consiste à les repiqués en tube sur gélose Bennett inclinée pour actinobactéries et King B pour *Pseudomonas spp.* Puits incubés 3 jour et conservées à 4°C (Botton *et al.*, 1990).

#### 4.2. Conservation de longue durée

Les isolats sont repiqués dans des cryotubes avec milieu Bennett pour les actinobactéries et King B pour les *Pseudomonas spp.* fluorescents additionnés de glycérol (50/50%), puits incubés 3 jour et conservées à - 4°C.

### 5. Caractérisation et identification des actinobactéries et *Pseudomonas spp.* Fluorescents

#### 5.1. Caractérisations microscopiques

D'après William et al (2010), les bactéries peuvent être groupées en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram. Cet examen est fait sur des frottis minces préparés à partir de colonies de chaque isolat obtenu, ces frottis sont colorés, après observation à l'aide d'un microscope optique à grossissements (x100), ce dernier permet de remarquer les formes morphologiques des différentes bactéries et indiqué le Gram + et Gram-.

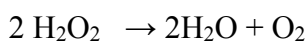
✓ Les actinobactéries « Gram positif » gardent leur coloration violette après décoloration par l'alcool.

✓ Les *Pseudomonas spp.* fluorescents « Gram négatif » décolorées par l'alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent en rose.

#### 5.2. Caractérisation biochimique

##### 5.2.1. Recherche de catalase

Cette enzyme permet la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air



Cette réaction est mise en évidence simplement par contact de la culture avec une solution framl

îche de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle

traduit la décomposition de dioxygène le test catalase est alors positif. Dans le cas où il n'y a pas de bulles, le test est négatif (Delarras, 2007).

### **6. Mesure de quelques paramètres améliorant la croissance des plantes (PGP)**

#### **6.1. Production d'HCN**

La capacité de nos isolats à produire l'acide cyanhydrique (HCN) est effectuée selon la méthode de Bakker et Scguppers (1987), sur les milieux King B et Bennett additionnées de glycine (4,4g/l). Les isolats sont ensemencés par stries sur la gélose en boîtes de pétri. Un disque de papier Whatman N1 de 9 cm, de diamètre imprégné d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium anhydre) est déposé au fond du couvercle de la boîte. Celle-ci est scellée avec du papier parafilm et incubée à 30°C pendant 96 h. Le résultat positif se traduit par le virage du papier Whatman du jaune vers une couleur orange à marron indiquant la production de HCN volatile.

#### **6.2. Solubilisation du phosphate**

La caractérisation de la communauté bactérienne (actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents) minéralisant le phosphore a été appréhendée à partir d'une approche basée sur la culture de ces microorganismes. Cette étape s'est faite sur le milieu NBRIP (Annexe 01) additionné a un indicateur de pH (bleu de bromophénol) (Singh *et al.*, 2014). Et incubé à 30°C/48h.

La formation d'un halo autour des colonies et acidification du milieu indiquent une activité de solubilisation du phosphate.

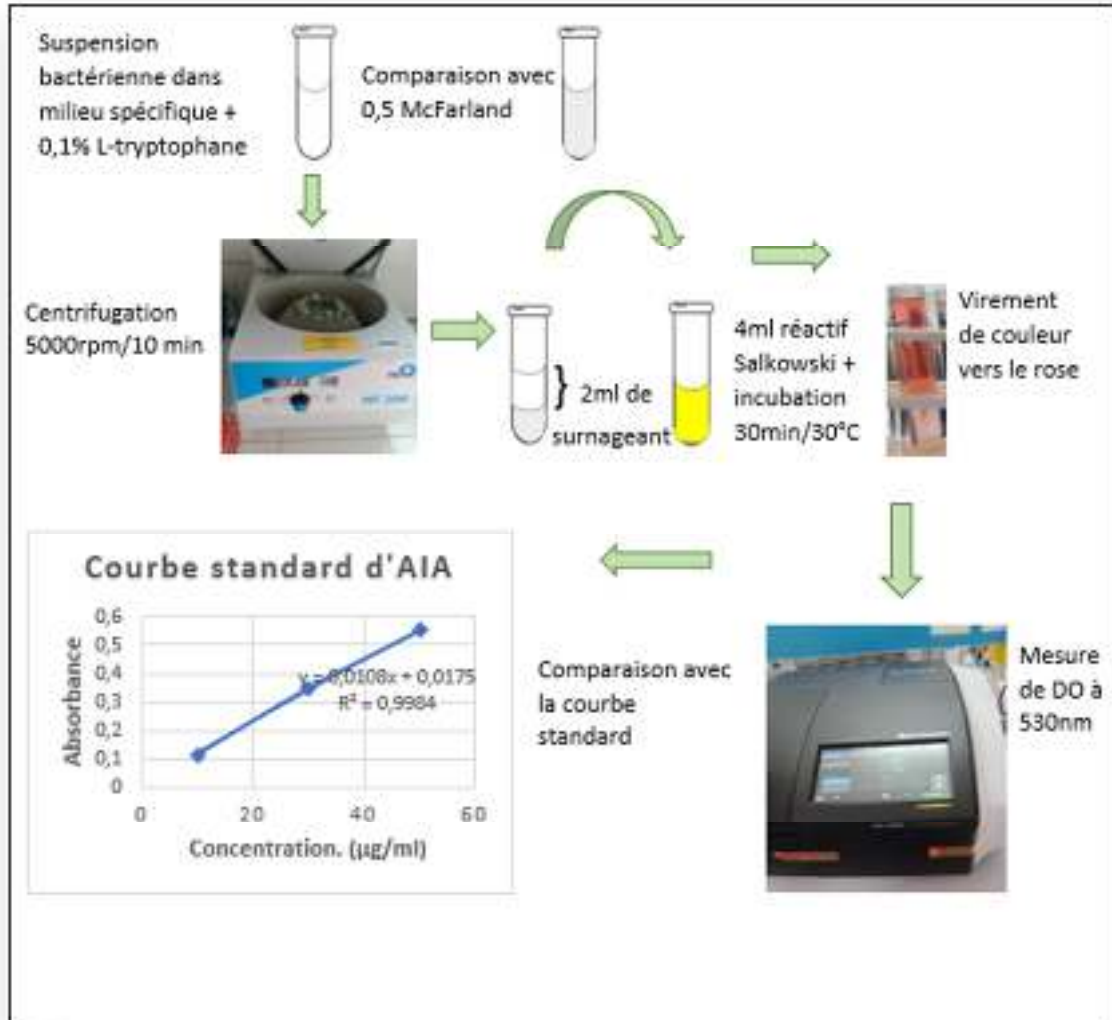
#### **6.3. Fixation d'azote**

La fixation d'azote moléculaire a été testée sur milieu solide exempt d'azote. Le milieu Winogradsky (Annexe 01) (WS) au sel est ensemencé à partir des cultures bactériennes est incubé à 30°C/48h. Toute croissance des actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents sur ce milieu traduit la capacité de ces bactéries à fixer l'azote.

#### **6.4. Production d'acide indole 3-acétique**

La production de l'AIA est testée sur milieu Bennett pour les actinobactéries et King B pour les *Pseudomonas spp.* fluorescents additionnés de tryptophane (1%). Le milieu est ensemencé par 100 µl des cultures bactériennes incubées à 30°C/96 h. Le dosage colorimétrique est réalisé selon la méthode de Loper et Scroth (1986). Les cultures sont

centrifugées à 5000 Tr/ 10min. 2ml du surnageant est additionné de 2 ml du réactif de Salkowski (Annexe 01) (50ml d'acide perchlorique 35% et 1ml de FeCl<sub>3</sub> à 0.5 M). La DO est mesurée à 530 nm après 30 mn d'incubation à 30°C.



**Photographie 02** : Technique de mesure de la production d'acide indole 3-acétique

### 6.5. Effet antagoniste

La détermination de l'effet antagoniste des actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents contre les champignons phytopathogènes est effectuée sur milieu Potato Dextrose- Agar (PDA). Les souches fongiques testées sont : *Alternaria sp.*, *Aspergillus niger*,

*Aspergillus sp.* Et *Penicillium sp* Elles proviennent d'une collection du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie- Université Abbes Laghrour Khenchela) en utilisant la méthode des disques d'agar et des disques de mycélium fongique décrite par Patel et Brown (1969). Un disque de gélose de 6mm de diamètre de la culture de chaque champignon est déposé au centre de la gélose PDA d'une manière aseptique. Un disque de 6mm d'une préculture bactérienne de chaque isolat d'actinobactéries et *Pseudomonas spp.* Est déposée à une distance de 3 cm de la souche fongique. Les boîtes seront incubées à 28°C pendant 72h. L'effet antagoniste sera révélé lors d'apparition d'une zone d'inhibition du champignon. La zone d'inhibition sera mesurée par la suite à l'aide d'une règle (Patel et Brown, 1969).

### **7. Effet des isolats sur la plante**

Le test de germination a été réalisé dans le but de détecter l'activité stimulatrice ou inhibitrice des souches rhizobactériennes sur les graines du blé ou *Triticum durum*.

#### **7.1. Désinfection des graines**

La désinfection superficielle des graines de blé (*Triticum durum*) a été réalisée par trempage dans l'hypochlorite de sodium à 9° pendant 10 minutes. Un rinçage abondant à l'eau distillée stérile est effectué, puis trempage pendant 30 secondes dans l'éthanol suivi par plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile (Kirdi, 2011).

#### **7.2. Inoculation des graines**

Les graines de blé sont mises dans des boîtes de pétri à mesure de 10 graines par boîtes, qui sont inoculées par la suite avec 30 µl de chaque suspension bactérienne testée sur gélose nutritive (GN). La mise en croissance est effectuée par incubation à 30 C° pendant 96 h. le taux de germination, le taux de mortalité ont été mesurés par la suite (Kirdi, 2011).

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

## 1. Analyses physico-chimiques du sol

Le tableau 01 démontre les résultats de l'analyse physicochimique du sol de la rhizosphère de l'olivier *Olea europea*, le taux de chaque paramètre est déterminé comme suit :

**Tableau 01** : Analyses physico-chimiques du sol étudié.

Paramètre	PH	C.E (mS/cm)	C.T%	N%	C%	M.O%
Valeur	8,43	0,261	35,7	2,2	1,1	2,21

### 1.1. Calcaire total

Le taux de calcaire totale du sol rhizosphérique étudié est de 35,7% (Annexe 02). Par comparaison des valeurs obtenues à celles signalées par Baize (1988), (Annexe 03), nous constatons que le sol étudié est fortement calcaire.

### 1.2. Mesure du pH

La valeur obtenue dans la mesure du pH dans la solution du sol est 8.43 (Figure 06). Selon l'échelle d'interprétation du pH signalé par Gagnard et al (1988) (Annexe 03), le sol étudié est un sol alcalin. Cela peut avoir une influence sur le type de la communauté bactérienne de la rhizosphère qui pourra être alcalophiles ou alcalotolérante plus que d'autres type bactériens (Dixit *et al.*, 2020).



**Photographie 03** : mesure du pH

### 1.3. La conductivité électrique

Un sol est considéré salé, lorsque la conductivité électrique de l'extrait saturé est supérieure à 4 mS/cm à 25°C (Durand, 1983).

La valeur obtenue pour le paramètre de la conductivité électrique est 0,261 mS/cm, on peut dire que le sol étudié est non salé.

### 1.4. La teneur en azote

Selon bouhidel (2006) le sol est très riche avec :  $N > 0.25\%$ .

La teneur d'azote obtenu est 2,2% donc on peut dire que le sol est très riche en azote. Cela peut être dû aux pratiques culturales des cultivateurs dans le site (par amendement), ou l'activité de des bactéries rhizosphériques qui contribuent fortement la fixation d'azote.



**Photographie 04 :** Etapes de la méthode de Kjeldahl pour dosage d'azote

### 1.5. Dosage du carbone organique et matière organique

Le pourcentage de carbone organique obtenue est de 1,1% (Annexe 02)



**Photographie 05 :** Dosage du carbone organique

On admet que la matière organique représente deux fois la masse de Carbone (Dabin, 1970). Alors le pourcentage en matière organique du sol est : 2,21% (Annexe 02).

Selon l'échelle d'interprétation de la matière organique (Annexe 03) le sol étudié est moyennement riche en matière organique. La richesse du sol en matière organique est en relation proportionnelle à la production des exsudats racinaires ainsi que l'activité des microorganismes rhizosphériques (Balesdent *et al.*, 2011).

### 2. Isolement des rhizobactéries qui ont un effet PGP

#### 2.1. Isolement et caractérisation des actinobactéries

Pour l'isolement des actinobactéries à partir de la rhizosphère d'*Olea europea*, nous avons utilisé le milieu solide amidon caséine agar. Après 14 jours d'incubation à 30°C nous avons obtenu 4 isolats. Celles-ci étaient sélectionnées selon l'aspect culture des bactéries.

Dans notre travail un nombre peu important d'actinobactéries a été enregistré sur ce milieu. Cela peut être dû au type du sol ou aux pratiques agricoles sur le sol (Yadav *et al.*, 2018). Un prétraitement des échantillons du sol par incubation à la chaleur, au phénol et utilisation de combinaison d'antibiotiques en plus de CaCo<sub>3</sub> pourra augmenter significativement le nombre d'actinobactéries isolées avec moins de contamination (Shivabai et Gutte, 2019 ; Balagurunathan *et al.*, 2020). Plusieurs équipes comme Lakshmiathy (2010), Sudhanshu (2011), Palaniyandi (2013), ont pu isoler un nombre important d'actinobactéries en utilisant la gélose à l'amidon caséine.

##### 2.1.1. Caractérisation macroscopique

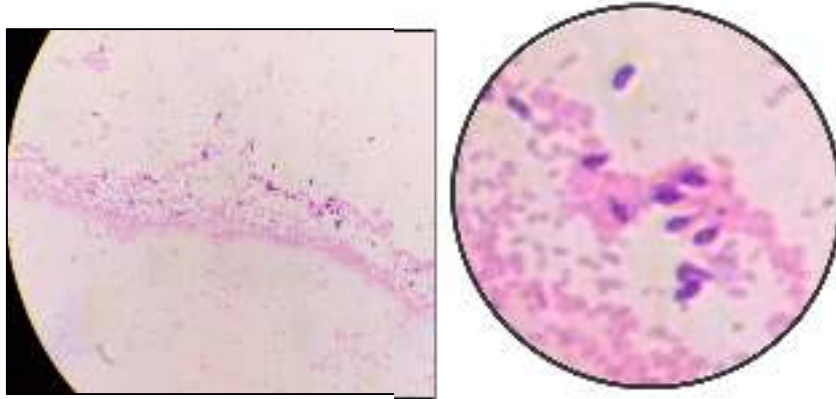
Les colonies d'actinobactéries obtenues sont rondes, opaques et présentent un contour irrégulier. Elles adhèrent à la surface de la gélose et présentent un aspect poudreux dans la gélose. L'observation du revers de la colonie (dos de la boîte de Pétri) permet de déterminer mycélium de substrat qui est de couleur différente : blanc, marron foncé, gris, noire (Messaoudi, 2003).



**Photographie 06** : Isolat d'actinobactérie après purification.

### 2.1.2. Caractérisation microscopique

Après observation des lames colorée avec coloration de Gram au microscope optique à l'objectif à immersion Gx100, il s'est révélé que les isolats d'actinobactéries sont toutes filamenteuses à Gram positive (Photographie 07)



**Photographie 07 :** Observation microscopique d'actinobactérie après coloration de Gram (G100x)

### 2.2. Isolement et caractérisation *Pseudomonas spp.* Fluorescents

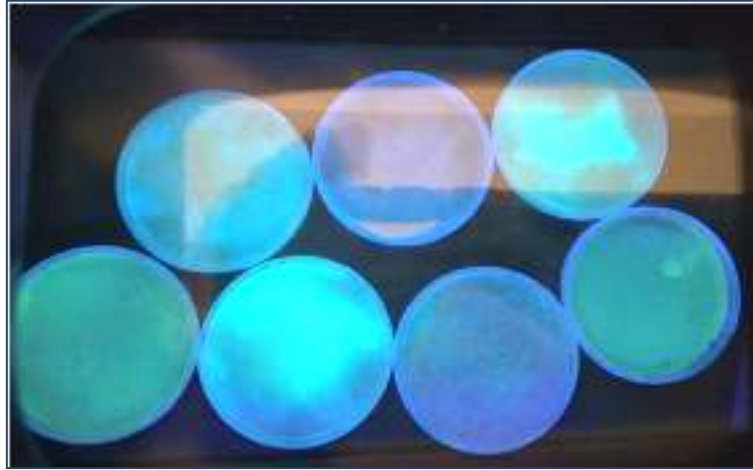
Huit isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont été isolés de la rhizosphère d'*Olea europea* en utilisant des séries de dilution sur milieu gélosé de King B. Ce nombre est inférieur à ceux trouvés dans les travaux d'Ali et al (2014) mais qui est important par rapport au nombre d'isolats par site d'échantillonnage.

L'identification des isolats a été réalisée en se basant sur les caractères culturels et physiologiques proposés par le manuel de la systématique bactérienne de Bergey rapporté par Palleroni (2015).

#### 2.2.1. Caractérisation macroscopique

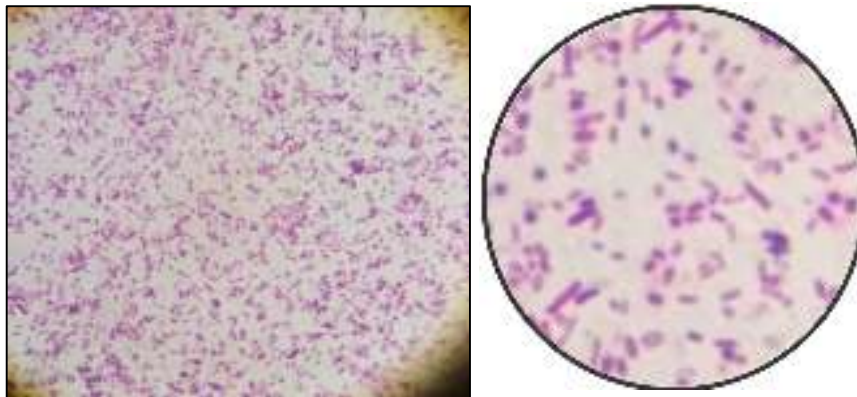
L'apparition des colonies avec couleur jaune-vert a mis en évidence la production du pigment pyoverdine sur milieu King B sous lumière UV (Photographie 08), les résultats montrent que 50% des bactéries ont présentés une fluorescence bleu-vert contre 50% sans fluorescence. Cette fluorescence pourrait être indicatrice de l'appartenance des bactéries à l'espèce *Pseudomonas fluorescens*.

La pyoverdine joue pour la bactérie le rôle d'un sidérophore : molécule captant les ions fer ferrique fondamentale pour la croissance des bactéries (Tourkya *et al.*, 2009).



**Photographie 08** : Détection du pigment pyoverdine sur milieu « King B » sous lumière UV.

### 2.2.2 Caractérisation microscopique



**Photographie 09** : Observation microscopique de *Pseudomonas spp.* fluorescents après coloration de Gram (G100x).

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas spp.* fluorescents sont parmi les bactéries à Gram négatif les plus abondantes dans la rhizosphère (Kaioua *et* Grairi, 2015) (Photographie 09). D'où leur nombre important dans la rhizosphère ce qui confirme les résultats de nos recherches.

**Tableau 02 :** Caractères phénotypiques et biochimiques des isolats de *Pseudomonas spp.* Fluorescents.

Caractères	Description
Test Gram	Gram-
Forme cellulaire	Bacilles
Production de pyoverdine	Fluorescence+
Catalase	+
Croissance 4°C	+
Croissance 42°C	-

### 2.3. Recherche de catalase

Les résultats obtenus montrent que les isolats *Pseudomonas spp.* fluorescent et actinobactéries sont catalase positive ; une réaction positive est indiquée par le dégagement des bulles d'oxygène immédiatement lorsque la bactérie est exposée au peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Photographie 10). Donc les isolats possèdent l'enzyme de la catalase qui accélère la décomposition de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau (H<sub>2</sub>O) et en oxygène (O<sub>2</sub>) (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985).

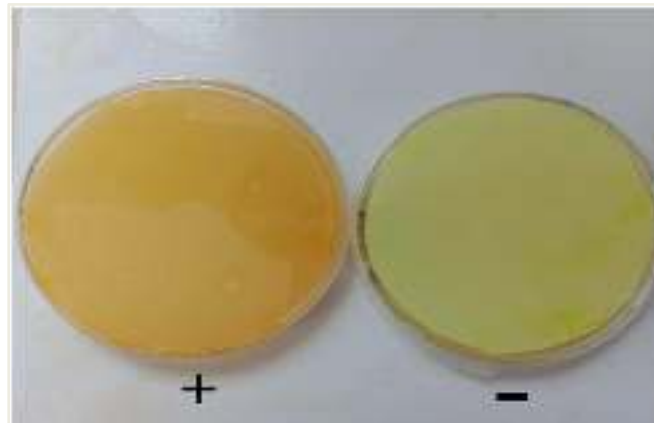


**Photographie 10 :** Test catalase positif des isolats d'actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescent.

### 3. Recherche d'activités améliorant la croissance des plantes, effet PGP

#### 3.1. Production d'HCN

Tous nos isolats à savoir les actinobactéries et les *Pseudomonas spp.* fluorescents ont produit l'HCN. Sa production s'est traduite par une couleur orange dont l'intensité varie selon le taux d'HCN produit (Photographie 11)



**Photographie 11** : Photo qui montre la production d'HCN

(+) Résultat positif / (-) Résultat négatif

**Tableau 03** : Résultats de production d'HCN de *Pseudomonas spp.* fluorescent.

Activité	Souche	Psd	Psd	Psd	Psd	Psd	Psd	Psd	Psd
		01	02	03	04	05	06	07	08
Production d'HCN		+	+	+	+	+	+	+	+

Résultat positif (+)

**Tableau 04** : Résultats de production d'HCN sur les isolats d'actinobactéries.

Activité	Souche	Act	Act	Act	Act
		01	02	03	04
Production d'HCN		+	+	+	+

Résultat positif (+)

Sur la base des résultats obtenus, il s'avère que les isolats d'actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents possèdent une production de HCN. La production de l'HCN est constatée chez tous les isolats (100%), Ces résultats sont similaires aux résultats de Heydari et ses collaborateurs (2008) et d'Avinash et Rai (2014). Mais semble supérieur aux résultats obtenus par Saharan et Nehra (2011). Les isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont été identifiées autant que grands producteurs d'HCN.

### 3.2. Solubilisation de phosphate

Le principal mécanisme reconnu comme responsable de la solubilisation du phosphate est la production de différents types d'acides organiques comme un mécanisme majeur de la libération du phosphore des structures d'hydroxyapatite (Miloud, 2018).



**Photographie 12 :** photographie montrent les résultats de solubilisation de phosphate

**Tableau 05 :** Résultats de solubilisation sur les isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescent.

Souche	Psd 01	Psd 02	Psd 03	Psd 04	Psd 05	Psd 06	Psd 07	Psd 08
Activité								
solubilisation de phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) Résultat négatif

**Tableau 06 :** Résultats de solubilisation de phosphate sur les isolats d'actinobactéries.

Souche	Act 01	Act 02	Act 03	Act 04
Activité				
solubilisation de phosphate	-	-	-	-

(-) Résultat négatif

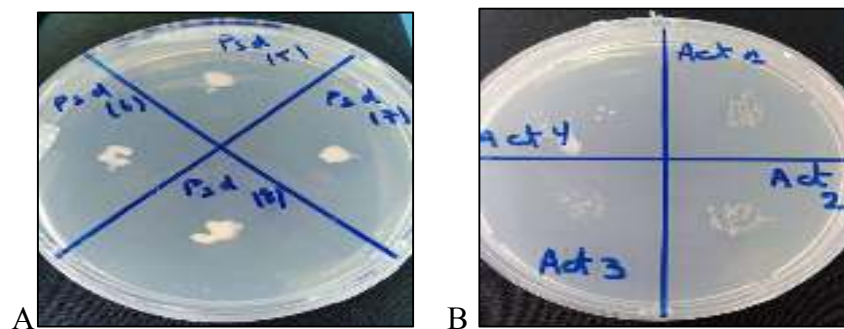
Les résultats de nos travaux démontrent une absence de solubilisation du phosphore pour les deux types bactériens, révélée par absence de formation d'halos autour des colonies sur milieu NBRIP solide (Photographie 12). Des études similaires ont rapporté ces mêmes observations (Kim *et al.*, 2004 ; Taibaoui, 2016). Ceci peut être éclairci selon les mêmes auteurs par un éventuel effet de toxicité par le fer au cours du test de solubilisation effectué sur le milieu solide ce qui peut s'expliquer par la faible diffusion des acides produits par ces bactéries au cours de leur croissance dans le milieu solide. D'autres travaux tels que ceux de Panpatte *et al.* (2016) et Boubekri *et al.* (2021) ont rapportés la capacité d'*actinobactéries* et *Pseudomonas spp.* fluorescents à solubiliser le phosphore ce qui n'est pas le cas pour nos isolats.

Selon (Nahas, 1996) la solubilisation du phosphate insoluble dépend de plusieurs facteurs, y compris le pH comme un facteur essentiel dans la solubilisation du phosphate c'est-à-dire une diminution du pH sera accompagnée par l'augmentation du taux de solubilisation.

### 3.3. La fixation d'azote

La fixation biologique d'azote par les bactéries du sol est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel les plantes bénéficient de l'association microbienne (Sahin *et al.*, 2004)

D'après les résultats obtenus, la croissance des bactéries sur le milieu de Winogradsky dépend de leur capacité à fixer l'azote (Photographie 13).



**Photographie 13 :** Croissance des isolats dans un milieu exempt de l'azote traduisant leur capacité à fixer l'azote. A : isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents. B : isolats d'actinobactéries.

**Tableau 07 :** Résultats de la fixation d'azote sur les isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescent.

Souche \ Activité	Psd 01	Psd 02	Psd 03	Psd 04	Psd 05	Psd 06	Psd 07	Psd 08
Fixation d'azote	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) Résultat positif

**Tableau 08 :** Résultats de la fixation d'azote sur les isolats d'actinobactéries.

Souche \ Activité	Act 01	Act 02	Act 03	Act 04
Fixation d'azote	+	+	+	+

(+) Résultat positif

La croissance a été observée sur les boîtes pour tous les isolats (Photographie 13), 100% des deux types bactériens à savoir actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents ont démontrés une capacité à fixer l'azote révélée par une croissance dans un milieu exempt de l'azote. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Aouane et Hamani ,2017) et similaires à ceux rapporté par Panpatte et al (2016), Gtari et al (2012) Munees et Mulugeta (2014) qui ont démontré une capacité de fixation d'azote chez les actinobactéries et *Pseudomonas fluorescens*.

### 3.4. Production d'acide indole 3-acétique

La production d'auxines, dans du milieu King B et Bennet liquide, se traduit par une coloration orange à rouge après l'ajout du réactif Salkowski. L'intensité de la couleur varie selon le taux d'AIA produite (Photographie 14) (Annexe 05).



**Photographie 14 :** Virement de couleur vers le rose indique la production d'AIA après l'addition du réactif de salkowski.

**Tableau 09 :** Résultats de production d'AIA sur les isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescent.

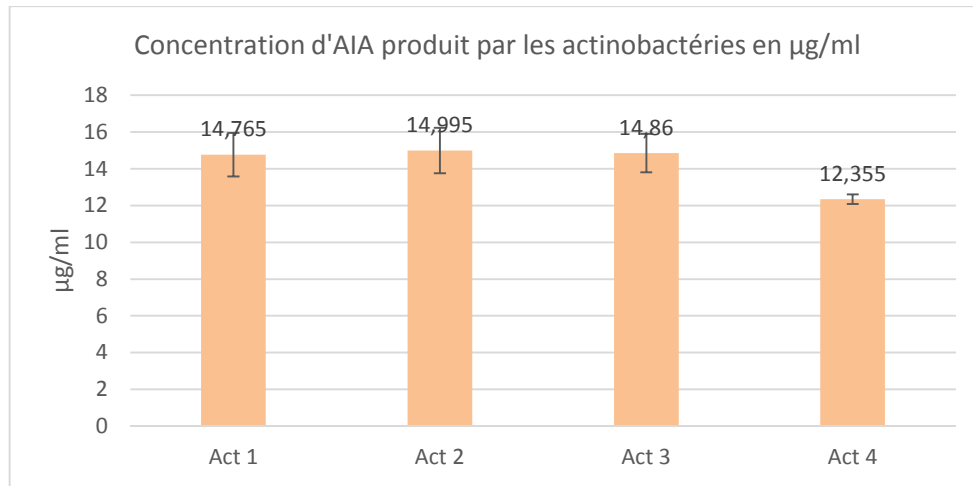
Souche \ Activité	Psd 01	Psd 02	Psd 03	Psd 04	Psd 05	Psd 06	Psd 07	Psd 08
Production d'AIA	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) Résultat positif

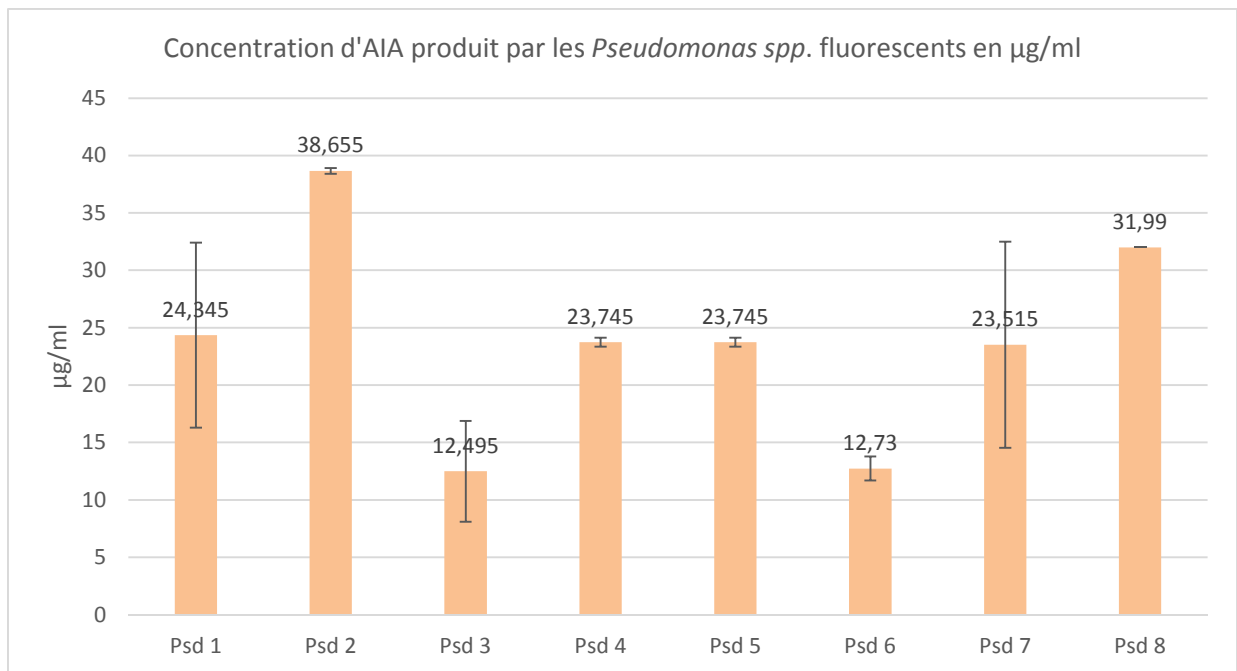
**Tableau 10 :** Résultats de production d'AIA sur les isolats d'actinobactéries.

Souche \ Activité	Act 01	Act 02	Act 03	Act 04
Production d'AIA	+	+	+	+

(+) Résultat positif



**Figure 04 :** histogramme représente les variations des concentrations d'AIA (µg/ml) produit par les actinobactéries.



**Figure 05 :** histogramme représente les variations des concentrations d'AIA (µg/ml) produit par *Pseudomonas spp.* Fluorescents

Les résultats ont montré que : 100% de isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents et actinobactéries ont produit l'AIA avec des valeurs qui vont jusqu'à 39 µg/ml chez les *Pseudomonas spp.* fluorescents et jusqu'à 15µg/ml chez les actinobactéries (Figure 04 et 05). Cette réaction positive explique l'aptitude de la bactérie à métaboliser le L-tryptophane en AIA ou en d'autres composés analogues (Atiqur *et al.*, 2010). Ces résultats sont en accord

avec les travaux de Zakharova et al., (1999), qui mentionnent qu'environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire cette phytohormone. Plusieurs études telles que celles d'Allali et al. (2023), Alshamsi et al. (2024) et Advinda et al. (2024) ont rapportés que les actinobactéries et *Pseudomonas spp.* fluorescents sont des producteurs intensifs d'acide indole acétique ce qui confirme nos résultats.

### 3.5. Effet antagoniste contre les champignons phytopathogènes

Les résultats indiqués dans le (Tableau 11) (Annexe 07) montrent une activité antifongique des huit isolats de *pseudomonas spp* fluorescent vis-à-vis du *Alternaria sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp.* et *Penicillium sp*, révélée par une zone d'inhibition au tour des différents champignons tests.

Les isolats Psd 1, Psd 6 et Psd 8 présentent une forte activité antagoniste contre la plupart des champignons testés, à l'exception d'*Alternaria sp*, où ils ont démontré une activité antagoniste légèrement moindre. Les isolats Psd 4 et Psd 5 sont actifs contre *Alternaria sp* et *Penicillium sp*.

Les isolats Psd 2 et Psd 7 sont efficaces pour contrôler les champignons *Aspergillus niger* et *Penicillium sp.* par cotre Psd 3 est faiblement actif contre les champignons testés car il n'a montré aucune activité antagoniste que contre le *Penicillium sp.* Ces résultats sont cohérents avec les études de sindhu et al. (2009).

Arif (2015), a montré un effet significatif de *Pseudomonas spp.* fluorescents vis-à-vis *Alternaria alternata*. Ces résultats corroborent avec l'isolat Psd4.

Le tableau 12 montre les résultats d'antagonisme entre quatre isolats d'*actinobactéries* et quatre champignons phytopathogènes. Tous les isolats ont montré des résultats très forts contre les quatre champignons, à l'exception de l'isolat Act4 qui n'a montré aucune activité antagoniste contre le *Penicillium sp.*. Ces résultats sont identiques aux travaux de Thakur et al. (2007) qui montrent que la majorité des souches d'actinobactéries du sol des forêts protégées, ont présentées une activité antifongique. Nos résultats révèlent que nos isolats ont un potentiel important de produire des molécules bioactives tels que les antibiotiques ou des enzymes capables d'inhiber la croissance des champignons phytopathogènes.

Des souches d'actinobactéries du sol des forêts protégées, ont présentées une activité antifongique. Nos résultats révèlent que nos isolats ont un potentiel important de produire

des molécules bioactives tels que les antibiotiques ou des enzymes capables d'inhiber la croissance des champignons phytopathogènes.

**Tableau 11 :** Effets d'inhibitions des champignons par *Pseudomonas spp.* fluorescents

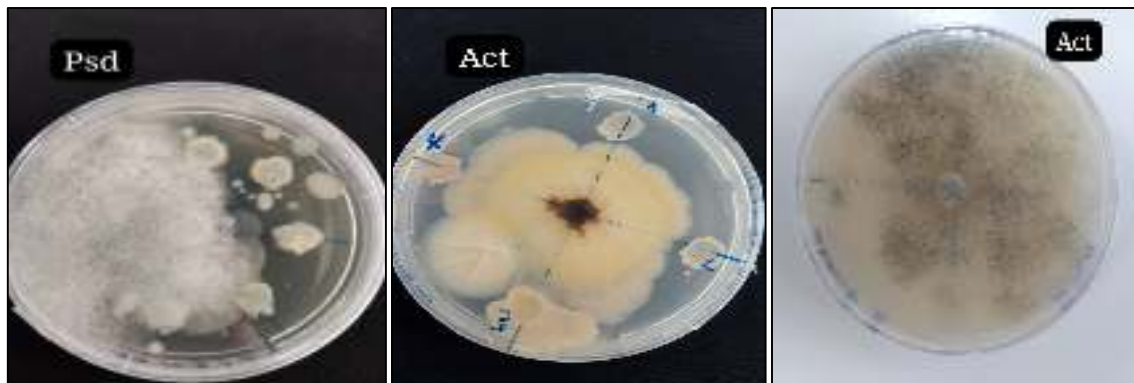
(+) Effet positif / (-) pas d'effet

	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>
Psd 1	-	++	++	++
Psd 2	-	++	++	-
Psd 3	-	-	++	-
Psd 4	++	-	++	-
Psd 5	+	-	++	-
Psd 6	-	++	++	++
Psd 7	-	++	++	-
Psd 8	-	++	++	++

**Tableau 12 :** Effets d'inhibitions de champignons par les actinobactéries.

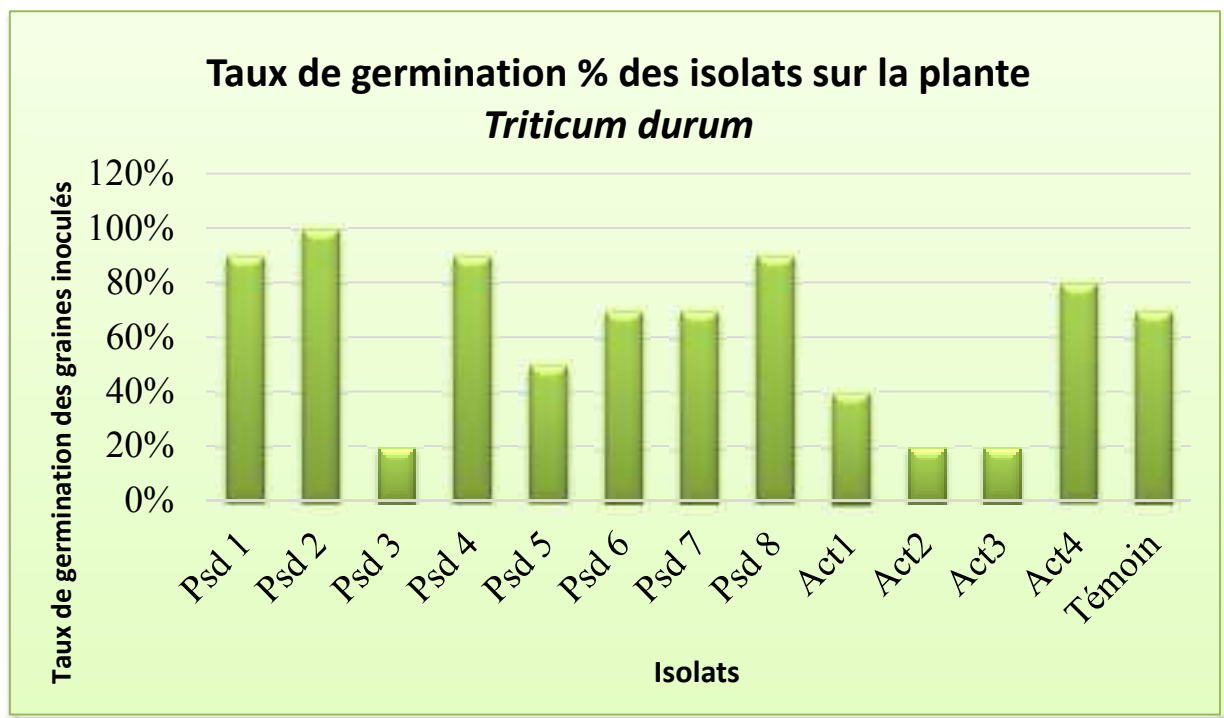
(+) Effet positif / (-) pas d'effet

	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus spp</i>
Act 1	++	++	++	++
Act 2	++	++	++	+
Act 3	++	++	++	+
Act 4	++	++	-	++



**Photographie 15** : photographies présentant l’effet antifongique des isolats bactériens contre les champignons phytopathogènes champignons testés, à l'exception d’*Alternaria sp.*, où ils ont démontré une activité.

#### 4. Effets des isolats sur la plante *Triticum durum*



**Figure 06** : Taux de germination des graines inoculés en comparaison t avec le témoin non inoculé.

Les résultats exprimés dans la figure 06 démontrent qu’à partir de 12 isolats criblés, un isolat d’actinobactéries et huit isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont un effet de germination a plus de 50% de graines de blé.

Comparativement au témoin un taux de germination élevés a été enregistré pouvant atteindre (90% et 100 %) chez les isolats Psd 1, Psd 2, Psd 4. Ce qui confirme une aptitude améliorant la croissance des graines de blé par ces isolats. Des études similaires ont démontré la capacité des *Pseudomonas spp.* À promouvoir le taux de germination chez cette plante (Yarzabal *et al.*, 2018) et (Albadaïwi *et al.*, 2024). Pourtant quatre isolats ont eu un effet germinatif à moins de 50% cela peut être dû au milieu de culture qui peut défavoriser certaines souches, affectant leur capacité à germer les graines.

Les résultats de l'essai montrent aussi que les graines bactérisées germent plus rapidement avec des taux de germination plus élevés (supérieurs à 50%). Ces résultats sont identiques aux travaux Chukwuneme *et al.* (2020) et corroborent avec ceux Larbaoui-Dahoumane, et Benchabane. (2023). La bactérisation des graines avec les deux types d'isolats à savoir *Pseudomonas spp.* fluorescents et actinobactéries a révélé un effet phytobénéfique pour plus de la moitié des isolats sur l'amélioration de la germination des graines de blé.

**Tableau 13 :** Résultats de l'Effet sur la plante sur les isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescent.

Souche	Psd01	Psd02	Psd03	Psd04	Psd05	Psd06	Psd07	Psd08
Activité								
Effet sur la plante	+	+	+	+	+	+	+	+

Résultat positif (+)

**Tableau 14 :** Résultats de l'Effet sur la plante sur les isolats d'actinobactéries.

Souche	Act01	Act02	Act03	Act04
Activité				
Effet sur la plante	+	+	+	+

(+) Résultat positif

# CONCLUSION

### Conclusion

La rhizosphère constitue un environnement riche en nombre et en diversité microbienne, elle est engendrée par des interactions plantes- microorganismes caractérisée par un dialogue moléculaire riche. Ces dernières sont majoritairement de type symbiotique, elle englobe les PGPR ou bactéries favorisant la croissance des plantes constituant une alternative aux engrais chimique, rentable et respectueuse à l'environnement et s'inscrit dans les objectifs du développement durable.

Notre étude s'est portée sur l'isolement et la purification de 12 isolats bactérien à effet PGPR d'un sol rhizosphérique d'olivier *Olea europea*, 04 d'entre elles sont des actinobactéries et 08 sont des *Pseudomonas spp.* fluorescents. Leurs pré identification s'est effectuée par techniques culturales et un test biochimique selon le manuel de Bergey rapporté par palleroni (2015). Tous les isolats ont été ensuite évalués pour estimer leurs capacités à améliorer la croissance des plantes par production de phytohormone telle que l'acide indole acétique (AIA), de fixer l'azote, de produire l'acide cyanhydrique (HCN), de solubiliser le phosphore et de tester leurs effets antagonistes contre 04 champignons phytopathogènes. Au final un test sur la germination des graines de blé à été élaboré dans des conditions stériles.

À travers ce présent travail et les expériences réalisées nous avons affirmé que 100% des isolats sont capables de produire de phytohormone (acide indole 3-acétique) avec des valeurs qui peuvent atteindre (38.84µg/ml), une absence de solubilisation de phosphore a été enregistrée, 100% d'entre elles sont capables fixer de l'azote et produire l'HCN. Les deux types d'isolats possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis des champignons phytopathogène avec des effets variables. Les isolats Psd 1, Psd 6 et Psd 8 ont présentés une forte activité antagoniste contre la plupart des champignons testés. Les isolats Psd 4 et Psd 5 ont été actifs contre *Alternaria sp* et *Penicillium sp.* en contrepartie Psd 2 et Psd 7 ont été efficaces pour contrôler *Aspergillus niger* et *Penicillium sp.*

L'effet sur la germination des graines de blé à indiquer qu'à partir de 12 isolats criblés, un isolat d'actinobactéries et huit isolats de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont un effet de germination a plus de 50% de graines de blé.

Comparativement au témoin un taux de germination élevés a été enregistré pouvant atteindre (90% et 100 %) chez les isolats Psd 1, Psd 2, Psd 4. Ce qui confirme une aptitude améliorant la croissance des graines de blé par ces isolats.

À travers ces résultats, nous pouvons conclure que les isolats sélectionnés peuvent être utilisées comme biofertilisants végétale pour l'amélioration de la production agricole et

considérées comme une très bonne alternative aux engrais chimiques néfaste à l'environnement et à l'homme.

Des tests supplémentaires PGP peuvent être inspectés afin de mieux adapter l'utilisation des isolats aux différents types de sols et différentes plantes. Un test en pépinière et au champ pourra être une des perspectives et l'identification moléculaire des isolats nécessite d'être complétement afin de les répertoriées et constituer une banque de souches.

Cette étude est préliminaire mais prometteuse et indispensable pour atteindre les objectifs d'un développement durable.

RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUE

## Références bibliographiques

---

- **Abdelrahman, O., Yagi, S., El Siddig, M., El Hussein, A., Germanier, F., De Vrieze, M., L'Haridon, F., & Weisskopf, L. (2022).** Evaluating the Antagonistic Potential of Actinomycete Strains Isolated From Sudan's Soils Against *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Microbiology*, 13(June). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.827824>
- **Abouseud, M., Yataghene, A., Amranec,d, B.A., & Maachi R. (2009) .** Effect of pH and salinity on the emulsifying capacity and naphthalene solubility of a biosurfactant produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Hazardous Materials* 180,131\_136.
- **Advinda, L., Chatri, M., Handayani, D., & Suwarni, L. (2024).** Biopriming of cayenne seed (*Capsicum frutescens* L.) using Indole Acetic Acid (IAA)-producing fluorescent pseudomonads to increase germination and growth of seeds. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1312, No. 1, p. 012034). IOP Publishing.
- **AFNOR. (1999).** Qualité des sols. Ed. AFNOR, Vol. 2, Paris, 408p.
- **Albuquerque J.A., González J., García, D. & Cegarra, J. (2007).** Effects of a compost made from solid by-product (“alperujo”) of the two-phase centrifugation system for olive oil extraction and cotton gin waste on growth and nutrient content of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Bioresource Technology* ,98, 4, 940-945.
- **Ali, S., Qaisar, M., Shah, M., Asad, S. (2014).** Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis. *Scientific World Journal*, 19. 10.1155/2014/183752.
- **Allali, K., Zamoum, M., Benadjila, A., Zitouni, A., & Goudjal, Y. (2023).** Valorization of tomato plant wastes and optimization of growth conditions for indol-3acetic acid production by *Streptomyces plicatus* strain PT2: Actinobacteria and phytohormones. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 13(1), e9580-e9580.
- **Alori, E.T., Glick, B.R., & Babalola, O.O. (2017).** Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front Microbiol* 8:971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>

## Références bibliographiques

---

- **Alshamsi, A. A. A., Sheteiwy, M. S., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2024).** Enhancement of mangrove growth performance using fish emulsion and halotolerant plant growth-promoting actinobacteria for sustainable management in the UAE. *Marine Pollution*.
- **Antoun, H., Prévost, D. (2006).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In Z. A. Siddiqui (Ed.), *PGPR: Biocontrol and biofertilization* (pp. 1–38). Springer Netherlands. Bulletin, 199, 115916. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115916>
- **Aouane, M. (2017).** Etude des PGPR “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” des plantes actinorhiziennes : cas de *Casuarina equisetifolia* et d’*Elaeagnus angustifolia*. Université des Frères Mentouri Constantine
- **Argenson, C., Regis, S., Jourdain, J.M., & Vays P. (1999).** Centre technique Interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL). In: *L'olivier* (Ed. Maison neuve) 204p.
- **Arif, F. (2015).** Effet de l’inoculation par *Pseudomonas putida* AF2 et des molécules osmoprotectrices sur la germination du blé sous stress salin. *Biotechnologie et agriculture*. <http://depot.umc.edu.dz/handle/123456789/13572>.
- **Atiqur, R., Irnayuli, R., Sui-Yan, T., & Yasuyuki, H. (2010).** Salkowski’s Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria Isolated from Wild *Dipterocarp* Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil. *Biosci. Biotechnol*, 74(11): 2202-2208.
- **Aubert, G. (1978).** Méthodes d’analyses des sols. Ed. C.R.D.P., Marseille, 191p.
- **Baeta-Halla, L., Sàáguaa, M.C., Bartolomeub, M.L., Anselmo, A.M., & Rosa F.(2005).** Biodegradation of olive oil husks in composting aerated piles. *Bioresource Technology*, 96, 1, 69-78.
- **Baize D. (1988).** Guide des analyses courantes en pédologie. INRA. Paris. ISBN 2-7380-0075- 4. 172 pages .
- **Bakker, A.W., & Schippers, B. (1987).** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas sp* mediated plant growthstimulation. *Soil Biol. Biochem*, 19: 451-457.
- **Balagurunathan, R., Radhakrishnan, M., Shanmugasundaram, T., Gopikrishnan, V., Jerrine, J., Balagurunathan, R., ... & Jerrine, J. (2020).**

## Références bibliographiques

---

- Sample collection, isolation, and diversity of Actinobacteria. *Protocols in Actinobacterial Research*, 1-24.
- **Balesdent, J., Derrien, D., Fontaine, S., Kirman, S., Klumpp, K., Loiseau, P., ... & Robin, C. (2011).** Contribution de la rhizodéposition aux matières organiques du sol, quelques implications pour la modélisation de la dynamique du carbone. *Etude et Gestion des sols*, 18(3), 201-216.
  - **Bano, S. A., & Iqbal, S. M. (2016).** Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. *Int. J. Agric. Innov. Res.* 4, 596–599. Available online at:  
<https://ijair.org/index.php/issues?view=publication&task=show&id=665>.
  - **Beauchamp C.J. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 1 (74), 19-27p.
  - **Bechtaoui, N., Raklami, A., Tahiri, A.I., Benidire, L., El Alaoui, A., & Meddich, A. (2019).** Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their benefits on growth and phosphate nutrition of faba bean and wheat. *Biol Open* 8(7): bio043968
  - **Bedjaoui, K., Bensalem, S. (2012).** Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive de deux variétés étrangères -P 01.
  - **Behl, R. (2012).** Information technology for management. p. 722
  - **Bekmukhamedova, N., Zainitdinova, L., & Mamiev, M. (2023).** Antagonistic activity of pigment-forming streptomycetes isolated from various anthropogenic zones of Tashkent, Uzbekistan. *E3S Web of Conferences*, 371, 4–8.  
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/202337101029>
  - **Benaissa, A., & History, A. (2019).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria A review ARTICLE INFO ABSTRACT. *Algerian Journal of Environmental Science*, 5(1).
  - **Benhamou, N., & Rey, R. (2012).** Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. *Phytoprotection*, 92, 24–35.

## Références bibliographiques

---

- **Benhayoun, G., Lazeeri Y. (2007).** L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.
- **Berra, G., & De Gasperi, R. (1980).** Qualité nutritionnelle dell'olio di oliva. In : III Congresso internazionale sul valore biologico dell'olio d'oliva- la Conea, Creta (Grecia), 8-12 septembre, 427.
- **Bhattacharyya, P., Jha, D. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol* 28:1327–1350.
- **Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017).** Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, 111, 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>
- **Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., & Gardan, L. (2000).** «The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision». *Agronomie*. N°20, pp. 51-53.
- **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Guy, Ph., Larpent., & Veau, P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles (importance industrielle). Masson, France. pp48-98.
- **Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., & Kouisni, L. (2021).** The screening of potassium-and phosphate-solubilizing actinobacteria and the assessment of their ability to promote wheat growth parameters. *Microorganisms*, 9(3), 470.
- **Bouhidel, I. (2006).** Etude expérimentale de l'influence de gypse sur la minéralisation de l'urée et la cinétique d'absorption. Thèse. Mag. Agro. Batna. 180p.
- **Boukahili, A., Chachoua, H., & Hammane, M. (2020).** Caractéristiques des actinomycètes et de certains de leurs métabolites bioactifs (ATB et enzymes). Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master : Microbiologie Appliquée. Algérie : Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, p 2.
- **Boukhatem, Z.F., Merabet, C., Hassini, T. (2022).** Plant Growth Promoting Actinobacteria, the Most Promising Candidates as Bioinoculants. Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture: Perspectives and Challenges. 4.19.
- **Boulila, M. (2001).** Maladies de l'olivier en Tunisie : connaissances actuelles. *Olivae*, n° 87, 22-25.

## Références bibliographiques

---

- **Boussaber, E., Kadmiri, I., Hilali, L., Hilali, A. (2012).** Comparaison de l'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes isolées de milieux variés. ScienceLib Editins Mersenne. Vol 4. N ° 121203 : 1-21.
- **Bravin, M. (2008) .** Processus rhizosphériques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques, Montpellier Sup Agro.
- **Cabanás, C. G. L., Legarda, G., Ruano-Rosa, D., Pizarro-Tobías, P., Valverde-Corredor, A., Niqui, J. L., Triviño, J. C., Roca, A., & Mercado-Blanco, J. (2018).** Indigenous *Pseudomonas* spp. Strains from the Olive (*Olea europaea* L.) rhizosphere as effective biocontrol agents against *Verticillium dahliae*: From the host roots to the bacterial genomes. *Frontiers in Microbiology*, 9(FEB). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00277>.
- **Calvo, P., Nelson L. and Kloepper, J.W. (2014).** Agricultural Uses of Plant Biostimulants. *Plant Soil*. 383, 3-41. <https://doi.org/10.1007/s1110>
- **Cheikh, M. (2016).** Caractérisation des Acides Gras d'Huile d'Olive de Sabra en corrélation avec l'évaluation Sensorielle et l'Analyse Physico-chimique. Diplôme de Master En Sciences des Aliments, université de Tlemcen, Tlemcen, 67p.
- **Chepsergon, J., Moleleki, L. (2023).** Rhizosphere bacterial interactions and impact on plant health. *Current opinion microbiology*, 73.
- **Chloe, V. (2006).** Analyse quantitative des réponses précoces à l'auxine dans une suspension de cellules de Tabac. These de Doctorat : Biologie Cellulaire et Moléculaire. Bordeaux : Universités Bordeaux 1, 382p.
- **Civantos, L. ( 1998).** L'olivier, l'huile d'olive et l'olive. Ed. Conseil Oléicole International. 130p.
- **Dabin, B. (1970).** Analyse des matières organiques dans les sols, n5490. 17p.
- **Daur, I., Saad, M. M., Eida, A., Shakeel, A., Zahid, H., Ihsan, M., Yasir, M., Sayed, S. (2018).** Boosting Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Production with Rhizobacteria From Various Plants in Saudi Arabia. *Plant Pathogen Interactions*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00477>.
- **Dede, A., Güven, K., & Şahin, N. (2020).** Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical and plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*,

143(March). <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104134>

- **Delarras C. (2014).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle Sanitaire. Tec & doc Lavoisier.492p
- **Dimitri, D. (2021).** Manipulation du microbiome rhizosphérique et son application en phytoremédiation. These de Doctorat : Sciences Biologique. Université de Montréal.
- **Dixit, V. K., Misra, S., Mishra, S. K., Tewari, S. K., Joshi, N., & 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(7), 889-905.
- **Djenane, D., Yanguela,J., Derriche,F., Bouarab,L., Roncales,P . ( 2012).** «Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents.» *Nature & Technologie* 53-61.
- **Djebaili, R., Pellegrini, M., Ercole, C., Farda, B., Kitouni, M., & Del Gallo, M. (2021).** Biocontrol of soil-borne pathogens of *solanum lycopersicum* l. And *daucus carota* l. by plant growth-promoting actinomycetes: In vitro and in planta antagonistic activity. *Pathogens*, 10(10), 4-9. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101305>
- **Donald, A., Phillips, H., Ferris, M., Douglas, R., Donald, R. (2003).** Molecular control points in rhizosphere food webs. *ecology*, 84, 816-826.
- **Durand J.H. (1983).** Les sols irrigables. Etude pédologique. Ed. Imprimerie Boudin, Paris, 339 p.
- **El Tarabily, K. A., Soliman, M. H., Nassar, A. H., Al Hassani, H. A., Sivasithamparam, K., McKenna, F., & Hardy, G. S. J. (2000).** Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant pathology*, 49(5), 573-583
- **En Singer, J. C., Normand, P., Burdeur, J.P., & Yallop, C. A. (1993).** Physiology of some actinomycètes genera; *Research in microbiology*; 144(8); 657-660.
- **Fernández-González, A. J., Ramírez-Tejero, J. A., Nevado-Berzosa, M. P., Luque, F.,Fernández-López, M., & Mercado-Blanco, J. (2021).** Coupling the

## Références bibliographiques

---

- endophytic microbiome with the host transcriptome in olive roots. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 4777–4789. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.08.035>.
- **Ganeshan, G., & Kumar, A. M. (2005).** *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. *Journal of Plant Interactions*, 1(3), 123–134. <https://doi.org/10.1080/17429140600907043>.
  - **Gagnard J., Huguet C. et Ryser J.P., (1988).** L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation, le contrôle de la qualité des fruits., Secrétariat générale OILB/SROP, Edition - Diffusion ACTA., 87 P.
  - **Ghosh, A., Acharya, R., Shaw, S., & Gangopadhyay, D. (2024).** *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Potential Alternative Tool for Sustainable Agriculture*.
  - **Goudjal, Y., Omrane, T., Nasserline, S., Barakate, M., Florence, M., & Zitouni, A. (2015).** Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Springer Verlag, 2013, vol. 29 (n° 10), pp. 1821- 1829, hal-01177561, DOI: 10.1007/s11274-013-1344-y.
  - **Green, P.S., Wickens, G. (1989).** The *Olea europaea* complex. In: KitTan (ed) *The Davis & Hedge Festschrift*. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp 287—299.
  - **Gtari, M., Ghodhbane-Gtari, F., Nouioui, I., Beauchemin, N., & Tisa, L. S. (2012).** Phylogenetic perspectives of nitrogen-fixing actinobacteria. *Archives of microbiology*, 194, 3-11.
  - **Guillou, C. (1994).** Mise en évidence d'une température critique chez la bactérie psychrotrophe. In *Pseudomonas fluorescence.*, France : Université de Technologie de Compiègne. Doctoral thesis.
  - **Han, H.S., Lee, K. (2006).** Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil Environ* 52(3):130.

## Références bibliographiques

---

- **Hasanuzzaman, M., Borhannuddin, B., Kamrun., Shahadat, H., Jubayer, A., Shahadat, H., Chowdhury, M., Moumita, F. (2018).** Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. *Agronomy* ,8(3), 31; <https://doi.org/10.3390/agronomy8030031>.
- **Hyder, S., Rizvi, F., los Santos-Villalobos, S. de, Santoyo, G., Gondal, A. S., Khalid, N., Fatima, S. N., Nadeem, M., Rafique, K., & Rani, A. (2023).** Applications of plant growth-promoting rhizobacteria for increasing crop production and resilience. *Journal of Plant Nutrition*, 46(10), 2551–2580. <https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2160742>.
- **Jean, N., Guy, L. (2014).** Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. Edition 2014. 239-404.
- **Jourdan, E., M. Ongena, & P. Thonart. (2008).** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **12** : 437-449.
- **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*, UFM Constantine I. 52p.
- **Kamal, R., Gusain, Y.S., & Kumar, V. (2014).** Interaction and symbiosis of AM fungi, actinomycetes and plant growth promoting rhizobacteria with plants: strategies for the improvement of plants health and defense system. *Int J Curr Microbial Appl Sci* 3(7):564–585.
- **Kang, S., Khan, A., Waqas, M., You, Y., Hamayun, M., & Joo, G. (2015).** Gibberellin-producing *Serratia nematodiphila* PEJ1011 ameliorates low temperature stress in *Capsicum annuum* L. *Eur. J. Soil Biol.* 68: 85–93.
- **Kejela, T. (2024).** *Phytohormone-Producing Rhizobacteria and Their Role in Plant Growth*. Edition pakistane.126 p.
- **Khan, M.S., Zaidi, A., & Javed, M. (2009).** Microbial strategies for crop Improvement: 1-371. Springerverlag Berlin Heidel berg.

## Références bibliographiques

---

- **Khakipour, N., Khavazi, K., Mojallali, H., Pazira, E., & Asadirahmani, H. (2008).** Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4, (6), pp 687-692.
- **Khanna, K., Jamwal, V.L., Sharma, A., Gandhi, S.G., Ohri, P., Bhardwaj, R. (2019).** Evaluation of the role of rhizobacteria in controlling root-knot nematode infection in *Lycopersicon esculentum* plants by modulation in the secondary metabolite profiles. *AoB Plants* 11(6): plz069.
- **Kim, J. D.C. (1994).** Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation *Biochemistry*, 33, pp.389–397.
- **Kim, M. S., Kim, Y. C., & Cho, B. H. (2004).** «Gene expression analysis in cucumber leaves primed by root colonization with *Pseudomonas chlororaphis* O6 upon challenge inoculation with *Corynespora cassiicola*». *Plant Biol.* Mar-Apr. Vol. 6, N° 2, pp. 105-108.
- **Kim, S.B., Seong, C.N., Jeon, S.J., Bae, K.S., & Goodfellow, M. (2004).** Taxonomic study of neuro-tolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil land description of *Streptomyces yeochonensis* sp.nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* N° 54. p. 211-214.
- **kirdi, B. (2011).** Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites. Mémoire Magister en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach –Alger).
- **Kloepper, J. W., Lifshitz, R., & Zablotowicz, R. M. (1989).** Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology* 7, 39-44.
- **Kloepper, J.W., Ryu, C.M., Zhang, S. (2004).** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus Spp.* *Phytopathology* 94:1259–1266.
- **Koche, M. D., Gade, R. M., & Deshmukh, A. A. G. (2013).** Antifungal Activity of Secondary Metabolites Produced By *Pseudomonas Fluorescens*. *N Save Nature to Survive*, 8(2), 723–726.
- **Lakshmipathy, D., Krishnan, K. (2010).** Isolation and Characterization of Antagonistic Actinomycetes from Marine Soil. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 2(1) :001- 006.

## Références bibliographiques

---

- **Lan, G., Wei, Y., Li, Y., & Wu, Z. (2023).** Diversity and assembly of root-associated microbiomes of rubber trees. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1136418>.
- **Larbaoui, D.A., & Benchabane, M. (2023).** Effet de *Pseudomonas fluorescens* sur la germination du (CEDRUS ATLANTICA MANETTI) et d'une légumineuse (ACACIA NILOTICA), *Revue Agrobiologia* 13(1) : 3373-3383.
- **Lepinay, C. (2013).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, p.263
- **Liang, J., Wei, C., Song, X., Wang, R., Shi, H., Tan, J., Cheng, D., Wang, W., & Wang, X. (2024).** Bacterial wilt affects the structure and assembly of microbial communities along the soil-root continuum. *Environmental Microbiome*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00548-7>.
- **Loper, J.E., & Scroth, M.N. (1986).** Influence of bacterial sources on indole-3-acetic acid on root.
- **Loussert, R., Brousse, G. (1978).** L'olivier: Techniques agricoles et productions méditerranéennes. G.P. *Maisonneuve et Larose*, Paris, 464 p. elongation of sugar beet. *Phytopathology*, 76: 386–389.
- **Lugtenberg, B., et F. Kamilova. (2009).** Plant-growth-promotin rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-56.
- **Mahler, R. L. (2004).** Nutrients plants require for growth, university of Idaho, college of agricultural and life science.
- **Maldonado, S., Rodriguez, A., Avila, B., Morales, P., Gonzalez, M.P., & Araya-Angel, J.P.A. (2020).** Enhanced crop productivity and sustainability by using native phosphate solubilizing rhizobacteria in the agriculture of arid zones. *Front Sustain Food Syst* 4:263. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.607355>
- **Malhotra, H., Sharma, S., & Pandey, R. (2018).** Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. *Plant nutrients and abiotic stress tolerance*. Springer, Singapore, pp171–190.
- **Manulis, S., Shafrir, H., Epstein, E., Lichter, A., & Barash, I. (1994).** Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. *Microbiology*, 140, 1045-1050.

## Références bibliographiques

---

- **Manzari, K., Anuradha, M., Shiv, S., Divya, G., Sarita, J., & Siya, R. (2024).** Role of Green Chemistry in Ecosystem Restoration to Achieve Environmental Sustainability : Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture: recent progress and challenges. Edition: Chennai, India.pp:333-342.
- **Marschner, P., Yang, C.H., Lieberei, R., & Crowley, D.E. (2001).** Soil and plant specific biochemistry effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil biology and biochemistry*. 33: 1437-1445.
- **Martinez, R.L., & Sanchez C.M. ( 1975).** Fertilisation II. Séminaire oléicole international 6-17 octobre. Cordoue (Espagne), 48-46.
- **Mendil, M. (2009).** L'oléiculture : Expériences algériennes. Filaha Innove,1111,4762, 6p.
- **Mendes, R., Garbeva, P., Raaijmakers, J. (2013).** The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634-663.
- **Messaoudi, H., 2015.** Effets de l'inoculation avec des bactéries rhizosphériques sur la croissance du blé et le développement de quelques bio-agresseurs qui lui sont associés.
- **Miloud, Y. (2018).** Etude du potentiel bénéfique des souches de Rhizobium pour *Medicago truncatula*: symbiose, solubilisation du phosphate et lutte contre la verticilliose.Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP), Toulouse.
- **Moënné-Loccoz, Y., Laurent, S. (2011).** *Pseudomonas protegens* sp. nov., widespread plant-protecting bacteria producing the biocontrol compounds 2, 4-diacetylphloroglucinol and pyoluteorin, 34, 180-188.
- **Munees, A., & Mulugeta, K. (2014).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, *Journal of King Saud University – Science*, January volume 26, Issue 1, Page 1–20.
- **Nahas, E. (1996).** Factors determining rock phosphate solubilization by microorganism isolated from soil. *World J. Microb. Biotechnol*,12:18-23.
- **Palaniyandi, S.A., Yang, S.H., & Suh, J.W. (2013).** Extracellular proteases from *Streptomyces phaeopurpureus* ExPro13 inhibit spore adhesion, germination and appressorium formation in *Colletotrichum coccodes*. *Applied*

*Microbiology*.pp1364-507.

- **Palleroni, N. J. (2015).** Pseudomonas . In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.121.
- **Panpatte, D. G., Jhala, Y. K., Shelat, H. N., & Vyas, R. V. (2016).** Pseudomonas fluorescens: A Promising Biocontrol Agent and PGPR for Sustainable Agriculture. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*, 257–270. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5\\_15](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_15).
- **Park, K.H., Lee, C.Y., & Son, H.J. (2009).** Mechanism of insoluble phosphate solubilization by Pseudomonas fluorescens RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Letters in Applied Microbiology* 49, 222–228.
- **Patel, J. J., & Brown, M.E. (1969).** Interactions of Azotobacter with rhizosphere and rootsurface microflora. *Plant Soil*. 31: 273-281.
- **Patten, C.L., & Glick, B.R. (2002).** Regulation of indoleacetic acid production in Pseudomonas putida GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Can. J. Microbiol.* 48: 635-642.
- **Peter, H., Georges, B.J., Raven, K.A., Mason, J.B., Losos, S.R., & Singer. (2015).** *Biologies*, 9ème Ed. amirécaïne du Raven, p: 140.
- **Philippot, L., Raaijmakers, J., Lemanceau, P., & Putten, W. (2013).** Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature reviews*. 11(789).
- **Qureshi, M. A., Ahmad, Z. A., Akhtar, N., Iqbal, A., Mujeeb, F., & Shakir, M. A. (2012).** Role of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1): 204-210.
- **Raaijmakers, J.M., Vlamiet, M., & Souza, J.T. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 537-547.
- **Raj, D., Linda, R., & Babyson, R.S. (2014).** Molecular characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from pristine soils. *Int J Innov Sci Eng Technol* 1:317–324.
- **Rehman, F., Kalsoom, M., Adnan, M., Toor, M.D., & Zulfiqar, A. (2020).** *Plant Growth Promoting Rhizobacteria and their Mechanisms Involved in*

## Références bibliographiques

---

- Agricultural Crop Production: A Review. *SunText Review of BioTechnology*, 01(02).
- **Rossum, D. V., Muyotcha, A., Verserveld, V. W., Stouthmer, A. H. & Booger, F. C. (1994).** Siderophore production by Bradyrhizobium spp. Stains nodulating groundnut. *Plant and soil* 163: 177-187
  - **Sahin, F., Cakmakci, R., & Kantar, F. (2004).** Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant Soil*, N° 265 P 123–129.
  - **Saharan, B., & Nehra, V. (2011).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Science and Medical Research*, 21, 1-30.
  - **Schillaci, M., Raio, A., Sillo, F., Zampieri, E., Mahmood, S., Anjum, M., Khalid, A., & Centritto, M. (2022).** Pseudomonas and Curtobacterium Strains from Olive Rhizosphere Characterized and Evaluated for Plant Growth Promoting Traits. *Plants*, 11(17). <https://doi.org/10.3390/plants11172245>.
  - **Sharma, K.G., Dak, A., Agrawal, M., Bhatnagar, R., & Sharma. (2007).** Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of Cicer arietinum seed and seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 1: 61-63.
  - **Shivabai, C., & Gutte, S. (2019).** Isolation of actinomycetes from soil sample using different pretreatment methods and its comparative study. *Int J Res Anal Rev*, 6(2), 697-702.
  - **Shirvani, M., Yahaghi, Z. (2022).** Advances in Microbe-assisted Phytoremediation of Polluted Sites: Role of Pb-solubilizing and plant growth-promoting bacteria in Pb uptake by plants. Edition: Chennai, India. pp:231-270.
  - **Singh, P., Kumar, V., Agrawal, S. (2014).** Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their plant Growth Promoting Activities, *International Journal of Microbiology*, 1-7.
  - **Soltner, D. (2005).** Les bases de production végétale. 24 e Edition. Tome I, paris, 472 p.
  - **Stengel, P., Bruckler, L., Balesdent, J. (2009).** Le sol. Paris, France. 182.
  - **Sudhanshu, D., Ravindra., Vijay, U., & Sanjay, K. (2011).** Isolation and Characterization of Actinomycetes Producing Antimicrobial Substance against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Pharmacy Research*. 4(11) : 4066-4068.

## Références bibliographiques

---

- **Surojit, B., Richa, A., Collins, N.A., & Ajay, K. (2022).** Relationship Between Microbes and the Environment for Sustainable Ecosystem Services: Role of Pb-solubilizing and plant growth-promoting bacteria in Pb uptake by plants. Edition: STRAIVE, India. pp: 197-211.
- **Taibaoui. (2016).** Mémoire de master, Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle des agents phytopathogènes et l'effet PGPB de certaines actinobactéries endosymbiotiques.
- **Tang, J., Xiao, Y., Xu, X., Tang, M., Zhang, X., & Yi, Y. (2023).** Root microbiota alters response to root rot in *Rhododendron delavayi* Franch. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1236110>.
- **Thakur, A., Yadav, B.K., Gogoi, T.C., Bora. (2007).** Isolation and screening of Streptomyces in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites Isolement et criblage de streptomyces du sol des forêts protégées des états d'Assam et de Tripura pour des métabolites antimicrobiens. *Journal de Mycologie Médicale*, 17, 242-249.
- **Tourkya, B., Boubellouta, T., Dufour, E. & Leriche, F. (2009).** Fluorescence Spectroscopy as a promising tool for a polyphasic approach to *Pseudomonad* Taxonomy. *Curr.Microbiol.* 58(8): 39-46.
- **Tsavkelova, E., Klimova, S.Y., Cherdyntseva, T., & Netrusov, A. (2006).** Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *App Biochem Microbiol* 42:117–126.
- **Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., & Li, Z. (2020).** Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiol* 20(1):1–12.
- **William, B. R., Whitman., Krieg, T., James, T., Daniel, R., Brian-Hedlund, P., & Paster, J. (2010).** *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London. pp 25-49.
- **Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, S., Kumar, V., Kumar, M., Sugitha, T. C. K., ... & Dhaliwal, H. S. (2018).** Actinobacteria from rhizosphere: molecular diversity, distributions, and potential biotechnological applications. In *New and*

## Références bibliographiques

---

*future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 13-41). Elsevier.

- **Zahir, Z.A., Arshad, M. & Frankenberger, W.T. (2004).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Applications and Perspectives in Agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168.
- **Zakharova, A., Shcherbakov, V., Brudnik, G., Skripko, N., Bulkhin, V. (1999).** Microbial Biomass and Activity in Lead-Contaminated Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 ,5.

# ANNEXES

## Annexe 01 : les milieux de culture et réactifs

**Milieu « NBRIP » (Nautiyal,1999)**

Glucose	10g/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> so <sub>4</sub>	1,7g/l
Mgso <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25g/l
Kcl	0,2g/l
Ca <sub>3</sub> hPo <sub>4</sub>	0,5g/l
Eau distillée	1000ml
Agar	15g/l
PH	7

**Milieu King B (g/L) (King et al., 1954)**

Peptone	20 g/l
Glycérol	10ml/l
Phosphate dipotassique	1.5g/l
Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	1.5g/l
Agar	15g/l
PH	7,2

**Milieu Bennett (g/L) (Kitouni, 2007)**

Glucose	10 g/l
Extrait de levure	2 g/l
Peptone	2 g/l
Extrait de viande	1 g/l
Agar	20 g/l
PH	7,3

**Milieu Caséine amidon agar (SCA) (g/L) (Sharma et al., 2011)**

Amidon	10 g/l
Caséine	0.3 g/l
KNO <sub>3</sub>	2 g/l
NaCl	2 g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g/l
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0.05 g/l
CaCo <sub>3</sub>	0.02 g/l
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0.01 g/l
Agar	15 g/l
PH	7,2

**Le Réactif de Salkowski**

FeCl	4.06g
Acide perchlorique	75ml
Eau distillée	75ml

**Winogradsky's N-free**

Matière organique (saccharose ou glucose)	10g/l
Agar	20g/l
CaCO <sub>3</sub>	Trace
Solution de sel concentrée	5ml/l

**Annexe 02 : Analyse physicochimiques du sol****Taux de calcaire total**

$$C.T\% = \frac{0,2 \times V \times 100}{v \times P}$$

**v** : volume de CO<sub>2</sub> obtenu.

**P** : poids de terre fine.

**V** : volume dégagé de CO<sub>2</sub>

**0,2** : poids de CaCO<sub>3</sub> pur

$$C.T\% = \frac{0,2 \times 25 \times 100}{28 \times 0,5}$$

$$C.T\% = 35,7\%$$

**Dosage du carbone organique**

1 ml de solution de MOHR correspond à 0,615 ml de C, donc C de la prise d'essai est :

$$C = (y-x) \times 0,615 \times 5$$

**5** : facteur de dissolution

$$C = 11,07 \text{ mg}$$

$$C\% = \frac{(y-x) \times 0,615 \times 5 \times 100}{\text{poids de la terre en mg}}$$

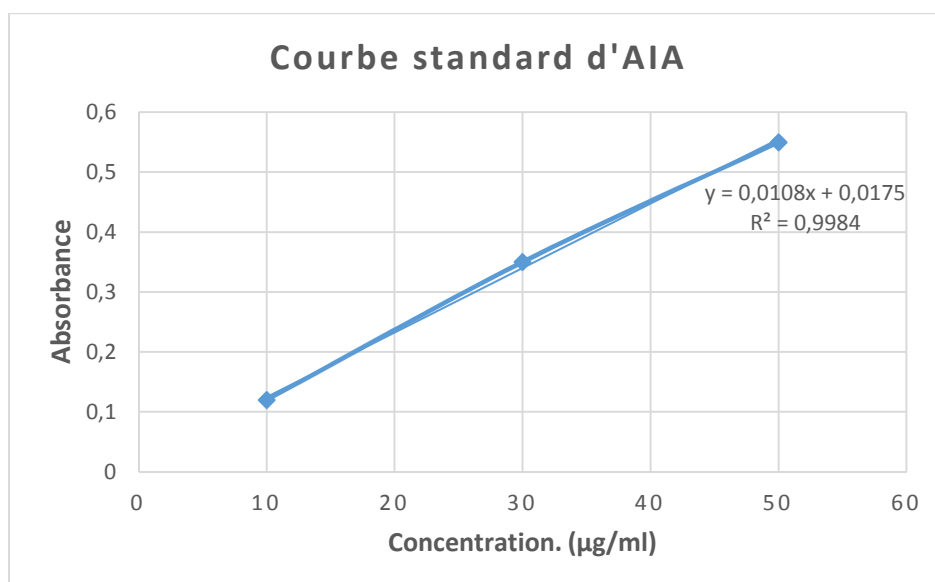
$$C\% = 1,1\%$$



**Tableau** : Résultats des activités sur les isolats d'actinobactéries.  
(-) résultat négatif. (+) résultat positif.

Souche \ Activité	Act 01	Act 02	Act 03	Act 04
Production d'HCN	+	+	+	+
Fixation d'azote	+	+	+	+
Solubilisation de phosphate	-	-	-	-
Production d'AIA	+	+	+	+
Effet antagoniste	+	+	+	+
Effet sur la plante	+	+	+	+

### Annexe 05



**Figure** : La courbe d'étalonnage de l'auxine.

### Annexe 06

**Mesure du diamètre du champignon pour estimer le taux d'inhibition (Patel et Brown, 1969)**

% d'inhibition du champignon =  $(MIc - MI t) / MIc \times 100$

**MI c** : diamètre de la colonie dans la boîte témoin ;

**MI t** : diamètre de la colonie dans les boîtes contenant les souches bactériennes.

**Mesure du taux de germination**

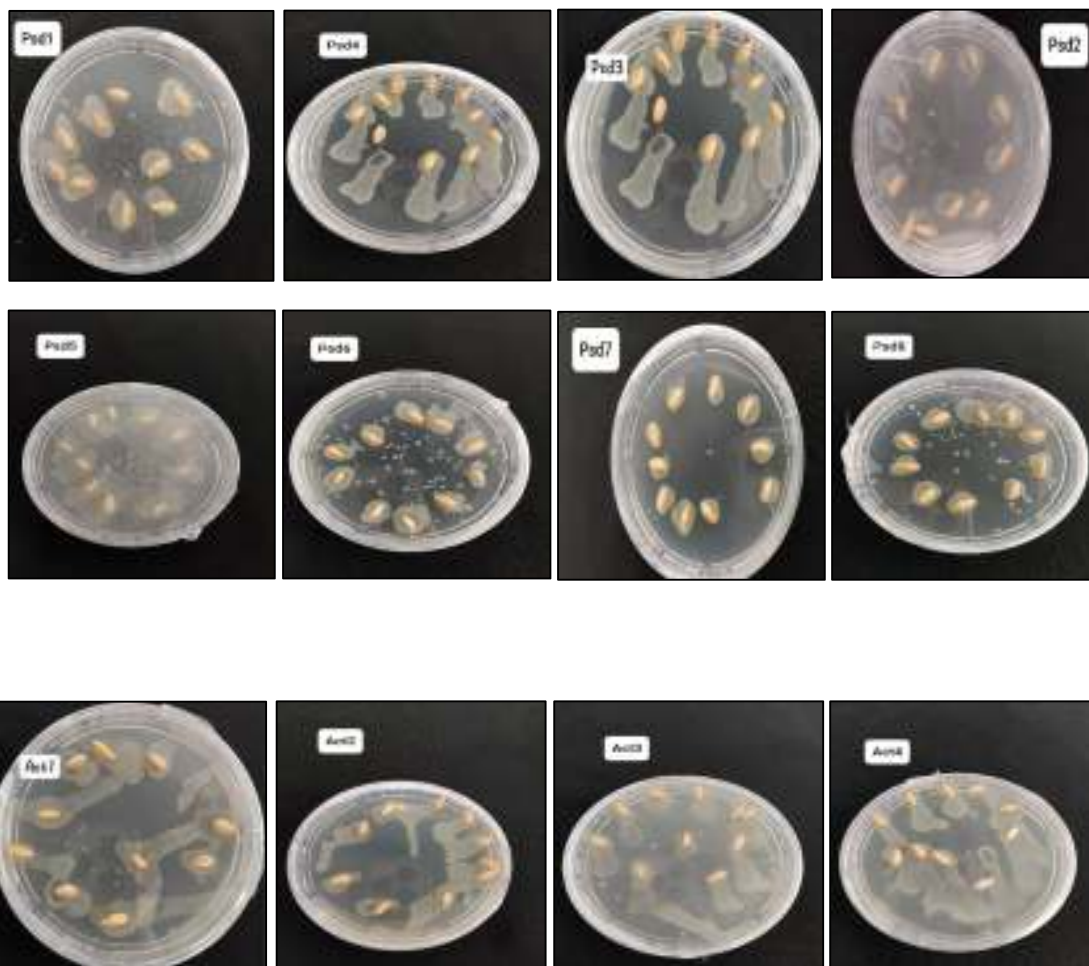
**Taux de germination** :  $\text{Nombre de graines germées} \times 100 / \text{le nombre total de graines.}$

Annexe 07

Résultats de l'effet antagoniste

Après 24 Heurs :

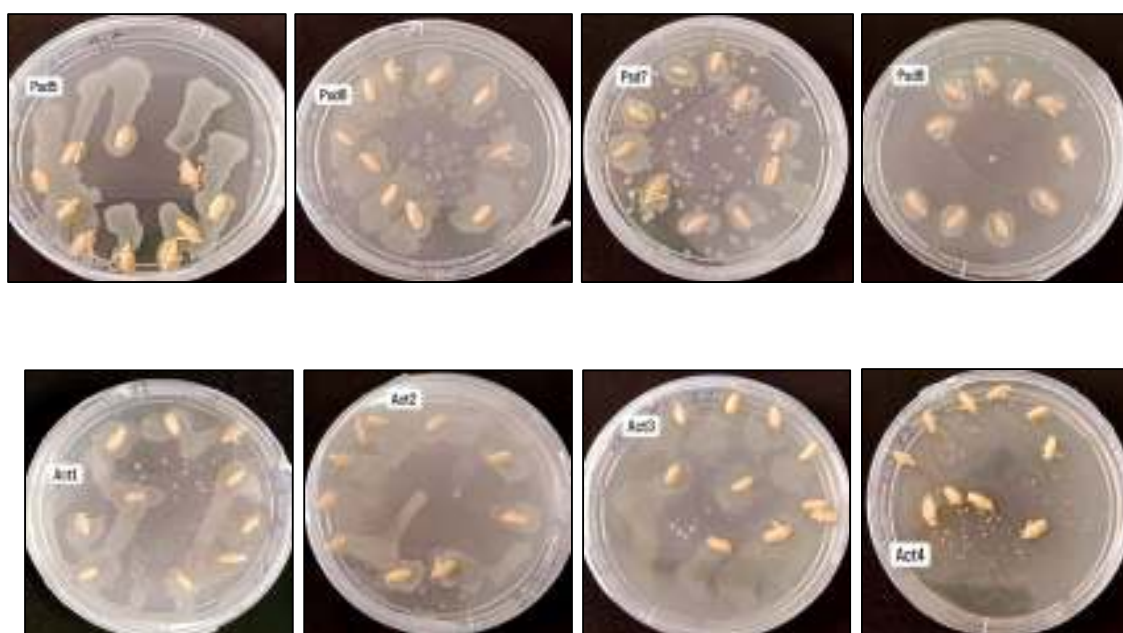
•La température 30°C.



Après 48 Heures :

•La température 30°C.





Après 72 Heures

•La température 30°C.

