

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abderrahmane-Mira-Bejaïa**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département microbiologie**

**Spécialité Microbiologie Appliquée**

Réf:...

Mémoire de fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

**Thème**

Recherche de quelques traits PGPR chez des bactéries isolées  
du sol rhizosphérique

Présenté par

Mlle OUARI Tassadit et Mlle IBESSATEN Lydia

Soutenu le : 07 juillet 2022

Devant le jury composé de

Mr NABTI E.

Professeur

Président

Mme BENSIDHOUM.L.

MCB

Promotrice

Mme DJINNI I.

MCA

Examinatrice

Année universitaire 2021/2022

# *Remerciement*

Nous commençons d'abord par remercier dieu le tout -puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de terminer nos études et d'atteindre ce stade.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à M<sup>e</sup> BENSIDHOUMLeila, d'avoir bien voulu diriger notre mémoire. Nous la remercions pour ses orientations, ses conseils prodigués, sa patience, sa disponibilité et sa persévérance dans le suivi, sans lesquels nous n'aurions pas pu mener à bien ce travail.

Nous remercions très particulièrement Mr NABTI EL Hafid qui a mis à notre disposition son laboratoire de recherche dans le but de la réalisation de ce modeste travail. Nous le remercions également très sincèrement pour avoir accepté de présider notre jury de

soutenance

Nous remercions Mme DJINNI Ibtissam d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements, à tous les enseignants, qui nous ont donné la base de la Biologie.

Tassadit et Lydia

# *Dédicace*

C'est avec une grande gratitude et des mots sincères, que je dédie ce modeste travail de la fin d'étude à mes chers parents qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite.

A mon père Abdallah pour avoir toujours cru en moi et pour Ses nombreux sacrifices.

A ma mère Fadila pour son soutien et ses encouragements.

J'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'il on fait pour moi, que DIEU leur prête bonheur et longue vie.

Je dédie aussi ce travail à mes frères et soeurs (Lyes, Tarik, Nabil, Sabrina, Hamida et Fahima),

A mes professeurs qui m'ont enseigné

À mes chères cousines Faiza, Kenza.

À mes chères copines Lamia, Sara, Mariam, Sabah, Ouerda.

Je dédie ce travail également à tous ceux qui m'ont encouragé et aidé à réaliser ce travail de près ou de loin et qui ont participé à ma réussite.

Tassadit...

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents

Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Sans eux je n'aurais pas fait réussir dans mes études. Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité. Qu'ils soient remerciés par cette modeste dédicace

A ma promotrice Mme Bensidhoum Leila pour son aide et sa précieuse attention et sa compréhension

A ma sœur et mes amies pour leurs encouragements

Lydia

# *Abréviation*

## **Abréviations**

ACC : aminogyopropane 1\_CARBOXYKLIQUE

AIA : acide indole acétique

HCN : Hydrogene cyamide

PBS : Phosphate Buffer Solution

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacterie

IRS : Induction de la résistance systémique

# *Liste de figure*

## Liste des figures

---

Figure01 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère.....	3
Figure02 : Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère.....	5
Figure03 : Fonctions biologiques des sidérophores.....	7
Figure 4 : schéma générale des mécanismes directs et des PGPR.....	11
Figure05 : Localisation géographique de la zone de prélèvement.....	13
Figure06 : Étapes d'isolement a partir des échantillons du sol.....	14
Figure07 : Recherche d'activités cellulastique.....	15
Figure08: Recherche d'activités estérastique et lipastique.....	15
Figure09 : Recherche d'activités chitinasique, phosphatasique, protéastique.....	16
Figure10 : Recherche d'activités amylastique.....	17
Figure11 : Recherche de la production de l'AIA.....	18
Figure12 : Recherche de la production d'ammoniac.....	19
Figure13 : production de Cyanure d'hydrogène (HCN).....	20
Figure14 : Résultats des activités enzymatiques.....	21
Figure 15 : Production d'AIA par les isolats.....	25
Figure16 : Inhibition exercée par l'isolat TO8 isolat sur A. niger et Penicilliumsp .....	26
Figure17 : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons phytopathogènes par les isolats testé.....	26
Figure 18 : résultats du test de production d'HCN.....	29
Figure 19 : résultats du test de production de NH <sub>3</sub> .....	29



# *Liste des tableaux*

## Liste des tableaux

---

Tableau 01 : Prélèvement du sol rhizosphérique.....	12
Tableau 02 : Résultat des tests d'activités enzymatique.....	22
Tableau 03 : Résultats des tests de production d'HCN et de NH <sub>3</sub> .....	29

# *Sommaire*

## Sommaire

---

<b>Introduction générale</b> .....	1
------------------------------------	---

### **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **CHAPITRE I : Généralité sur la rhizosphères et PGPR**

1. La rhizosphère.....	3
2. Activités de la rhizosphère .....	3
3. Les PGPR.....	4
4. La diversité des PGPR .....	4
5. Mécanisme d'action des PGPR.....	4
5.1. Biofertilisation.....	5
5.1.1. Fixation d'azote .....	5
5.1.2. Solubilisation de phosphate .....	5
5.1.3. Production des sidérophores .....	6
6. 5.2. phytostimulation .....	7
6.1.1. Production des phytohormones .....	7
6.1.2. Production de l'éthylène et d'ACC-désaminase .....	8
6.2. Boictrôle.....	8
6.2.1. Production d'enzymes lytiques .....	8
6.2.2. Compétition .....	9
6.2.3. L'antibiose.....	9
6.2.4. Induction de la résistance systémique (ISR).....	10

#### **CHAPITRE II : Matériel et Méthode**

1. Prélèvement .....	12
2. Isolement des bactéries .....	13
3. Recherche de propriétés d'intérêt d'agricole .....	14
3.1 Activité Enzymatiques .....	14
3.1.1 Activité cellulasique.....	14
3.1.2 Activité esterasique.....	15
3.1.3 Activité lipasique.....	15
3.1.4 Activité chitinasique .....	16
3.1.5 Activité protesaique.....	16
3.1.6 Activités phosphatasique .....	16

3.1.7 Activité amylasique .....	17
3.2 Production de l'auxine (AIA).....	17
3.3 Mise en évidence l'activité antifongique.....	18
3.4. Mise en évidence de la production de certains métabolites antifongiques.....	19
3.4.1. Production d'ammoniac (NH <sub>3</sub> ) .....	19
3.4.2. Production d'HCN .....	19

### **CHAPITRE III : Résultats et discussion**

1. Isolement de rhizobactéries.....	21
2. Recherche des propriétés d'intérêt agricole .....	22
2.1. Activité Enzymatiques .....	23
2.1.1. Activités cellulosique et amylasique.....	23
2.1.2. Activités estérasique et lipasique .....	23
2.1.3. Activités protéasique.....	24
2.1.4. Activité chitinasique.....	24
3. Production d'AIA .....	24
4. Mise en évidence de l'activité antifongique des isolats.....	26
5. Recherche de métabolites à activité antifongique.....	27
Conclusion .....	31

# *Introduction générale*

## Introduction générale

L'agriculture moderne intensive s'est basée depuis des décennies sur l'application de grandes quantités d'intrants chimiques (pesticides et fertilisants), pour satisfaire l'accroissement prévisible des besoins alimentaires. En plus des effets néfastes vérifiés de ces produits chimiques, actuellement ils sont considérés comme les principaux polluants de l'environnement ayant engendrés la détérioration des propriétés biologiques des sols et l'accumulation de résidus chimiques dans les produits agricoles récoltables (Ouserir et al, 2018).

C'est pourquoi, la recherche de nouvelles méthodes alternatives respectueuses de l'environnement est devenue une nécessité. L'utilisation des technologies microbiennes dans l'agriculture s'étend très rapidement par l'identification de nouvelles souches bactériennes efficaces dans l'amélioration de la croissance des plantes (PGPR; plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Cherif, 2014).

Les PGPR sont définis comme des micro-organismes qui peuvent se développer dans, sur ou autour des tissus végétaux et stimuler la croissance des plantes par une variété de mécanismes (Vessey, 2003), direct comme la fixation de l'azote, la minéralisation des composés organiques, la solubilisation des nutriments minéraux et la production de phytohormones et des mécanismes indirects via la production d'antibiotiques, Cyanure d'Hydrogène (HCN), de sidérophores, d'enzymes lytiques et par la compétition (Rehman et al., 2020). Ainsi l'inoculation des plantes par ces PGPR s'est développée ces dernières décennies afin de réduire l'utilisation des produits agrochimiques, notamment les engrais et les pesticides, mais également pour améliorer la fertilité des sols, protéger la plante des différents stress biotiques et abiotiques.

Plusieurs espèces bactériennes ont été identifiées comme PGPR ces dernières années en raison des nombreuses études sur les différents mécanismes d'action de ces Rhizobactéries et les progrès réalisés en matière de taxonomie bactérienne. Actuellement, les PGPR incluent des taxons bactériens très divers (Ashraf et al, 2008).

Beaucoup de travaux ont été publiés ces dernières années sur l'application des PGPR pour améliorer le rendement des récoltes et la santé des plantes. C'est dans cette optique que le présent travail est dirigé. Nous nous sommes proposés à travers cette étude pour une

sélection de quelques isolats bactériens rhizosphérique pouvant jouer un rôle dans l'amélioration de la santé, la croissance et la qualité des plantes.

Ce présent travail est réalisé comporte trois chapitres :

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur la rhizosphère et les PGPR

Chapitre II:Une description de matériels et méthodes utilisés

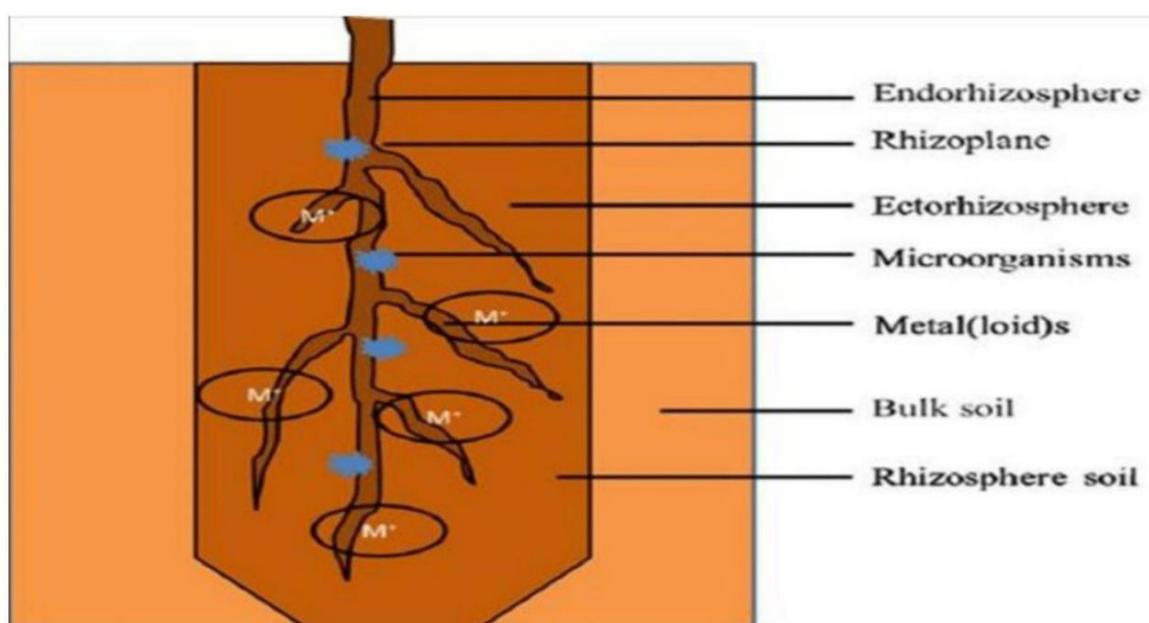
Chapitre III : Présentation des résultats et leurs discussions.

Conclusion

*Chapitre I Généralités sur la  
rhizosphère et PGPR*

## 1. La rhizosphère

La rhizosphère est le volume du sol influencé par les racines. Ce mot a été introduit en 1904 par Lorenz Hiltner pour définir la zone du sol sous l'influence des racines des légumineuses. La rhizosphère est en fait un habitat dont les limites sont mal définies, car elle représente un gradient microbiologique et physico-chimique allant de la racine elle-même jusqu'à une distance plus ou moins grande de 1 à 5 mm au-delà de laquelle l'effet rhizosphérique disparaît, la rhizosphère est aussi définie comme étant la zone du sol influencé par les racines, et les racines elles-mêmes (Antoun et Prévost, 2005). La rhizosphère est donc un environnement particulier où les flux de matière et d'énergie entre le sol et la plante sont particulièrement intenses (Cleyet-Marel et Hinsinger, 2000).



**Figure 1 :** Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (Seshadri et al., 2015)

## 2. Activités de la rhizosphère

Les plantes libèrent des exsudats racinaires qui sont constitués de substances carbonées et azotées (alcool, sucre, éthylène, acide aminé, etc.) (Mench, 1985). Grâce à ces substances, des milieux particuliers ont été créés pour les microorganismes du sol. Leur densité est plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines, il s'agit de l'effet rhizosphérique (Foster et Rovia, 1978).

### 3. Les PGPR

les PGPR sont des microorganismes étroitement associés à la région de la rhizosphère et présentant un ensemble de traits leur permettant d'influencer positivement la croissance et la santé des plantes (Bakthavatchalu et al., 2012 ; Sivasakhi et al., 2014; Alabouvette et Cordier, 2018).

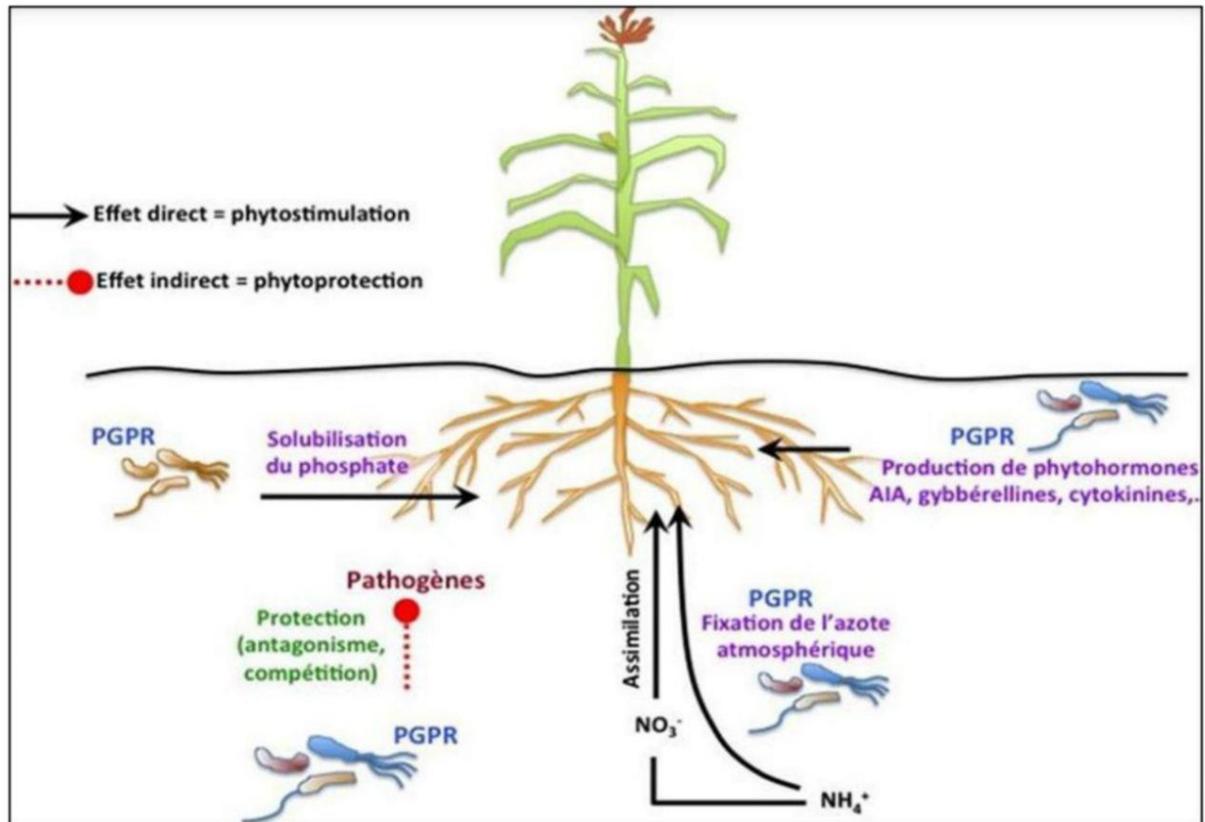
Les PGPR jouent également un rôle important dans la lutte contre les infections que subissent les plantes par les agents phytopathogènes (Beneduzi et al., 2012). Ces bactéries, se distinguent par leurs capacités à coloniser et à survivre et se multiplier dans la surface racinaire, et à être compétitif vis-à-vis des autres microorganismes. Plusieurs mécanismes ont été identifiés chez les PGPR, ces mécanismes peuvent augmenter la disponibilité des éléments nutritifs, réguler la production des phytohormones et augmenter la tolérance aux stress abiotiques et biotique (Glick 2012).

### 4. La diversité des PGPR

La diversité des PGPR varie largement selon : le type de la plante, du sol et la disponibilité des nutriments. Les souches appartenant aux genres *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia* et *Paenibacillus* sont classées comme PGPR, avec une dominance des *Bacillus* et des *Pseudomonas* (Sivasakhi et al., 2014).

### 5. Mécanisme d'action des PGPR

Sur la base de leur activités, les PGPR sont classés comme biofertilisants (une fois appliqué à la surface des plantes ou dans le sol, ils colonisent la rhizosphère et stimulent la croissance végétale par l'amélioration de l'absorbance ou la disponibilité des nutriments essentiels), Phytostimulateur (améliore la croissance et le développement des plantes), Biopesticide ou agent de biocontrôle (contrôle les agents phytopathogènes par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques) (Riaz et al., 2021) (figure 02).



**Figure 02 :** Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère (Anonyme,2016)

## 5.1. Biofertilisation

### 5.1.1. Fixation d'azote

L'azote c'est un nutriment important pour la croissance et le développement des plantes et leur productivité. La pollution environnementale due aux applications d'engrais chimique a largement diminuée grâce à l'utilisation des bioengrais tels les bactéries fixatrice d'azote. Les microorganismes aassociation symbiotique produisent 80 % de l'azote et le reste provient des systèmes libre ou associées (Graham, 1988). La fixation d'azote non symbiotique a une grande importance en agronomie (Saxena et tilak, 1998). Les bactéries fixatrice d'azote associé à la rhizosphère sont de plus en plus utilisée dans les culture non légumineuses comme le maïs et le riz (Dobereiner, 1997 ; Shalin et al,2004).

### 5.1.2. Solubilisation de phosphate

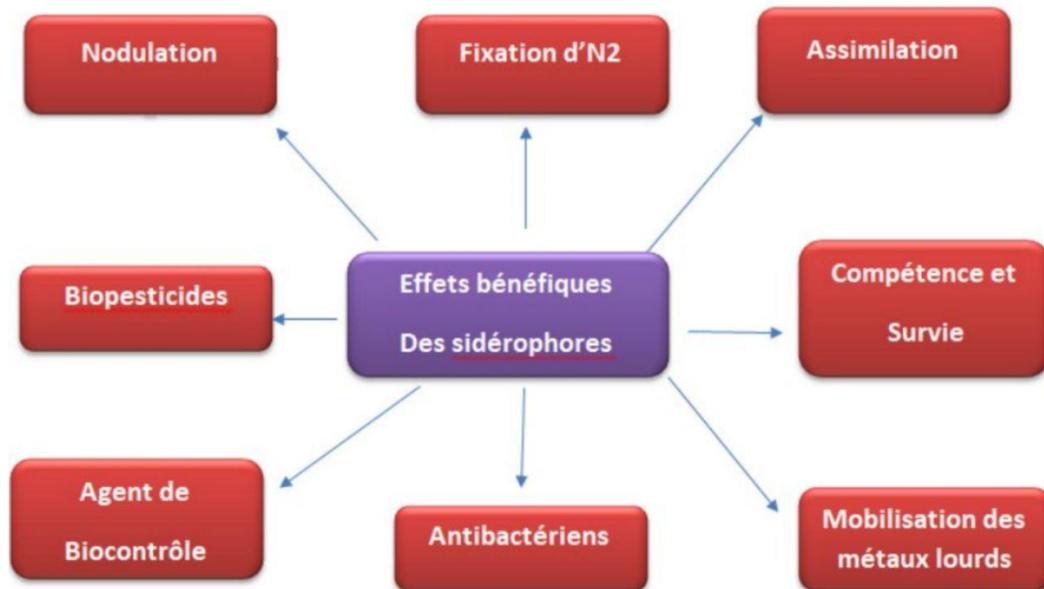
le phosphate est un élément important après l'azote, il est disponible en grande quantité dans le sol sous deux formes différentes organique et inorganiques (Khan et al., 2009). Il a un rôle important dans plusieurs processus métaboliques dans les plantes, parmi ces

fonctions:la photosynthèse ; transfert d'énergie ; transduction du signal; biosynthèse de macromolécule et respiration (Khan et al. 2010).La forme insoluble de phosphore ne peut pas être utilisée par la plante. Grâce aux bactéries rhizosphériques, la forme insoluble de phosphore devient soluble et la plante pourra l'absorber ( Rogers et al., 1998 ).Le phosphore partie de ces éléments que l'on nomme « limitants », c'est-à-dire qu'ils sont nécessaires à la croissance des plantes terrestres et aquatiques. Sans phosphore ou phosphate, la plante dessèche, la floraison est retardée, la production est moindre. Une plante sans phosphore souffre d'un retard de croissance et ses feuilles changent de couleur.

Le principal mécanisme de solubilisation du phosphore est la production d'acides Organique, les acides gluconique et 2-cetoglucanique on peut citer aussi les acides glycolique,oxalique, maloniques et succinique.Parmi les espèces bénéfiques qui favorise la solubilisation de phosphate :Azotobacterspp.,Bacilluspp., Beijerinckiaspp., Burkholderiaspp., Enterobacterspp., Erwiniaspp., Flavobacterium spp., Microbacterium spp., Pseudomonas spp.,Serratiaspp. etRhizobium spp. (Bhattacharyya et Jha, 2012).

### 5.1.3. Production des sidérophores

Le fer est un nutriment vital pour les plantes, il est abondant dans le sol souvent sous une forme insoluble. Quelques PGPR ont développé un moyen qui leur permettent de capter le fer insoluble et le convertir en fer soluble. Ces molécules sont appelées sidérophores,ils sont de faible poids moléculaire, généralement inférieur à 1 KDA, et ils contiennent des groupements fonctionnelles capable de capter le fer et le rendre assimilable par les plantes (Kirdi et Zermane,2010 ). Il sont secrété en réponse à une limitation en fer. Ces molécules réduisent le  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  via un mécanisme de synchronisation reliant les membranes bactérienne interne et externe. Plusieurs études ont rapporté que les sidérophores sont produit par plusieurs rhizobactéries telles que Klebsiella, Bacillus, Bradyrhizobium, Streptomyces, Serratia et Rhizobium. Les sidérophores réduisent les microbes pathogènes en créant une compétition pour le fer dans la région rhizosphérique(Subramaniam et Sundaram, 2020).



**Figure 03 :** Fonctions biologiques des sidérophores(Khan et al.,2009)

## 5.2. phytostimulation

### 5.2.1. Production des phytohormones

Les phytohormones sont produit par plusieurs rhizobacteries pour stimuler la croissance et le développement des plantes, on peut citer les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène qui règlent l'élongation, la division cellulaire ,la différenciation tissulaire et la dominance apicale (Arora, 2013). Les hormones végétales sont des messages chimiquemodulant la capacité de la plante à réagir à son environnement et également jouent un rôle dans la réponse de la plante aux stress biotique et abiotiques. Plusieurs études ont montré qu'on peut utiliser les hormones en tant que molécules signal pour la communication entre les bactéries et microorganismes (Spaepen et al., 2008).

La phytohormone indole acétique acide (AIA) appelé également auxine, est la plus courante parmi les bactéries associées aux plantes et jouent un rôle central dans les interactions plantes-bactéries. L'action principale de l'AIA est l'augmentation des racines, en particulier des poils absorbants et des racines secondaires, ce qui entraîne par conséquent une augmentation

des exsudats racinaires. Plus la surface raculaire est grande, plus l'absorption des minéraux du sol est meilleure. Les cytokinines jouent également un rôle central dans le développement du système vasculaire, dans l'embryogenèse, dans la formation de nodules, et en réponse aux changements environnementaux. Les gibbérellines sont impliquées dans le transport des métabolites dans la formation des chloroplastes, la sénescence des feuilles, la division cellulaire et la morphogénèse des tiges (Voccianteetal.,2022).

### **5.2.2. Production de l'éthylène et d'ACC-désaminase**

Certains PGPR sont capables de produire une enzyme, la 1-aminocyclopropane- 1-carboxylate désaminase (ACC désaminase)(Saleemet al.,2007). Cette enzyme joue un rôle bien connu dans la régulation de l'hormone végétale éthylène, et dans la croissance et le développement des plantes, sa présence a été largement signalée chez de nombreuses espèces microbiennes (bactéries Gram négatives et Gram positives, endophytes et champignons). Elle est largement étudiée chez *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* isolés de la rhizosphère de différents sols ou de différentes plantes. L'ACC désaminase peut réduire ou prévenir certains effets nocifs des niveaux élevés d'éthylène.

L'éthylène jouant un rôle important dans la croissance des plantes, l'initiation et l'allongement des racines, la nodulation, la sénescence, l'abscission et la maturation ainsi que la signalisation des contraintes(Desbrosseset al.,2009).

L'action de l'ACC désaminase s'effectue par l'inactivation du précurseur de l'éthylène ACC, générant de l'ammoniac et de l'alpha-cétobutyrate. Des niveaux élevés d'éthylène peuvent inhiber la croissance des plantes et même les tuer. Sous stress salin ou d'autres stress environnementaux, l'activité de l'ACC synthase et de l'ACC oxydase augmentent l'éthylène synthétisé par la plante. Par conséquent, l'enzyme bactérienne ACC désaminase aide les plantes à diminuer les effets négatifs du stress en facilitant l'adaptation et la survie(Del Carmen et al.,2020).

### **5.3. Boicntrole**

#### **5.3.1. Production d'enzymes lytiques**

La sécrétion et la production d'enzymes lytiques sont les principales caractéristiques des agents de lutte biologique pour prévenir la développement de microbes pathogènes. Le mécanisme d'action des enzymes lytiques est de perturber la stabilité et l'intégrité des parois cellulaires des pathogènes cibles, principalement en protégeant les plantes contre plusieurs champignons pathogènes tels que *Sclerotiumrolfsii*, *Botrytis cinerea*, *Fusariumoxysporum*, *Pythiummultimum*, *Phytophthorasp.*, et *Rhizoctoniasolani*. Les PGPR produisent différents enzymes lytiques telles que la déshydrogénase, les chitinases, la b-glucanase, protéases, phosphatases, lipases (Hakim et al.2021).

Les enzymes jouent également un rôle important dans la biofertilisation des sols à travers la dégradation de la matière organique. Des enzymes comme les protéases, les lipases, les amylases, les chitinases, les uréases etc. sont souvent rechercher comme caractères de choix afin de sélectionner des PGPR efficaces (Rai et al., 2018).

#### **5.3.2. Compétition**

La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme indirecte utilisé par les PGPR pour éliminer les phytopathogènes dans la rhizosphère et qui sont en concurrence les uns avec les autres pour la nourriture ou pour l'occupation physique du site, car les microorganismes pathogènes et non pathogènes partagent les même sites et les même élément nutritifs . Ainsi, pour qu'un agent de lutte biologique puisse survivre dans un tel environnement, il doit produire des sidérophores qui ont une forte affinité avec le fer, en le rendant moins disponible aux pathogènes et en inhibant leur croissance dans la rhizosphère (Tabassum et al.,2017).

Dans certains cas, la réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (Bais et al., 2004).

### 5.3.3. L'antibiose

L'un des mécanismes les plus étudiés et le plus puissant contre les phytopathogènes est la production d'antibiotiques. La production d'antibiotiques est un moyen extrêmement efficace, il permet aux rhizobactéries d'inhiber le développement des phytopathogènes sur les plantes (Islam et al., 2016). Ces molécules bioactives sont des métabolites secondaires à faible poids moléculaire tels que les antibiotiques, le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), cyanure d'hydrogène (HCN) et la phénazine, etc. (Corbaz, 1990 ; Babalola, 2010 ; Shameer et Prasad, 2017).

La production d'antibiotiques permet généralement une meilleure compétition entre les microbes et améliore ainsi l'efficacité des associations PGPR bénéfiques (Sharma et al., 2017). Des études ont rapporté les différents groupes d'antibiotiques dont les phloroglucinols, les phénazines, la pyolutéorine, les lipopeptides cycliques et la pyrrolnitrine (Ali et al., 2014; 2020).

### 5.3.4. Induction de la résistance systémique (ISR)

Il est largement admis que de nombreux PGPR sont impliqués dans la stimulation de la défense des plantes contre les phytopathogènes (virus, bactéries, champignons et insectes). Ce phénomène est désigné par « résistance systémique induite » (ISR). Des bactéries comme *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Burkholderia* et *Alcaligenes* sont capables d'induire une résistance des plantes vis-à-vis des phytopathogènes comme *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *Pythium multimum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora*, etc. (Jordan et al., 2008 ; Romera et al., 2019). Les plantes utilisant

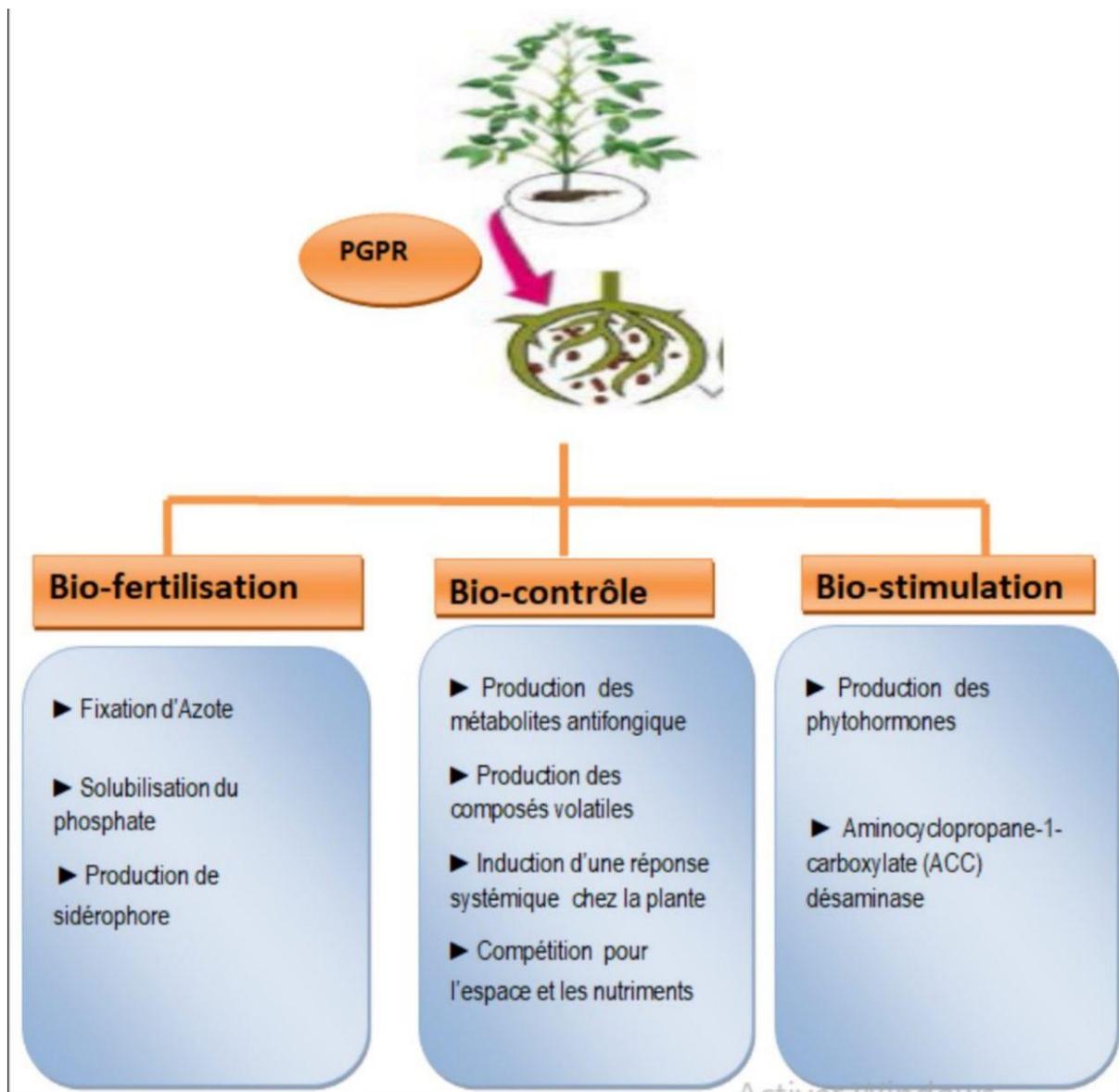
le PGPR présentent une résistance systémique à une large gamme de phytopathogènes (Naznin et al.,2013).

L'induction de l'ISR nécessite la voie de signalisation de l'acide jasmonique (JA) suivie de la voie de signalisation de l'éthylène, Pour de nombreux agents de lutte biologique, la ISR a été reconnue comme le mécanisme qui explique au moins en partie la suppression de la maladie(Hamid et al.,2021). Le phénomène de l'ISR peut être divisé en trois étapes principales,Ces étapes sont:

- La perception par la plante des molécules bactériennes responsables du phénomène d'élicitation;

La transmission du signal nécessaire pour la systématisation du phénomène dans la plante;

L'expression des mécanismes de défense qui vont limiter et inhiber la pénétration de pathogène dans les tissus de l'hôte végétal.



**Figure 4 :** schéma générale des mécanismes directe et indirecte des PGPR.

*Partie*  
*expérimentale :*  
*Matériel et Méthodes*

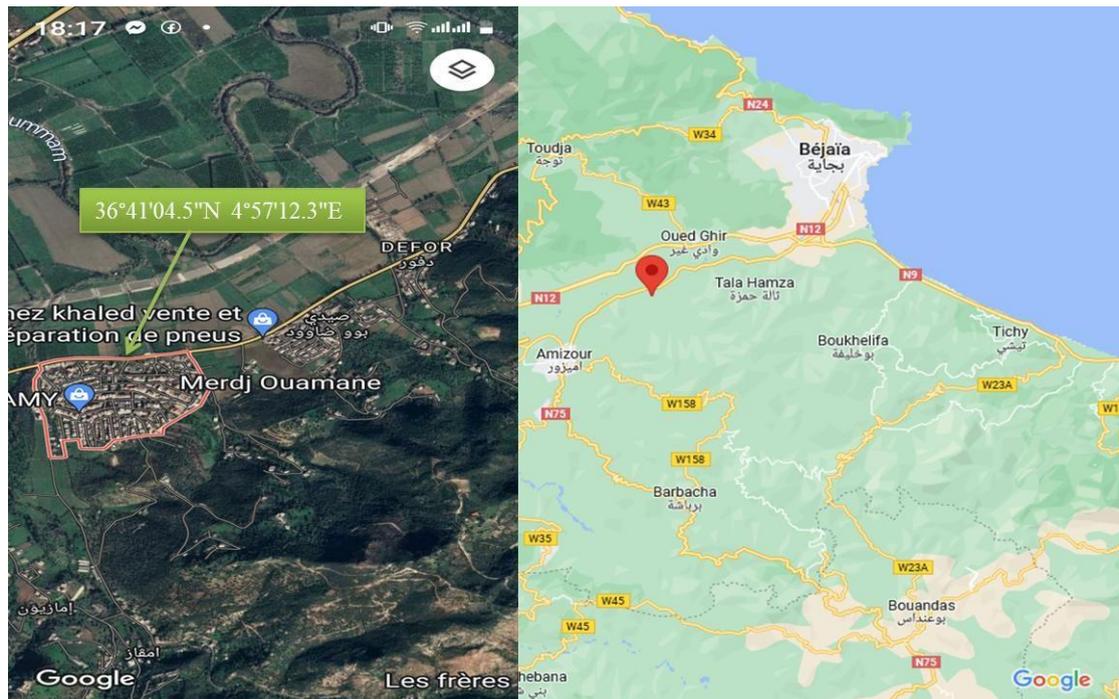
Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables (Equipe Biomasse et Environnement). Les expériences ont été menées durant une période de 3 mois (Avril-juin 2022). Notre objectif était de sélectionner des isolats bactériens rhizosphériques présentant des traits des PGPR.

## 1. Prélèvement

Plusieurs prélèvements du sol rhizosphérique (Tomate, Chou-fleur, Epinard et Poivron) ont été réalisés en mois d'Avril 2022 à Bejaia dans la région de Merdjouaman (36°41'04.5"N 4°57'12.3"E). Les échantillons prélevés ont été par la suite placés dans des flacons stériles et transporter directement au laboratoire pour isolement (Tableau I).

**Tableau I** : Prélèvement du sol rhizosphérique

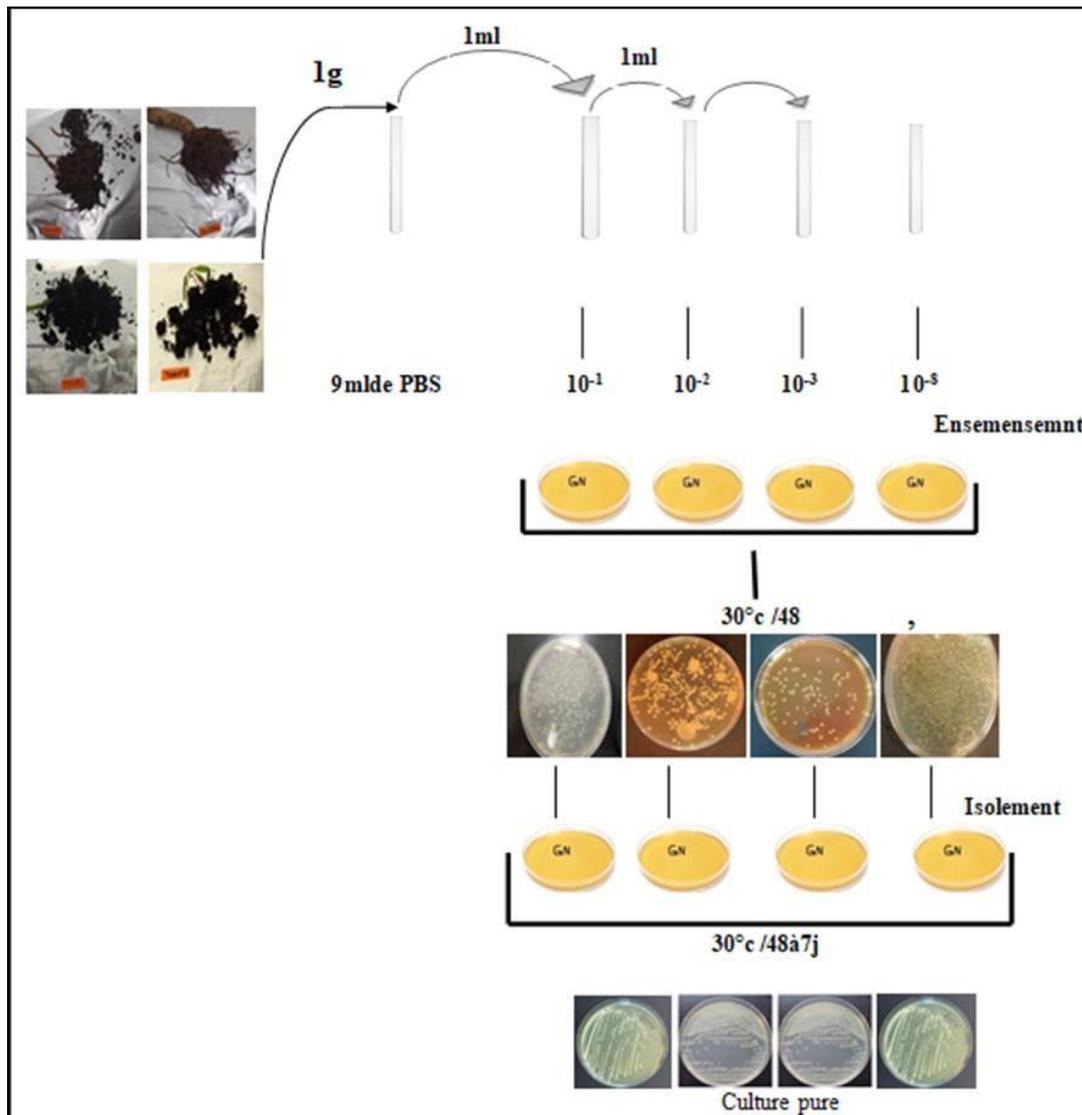
Échantillons	Photos des échantillons
Tomate cultivée sous serre	
Poivron cultivé sous serre	
Epinards	
Chou-fleur	



**Figure 5 :** Localisation géographique de la zone de prélèvement

## 2. Isolement des bactéries

1g de sol rhizosphérique est prélevé de chaque échantillons du sol puis dissous dans 9 ml d'eau physiologique, après agitation pendant 5 min, des séries des dilutions sont préparées ( $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ ). Un volume de 1ml de chaque dilution est encensé sur milieu PCA (Annexe I). Les boîtes sont par la suite incubées à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 h . Enfin des repiquages successifs de toutes les colonies apparues sont effectués jusqu'à l'obtention de colonies pures (figure 6).



**Figure 6 :** Étapes d'isolement à partir des échantillons de sol méthode des suspension dilution des bactéries isolées.

### 3. Recherche des propriétés d'intérêt d'agricole

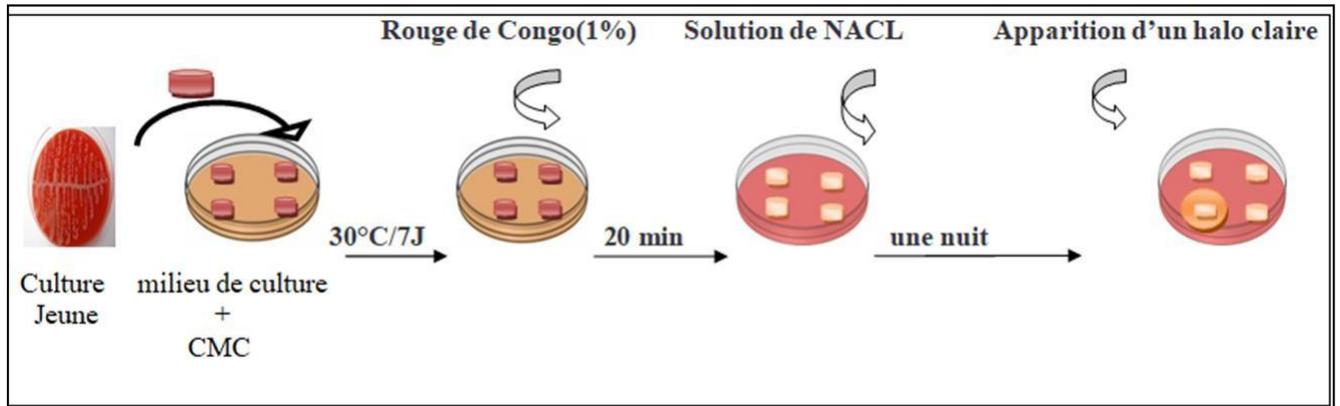
#### 3.1.1. Activités Enzymatiques

Plusieurs enzymes sont recherchées pour leurs rôles dans la fertilisation de sol ou dans le contrôle biologique des maladies des plantes. Cette recherche est effectuée par la méthode des cylindres d'agar. Pour toute les activités, un spot de 10 UL de chaque isolat (âgé de 24h) est déposé à la surface du milieu convenable puis incubé à 30°C.

#### 3.1.2. Activité cellulasique

L'activité cellulasique est recherchée sur milieu de Carder (1986) contenant en g /L :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (6) ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3) ;  $\text{NaCl}$  (0,5) ;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1) ; Extrait de levure (3) ; CarboxyMethyl Cellulose(CMC) (5) ; Agar (15). Les boites ensemencées sont incubées pendant 7 jours. A la fin de l'incubation, une solution aqueuse de rouge de Congo (1%) est ajoutée à la surface des

colonies (Nermeen *et al.*, 2010). Après 20 min, la surface est inondée par une solution de NaCl à 1M puis conservée une nuit (Jaradat *et al.*, 2008). L'activité cellulosique se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des cylindres.



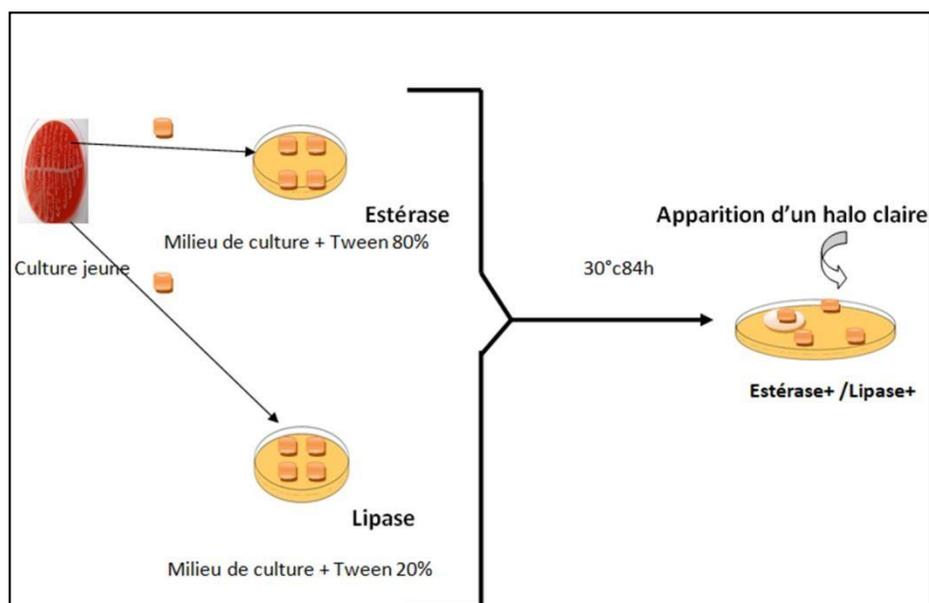
**Figure 7 :** Recherche de l'activité cellulosique des bactéries.

### 3.1.3. Activité esterasique

Ces activités sont recherchées sur le milieu de culture décrit par Sierra (1957) qui contient en g/l : peptone (10) ; NaCl (5) ; CaCl 2H<sub>2</sub>O (0.1) ; Agar (18), le Tween 80 (1%, v/v). Le pH est ajusté à 7,4 (Carrim *et al.*, 2006). Après ensemencement, les boites sont incubées pendant 48h. La présence d'une activité est traduite par l'apparition d'une zone opaque autour des colonies.

### 3.1.4. Activité lipasique

La recherche de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité esterasique, cependant le tween 80 est remplacé par le tween 20 (figure 8).



**Figure 8 :** Recherche des activités esterasique et lipasique.

### 3.1.5. Activité chitinasique

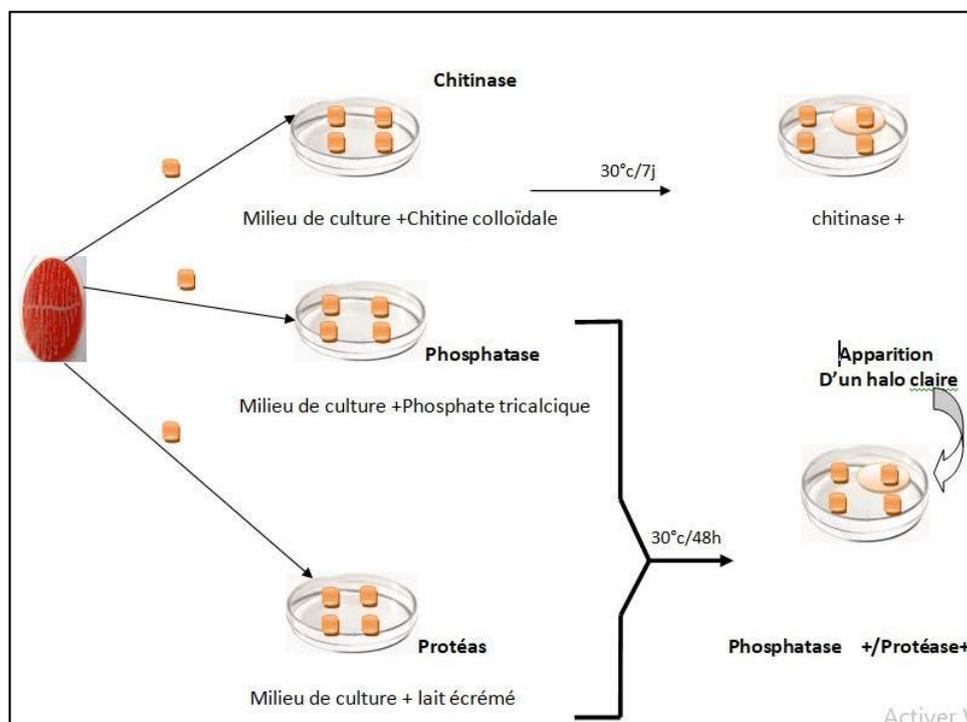
Le milieu de culture suivant est utilisé, il est composé en g/l de : la chitine colloïdale : (0.6 – 0.8) ;  $K_2HPO_4$  (2.7) ;  $KH_2PO_4$  (0,3) ;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0.7) ; NaCl (0.5) ; KCl (0.5) ; Extrait de levure (0.13) ; Agar (15). L'incubation dure 7 jours au minimum à 30°C. La présence de chitinase est révélée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies bactériennes (Kopečný et al., 1996) (figure 9).

### 3.1.6. Activité protéasique

L'activité protéasique est réalisée sur un milieu de culture contenant en g/l : caséine pancréatique (5) ; extrait de levures (2,5) ; glucose (1), agar (15). Le milieu est ajusté à pH 7. Parallèlement, 100 ml d'une solution de lait écrémé à 10% autoclavée (120°C/10 min) est préparée et ajoutée au milieu. Ce dernier est ensuite ensemencé par la méthode des disques. Les bactéries ayant une activité protéasique montrent après 48h d'incubation, un halo transparent autour des disques (Bach et Munch, 2000)(figure 9).

### 3.1.7. Activité phosphatasique

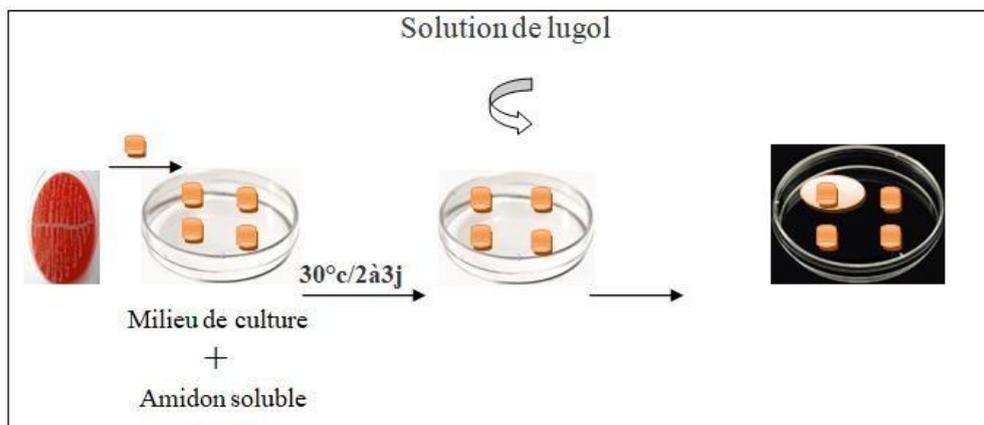
Le milieu de culture est composé en g/l : extrait de levure (0,5) ; glucose (10) ;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0.1) ; Agar (1,5) ;  $(NH_4)_2SO_4$  (0,5) ;  $Ca_3(PO_4)_2$  (5) ; NaCl (0,2) ; KCl (0,2) ;  $MnSO_4 \cdot 2H_2O$  (0,002) et  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,002), L'activité phosphatasique est révélée par l'apparition d'un halo transparent autour des colonies (figure 10).



**Figure9** : Recherche des activités chitinasique, phosphatasique, protéasique des isolats.

### 3.1.8. Activité amylasique

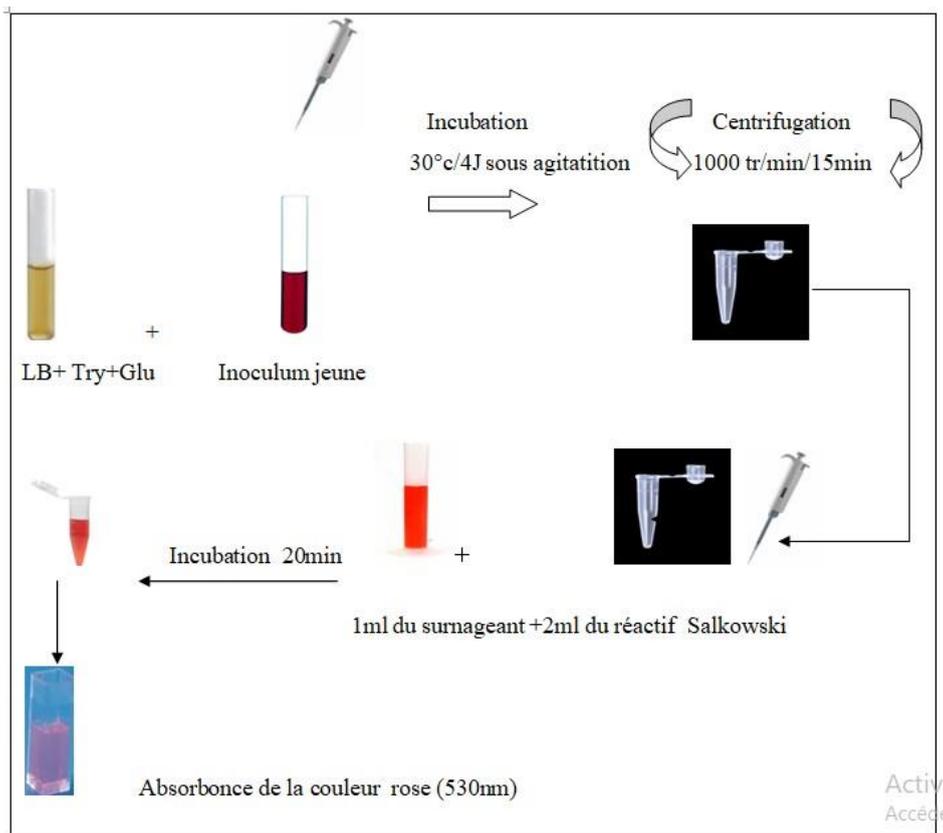
Le test d'activité amylasique est réalisé sur gélose à base d'amidon. Le milieu contient en g / l :  $\text{KNO}_3$  ( 0,5 ) ,  $\text{K}_2 \text{HPO}_4$  ( 1,0 ) ,  $\text{MgSO}_4$  ( 0,2 ) ,  $\text{CaCl}_2$  ( 0,1 ) ,  $\text{FeCl}_3$  ( 0,001 ) , amidon soluble ( 10 ) , agar ( 15 ) , le pH est ajusté à 7. Le milieu estensemencé puis incubé pendant 48h à 72 h ,Après incubation, une solution de lugol préalablement préparée est versée sur la surface du milieu, quelques minutes après, l'excès est éliminé et les boîtes sont rincées à l'eau distillée. L'apparition d'une zone claire autour des disques traduit la présence d'une activité amylasique (Vinoth et al., 2009 ).



**Figure 10 :** Recherche de l'activité amylasique

### 3.2. Production de l'auxine (AIA) (Bric et al,1991)

La production d'AIA (auxines) par les bactéries sélectionnées est déterminée selon la méthode de Bric et al (1991). Les bactéries sontensemencées sur milieu LauriaBertani (LB) supplémenté de 0,5% de glucose et de 0,5mg/ml de tryptophane. Ce dernier est préalablement filtré à travers une membrane millipore (0.22  $\mu\text{m}$ ) et ajouté au milieu après autoclavage. Après une incubation à 28°C/72 h sous agitation, les cultures sont centrifugées à 1000 tr/min/15min. Après centrifugation, 1ml du filtrat est récupéré et additionné de 2 ml du réactif de Salkowsky (150 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  98% + 250 ml  $\text{H}_2\text{O}$ + 7,5 ml  $\text{FeCl}_3$  0,5M). Le mélange est ensuite incubé à l'obscurité pendant 20min. Le développement d'une couleur rose est l'indicateur de la production d'AIA. L'absorbance de la coloration rose apparue est mesurée par spectrophotomètre à 530 nm. Les valeurs d'AIA produit par chaque souche sont calculées par extrapolation sur une courbe standard préparée de la même façon avec de l'AIA pure (Sigma-Aldrich ®) (annexe II) (figure 11).



**Figure 11** : Recherche de la production de l'AIA

### 3.3. Mise en évidence l'activité antifongique

Deux espèces de champignons phytopathogènes sont testées, il s'agit d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium* sp. (Souches provenant de Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables, université de Bejaia). Les champignons sont repiqués sur milieu PDA : Potato Dextrose Agar (Annexe I), dans le but d'obtenir des cultures jeunes.

Dans le but de vérifier le potentiel antagoniste des isolats obtenus, un disque de champignons (5 mm de diamètre) est déposé au préalable au centre d'une boîte de pétri contenant le milieu PDA, ensuite 4 spot d'une culture jeune de chaque isoat sont déposé chacun a une distance de 2,5 cm du champignon. Des boîtes de pétri ne contenant que le champignon cible sont préparées en parallèle pour servir de témoin. Toutes les boîtes sont incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}/5-7\text{J}$ .

L'effet antifongique, il est évalué par la détermination du pourcentage d'inhibition de la croissance ( PGI % ) selon la formule décrite par saddiki ( 1999 ).

$$\text{PGI}\% = \frac{\text{KR}-\text{R1}}{\text{KR}} \times 100$$

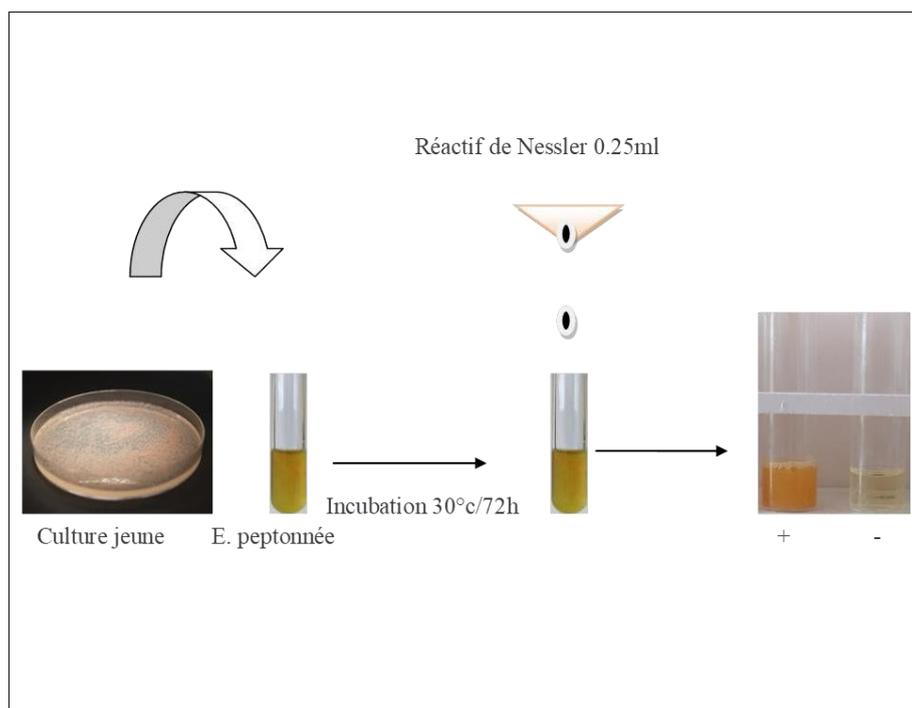
KR : Distance en mm entre le point du dépôt du champignon et la marge de la colonie contenue dans le témoin.

R 1 : Distance en mm entre le point de dépôt du champignon et la marge de la colonie contenue dans la boîte de pétri traitée

### 3.4. Mise en evidence de la production de certains metabolites antifongiques

#### 3.4.1. Production d'ammoniac (NH<sub>3</sub>)

Ce test est réalisé selon la méthode de Capuccino et Sherman (1992). Il consiste à inoculer 100µl de la suspension bactérienne dans 5ml d'eau peptonée. Après incubation à 30°C /96 h, 250µl du réactif de Nessler sont ajoutés dans chaque tube d'eau peptonée. Le développement d'une couleur jaune ou orange indique la production de NH<sub>3</sub> (figure 12).

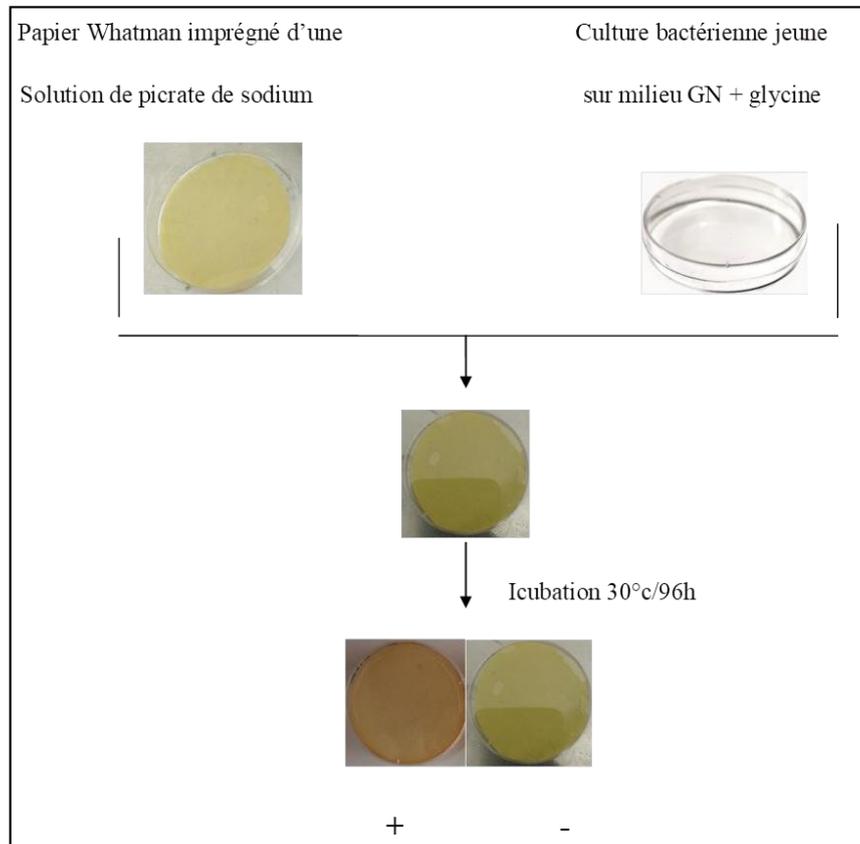


**Figure12** : Recherche de la production d'ammoniac

#### 3.4.2. Production d'HCN r

La production d'HCN (Cynure d'hydrogène) est recherchée selon la méthode de Lorck (1948) sur gélose nutritive (GN) (Annexe I) additionnée de glycine (4,4g/l). La culture bactérienne estensemencée par stries sur boîtes de Pétri. Un disque de papier Whatman 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. Cette dernière est scellée avec du parafilm et incubée à 30°C/96 h. Le résultat positif se traduit par le virage de la couleur du papier Whatman du jaune vers une couleur orange à marron indiquant la production d'HCN (figure13).



**Figure 13:** production de Cyanure d'hydrogène (HCN).

# *Résultats et discussion*

## 1. Isolement de rhizobactéries

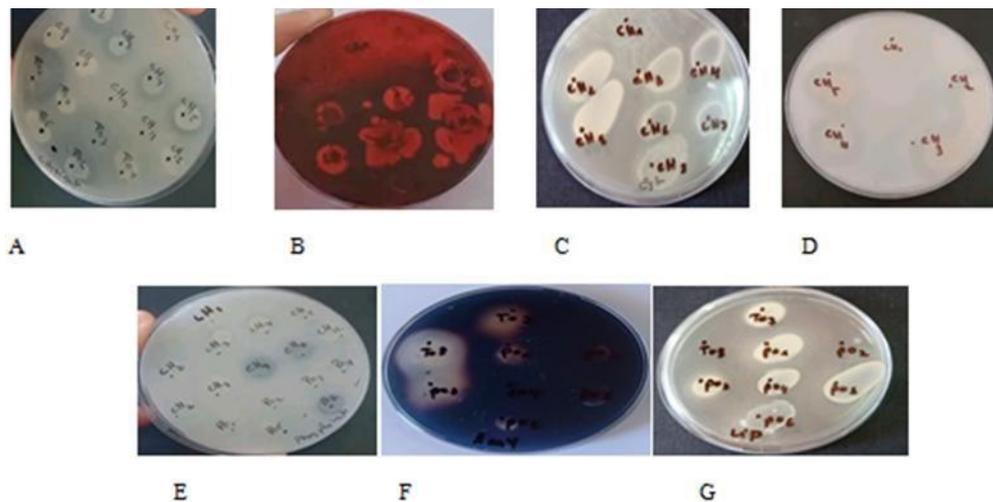
Dans ce travail, 4 échantillons de sol rhizosphérique (tomate, épinards, poivron, chou- fleur) ont été prélevé de la région MarjOuamane de la commun Amizour, dans le but d'isolé des rhizobactéries.

A partir des échantillons prélevés, 32 isolats bactériens ont été obtenus, 10 isolats à partir du sol rhizosphérique de chou-fleur, 9 du sol rhizosphérique des épinards,8 ; 5 isolats obtenus à partir du terreau de tomate et de poivron respectivement.

## 2. Recherche des propriétés d'intérêt agricole

### 2.1. Activité Enzymatiques

Les 32 isolats sélectionnés sont testés pour la production de plusieurs enzymes d'intérêt agricole; protéase ; cellulase ; phosphatase ; uréase ; lipase ; estérase et amylase. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau II, La figure 14, montre l'aspect des résultats des activités enzymatique positives.



**Figure 14** : Résultats des activités enzymatiques recherchées.

A: chitinase, B: Cellulase, C: Estérase, D: Protéase, E: Phosphatase, F: Amylase, G: lipase

**Tableau II : Résultat des tests des activités enzymatiques**

<b>Isolats</b>	<b>Proteas e</b>	<b>Esteras e</b>	<b>Cellula se</b>	<b>Amylas e</b>	<b>Lipas e</b>	<b>Chitina se</b>	<b>Phosphat es</b>
<b>CH1</b>	+	+	+	-	-	-	-
<b>CH2</b>	+++	++	+	+++	++	++	-
<b>CH3</b>	+++	+++	+	+++	++	+	+
<b>CH4</b>	+++	++	+	++	++	+	+
<b>CH5</b>	+++	-	++	-	+	+	-
<b>CH6</b>	+++	+	++	++	-	-	-
<b>CH7</b>	+++	++	+	+++	+	-	-
<b>CH9</b>	-	++	+	-	-	-	++
<b>CH11</b>	+++	++	+	+++	++	-	+
<b>CH12</b>	+++	-	+	++	-	-	-
<b>PO1</b>	+++	+++	+	++	+++	+++	-
<b>PO2</b>	++	+	++	++	-	+	-
<b>PO3</b>	+++	+	-	+++	+++	+	-
<b>PO4</b>	++	-	+	-	-	-	-
<b>PO5</b>	-	+++	+	+	++	++	-
<b>PO6</b>	+++	+++	-	+++	+	+++	+
<b>TO1</b>	-	++	+	-	+++	-	-
<b>TO2</b>	-	+	+	-	-	-	-
<b>TO3</b>	+	+	+	+	++	-	+
<b>TO4</b>	+	-	+	+	-	-	+
<b>TO5</b>	-	-	+++	-	++	+++	-
<b>TO6</b>	-	-	+	+	-	-	+
<b>TO7</b>	+++	+	+	+++	+	+	-
<b>TO8</b>	++	-	+	+++	-	-	-
<b>EP1</b>	+++	-	+	+	-	-	-
<b>EP2</b>	+++	+++	++	+++	+++	+++	-
<b>EP3</b>	-	+++	+	-	-	-	-
<b>EP4</b>	+	-	++	-	-	-	+
<b>EP5</b>	+++	+	++	+	-	+	-
<b>EP6</b>	+++	+++	++	+++	+++	++	-
<b>EP7</b>	++	+	+	-	-	+	+
<b>EP8</b>	+++	-	-	++	-	-	-

D'après ces résultats, les 32 isolats produisent au moins deux enzymes parmi ceux testés durant cette étude. 25/32 isolats produisent des protéases, 22/32 produisent des estérases, 29/32 produisent des cellulases, 22/32 produisent des amylases, 16/32 produisent des lipases, 15/32 produisent des chitinase et 10/32 produisent des phosphatases.

Les enzymes d'origine microbienne sont utilisés en biotechnologie (agroalimentaire, détergent, textile, pharmacie, médecine, biologie moléculaire, etc)(Carrim et al , 2006). En agriculture l'intérêt suscité par ces microorganismes se base sur la possibilité de leur application comme bio-fertilisants et agents de biocontrôle. Les enzymes participent dans la fertilisation des sols par la dégradation des polymères organiques.

D'après Di-Francesco et al. (2015), la capacité des bactéries à produire des enzymes hydrolytiques joue un rôle important dans l'activité antagoniste et l'amélioration de la biodisponibilité des nutriments pour la plante.

### **2.1.1. Activités cellulasiques et amylasique**

Les résultats obtenus montrent que l'activité cellulasiq ue est observée chez 90.62% et l'activité amylasique est détectée chez un nombre important de nos isolats (22/32). (Tableau II). Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4)- $\beta$ -D –Glucanohydrolase] sont des enzymes extracellulaires qui peuvent briser les liaisons  $\beta$ -(1,4) des polysaccharides de la cellulose en glucose (korish, 2003). Plusieurs bactéries rhizosphériques du genre *Pseudomonas* et *Bacillus* ont la capacité de produire l'enzyme cellulases (Mitchell et Alexander, 1963 ; Reetha et al, 2014). Ces enzymes jouent un rôle majeur dans la dégradation des parois cellulaires fongiques (Reetha et al, 2014).

### **2.1.2. Activités estérasique et lipasique**

La production de lipase est rapportée chez les plantes, les animaux et les microorganismes. Les lipases de ces derniers sont produites par des bactéries du genre : *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium* et *Pseudomonas* (Gupta et al., 2004), par certaines levures : *Condida* (Grochulski et al., 1993 ; Grochulski et al., 1994) ainsi que chez les champignons : *Thermomyces*, *Penicillium* et *Rhizopus* (Derewenda et al., 1994). Les estérases sont des enzymes ubiquitaires qui ont été retrouvées autant chez des Eucaryotes et les Eubactéries, que chez des Archaeobactéries. La production de cette enzyme est vérifiée chez *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Arthrobact ter* spp., *Aspergillus* spp. (Ramnath et al, 2016). La synthèse des lipases et des estérases par les bactéries testées contribue à la dégradation de la matière grasse et par

Conséquent, ces bactéries pourraient participer au recyclage de la matière organique en fournissant les éléments nécessaires aux plantes.

### **2.1.3. Activités protéasique**

78.12% des isolats obtenus produisent des protéases. La protéase est une enzyme qui dégrade les peptides en acides aminés de sorte qu'ils seront ensuite facilement utilisés par les microorganismes antagonistes (Yandri et al, 2008). Selon O'sullivan et al. (1991), la présence de la protéase chez les microorganismes rhizosphériques contribue à l'amélioration de leur pouvoir de colonisation ainsi qu'à leur pouvoir antagoniste contre les agents pathogènes (Kaur et al, 1989).

Les protéases peuvent être produites par les bactéries, les moisissures et les levures. Les protéases d'origine bactériennes sont essentiellement la subtilase, produites par *Bacillus subtilis* et quelques genres apparentés (Boudehane et Mezioud, 2017), et de *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida* (Dendouga, 2006). Pour les moisissures, il s'agit essentiellement de *Aspergillus oryzae* (Garcia-Gomez et al., 2009) et de certaines levures *Aureobasidium pullulans* (Chi et al., 2007).

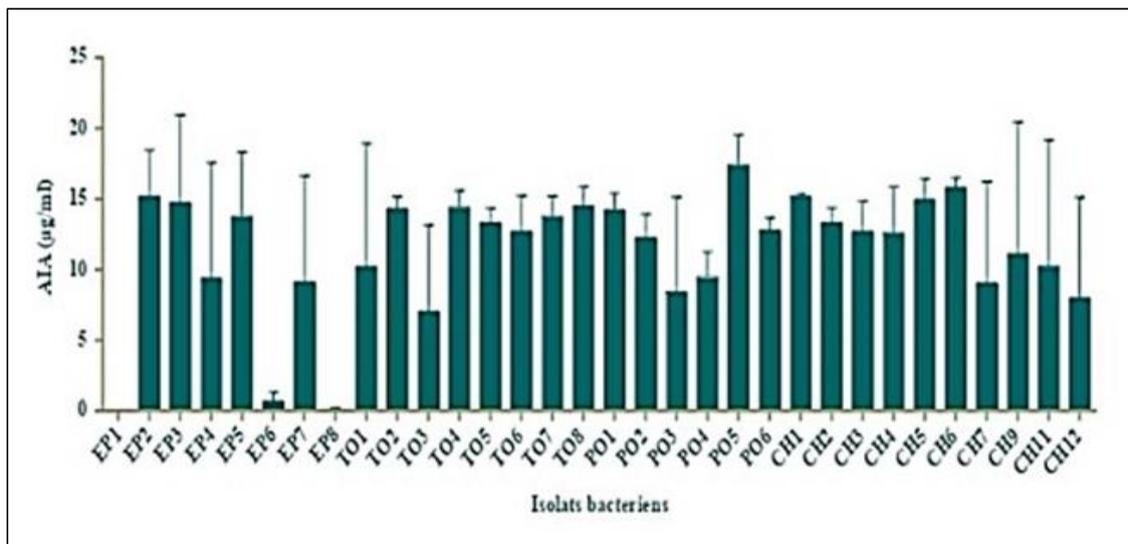
### **2.1.4. Activité chitinasique**

Les chitinases ont été décrites comme des enzymes ayant des capacités de dégrader la chitine. Les microorganismes qui la produisent jouent un rôle majeur dans la lutte contre les champignons phytopathogènes dont leur paroi cellulaire contient de la chitine (Ayantola et al, 2020). Dans cette étude, 15 isolats ont produit la chitinase, les autres semblent avoir d'autres mécanismes pour contrôler la croissance des champignons.

## **3. Production d'AIA**

La production de l'AIA chez les isolats est révélée par l'utilisation du réactif Salkowsky. La présence de l'indole dans le milieu de culture se traduit par l'apparition d'une couleur rose. L'intensité de la coloration, dépend du taux d'AIA produits.

Les concentrations d'AIA produites par les isolats sont calculées en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe II). Les résultats obtenus sont présentés dans le graphe ci-dessous.



**Figure 15 :** Production d’AIA par les isolats

La réaction positive indique l’aptitude de l’isolat à Métaboliser le L – tryptophane en AIA. D’après ce graphe on constate que 31/32 isolats sont producteurs d’AIA à des concentrations variables. Uniquement un seul isolat, s’est avéré non producteur de l’AIA, il s’agit de l’isolat EP1. La concentration la plus élevée est obtenue avec l’isolat PO5 avec une valeur de 25ug/ml et la plus faible est enregistrée chez l’isolat EP6 avec une valeur de 3 ug/ml.

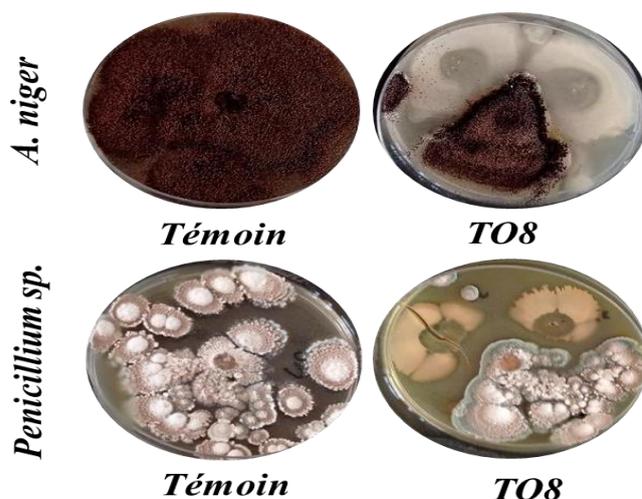
Les hormones végétales ou phytohormones telles que : les auxines, gibbérellines et cytokinines régissent la croissance des plantes par le contrôle spatial et temporel de la division, de la croissance et de la différenciation des cellules. Les phytohormones jouent également un rôle essentiel dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques (Peleg et Blumwald , 2011).

L'acide indole-3-acétique (AIA) fait partie du groupe des phytohormones, généralement considéré comme l'Auxine natif le plus important (AshrafulZaman et al, 2009). Les plantes qui produisent des Exsudats racinaires riches en tryptophane sont plus susceptibles d'être en interaction avec les bactéries productrices d'AIA que celles qui n'excrètent pas ce précurseur d'acide aminé (Kamilova et al., 2008).

La production de cette hormone est influencée par les conditions de culture, le stade de croissance et par la disponibilité du substrat dans le milieu. Les bactéries productrices d'AIA stimulent la germination des graines, la division, l'élargissement des cellules et des tissus, l'expansion des feuilles et jouent un rôle majeur dans l'élongation racinaire (Egamberdiev 2008 ; Maleki et al., 2010; Martínez -Viveros et al., 2010 ).

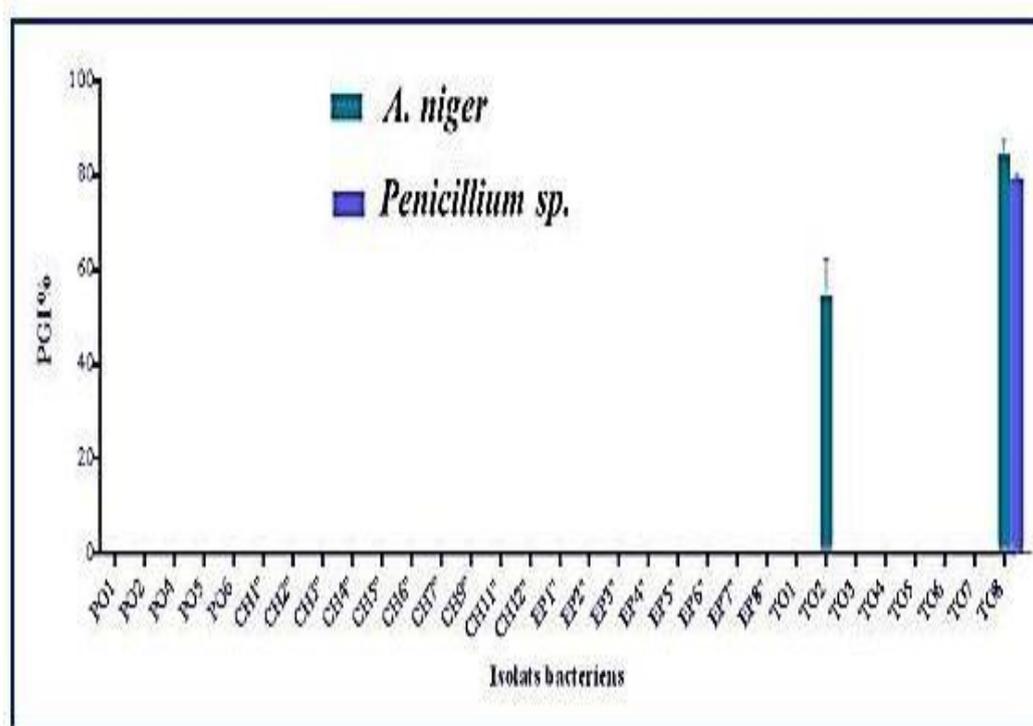
#### 4. Mise en évidence de l'activité antifongique des isolats

Les 32 isolats sont testés pour leur activité antagoniste à l'égard de 2 souches fongiques. L'inhibition de la croissance mycélienne qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition indique un résultat positif (figure 16).



**Figure 16 :** Inhibition exercée par l'isolat TO8 isolat sur *A. niger* et *Penicillium sp.*

La mesure des diamètres des zones d'inhibition a permis de calculer les PGI (pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne). Les résultats de l'activité antifongique des isolats contre *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. Sont présentés dans le graph suivant.



**Figure 17 :** Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons phytopathogènes par les isolats testé

Les résultats obtenus indiquent que 3/32 des isolats ont montré des zones d'inhibition dont le diamètre de ces derniers diffère selon l'isolat testé et le champignon cible.

Le faible % d'inhibition à l'égard d'*Aspergillus niger* est obtenu avec l'isolat TO2 avec un pourcentage de 54,44 % tandis que la valeur la plus importante est obtenue avec la souche TO8 Avec un pourcentage de 84,44%. Dans le cas de *Penicillium* sp. l'isolat TO8 est le seul qui a présenté une activité antifongique avec une valeur de 79,44 %.

Cette variation de taux d'inhibition des champignons tests par l'action des isolats antagonistes pourrait être liée à la composition des métabolites secondaire sécrétés et qui varient selon la souche productrice, comme elle pourrait être liée aux conditions de production des métabolites fongiques.

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'inhibition des champignons phytopathogènes par les bactéries y compris la production d'antibiotiques, la sécrétion d'enzymes hydrolytiques, la compétition pour les nutriments ou la combinaison de ces mécanismes (Marschner et Timonen, 2006 ; Jamali et al, 2009 ; Calvo et al, 2010). Alabouvette et al. (1993) ont démontré que l'efficacité d'un agent de contrôle biologique n'était pas due à un seul mécanisme mais une combinaison de différents modes d'action.

Les genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sont largement connus pour leur activité antagoniste à l'égard des bactéries et des champignons phytopathogènes. Chaves et Lopez et al.(2015 ) ont rapporté que les espèces *Bacillus subtilis* , *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus cereus* sont les meilleurs producteurs de substances volatiles antifongiques. Les isolats étudiés dans ce travail proviennent de la zone rhizosphérique, et les rhizobactéries sont connues pour leur potentiel antifongique. En plus de leur aptitude à lutter contre les champignons phytopathogènes, ces isolats produisent des phytohormones et plusieurs enzymes lytiques qui sont d'intérêt agricole remarquable à cause de leur implication dans la fertilisation des sols et la stimulation de la croissance des plantes.

## **5. Recherche de métabolites à activité antifongique**

Deux métabolites antifongiques ( $\text{NH}_3$  et HCN) ont été recherchés afin de vérifier leur implication dans l'activité antagoniste des isolats bactériens contre les champignons

phytopathogènes. Les résultats des tests de la production de  $\text{NH}_3$  et de l'HCN sont présentés dans le tableau et les figures suivantes.

Les genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sont largement connus pour leur activité antagoniste à l'égard des bactéries et des champignons phytopathogènes. Chaves et Lopez et al.(2015 ) ont rapporté que les espèces *bacillus subtilis* , *l'amyloliquefaciens* et *bacillus cireus* sont les meilleurs producteurs de substances volatiles antifongiques. Les isolats étudiés dans cet travail proviennent de la zone rhizosphérique, et les rhizobactéries sont connus pour leur potentiel antifongique. En plus de leur aptitude à lutter contre les champignons phytopathogènes, ces isolats produisent des phytohormones et plusieurs enzymes lytiques qui sont d'intérêt agricole remarquable à cause de leur implication dans la fertilisation des sols et la stimulation de la croissance des plantes.

**Tableau III : Résultats des tests de production d'HCN et de NH<sub>3</sub>.**

Isolats	NH <sub>3</sub>	HCN
CH1	+	-
CH2	+	-
CH3	+	-
CH4	+	-
CH5	-	-
CH6	-	-
CH7	+	-
CH9	+	+
CH11	+	-
CH12	+	+
PO1	+	-
PO2	-	-
PO3	+	-
PO4	+	-
PO5	+	-
PO6	+	-
TO1	+	-
TO2	+	-
TO3	+	-
TO4	+	+
TO5	+	-

<b>T06</b>	+	-
<b>T07</b>	+	-
<b>T08</b>	+	-
<b>EP1</b>	+	-
<b>EP2</b>	+	-
<b>EP3</b>	+	-
<b>EP4</b>	+	-
<b>EP5</b>	+	-
<b>EP6</b>	+	-
<b>EP7</b>	+	-
<b>EP8</b>	+	-

The image shows four petri dishes containing bacterial cultures. The first three dishes, labeled CH9, CH12, and T04, show a yellowish-brown color, indicating HCN production. The fourth dish, labeled Témoin (control), shows a clear yellow color, indicating no HCN production.

**Figure 18** : Résultats du test de production d'HCN

L'HCN est un métabolite antifongique impliqué dans la lutte contre les phytopathogènes, la production de HCN se manifeste par le virage de couleur de papier wattman de jaune vers le marron. C isolats parmi les 32 (CH9,CH12,T04), ont produit l'HCN.

Les Rhizobactéries sont connues par la capacité de produire des métabolites bénéfiques pour la croissance et la santé des plantes. L'HCN est classé parmi les métabolite impliquer dans la protection des cultures (kachkap et al., 2015) . La production d'HCN est une activité très commune chez les espèces des genres *Pseudomonas* (88,89%) et *Bacillus* (50%) dans le sol rhizosphérique (sebhi ,2016). Le HCN produits par les PGPR assure un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines (Defago et Haas,1990). D'autres travaux, ont rapporté un autre rôle de l'HCN dans l'augmentation de la disponibilité des nutriments dans le sol, par séquestration des minéraux comme le phosphate (Rijavec et Lapanje, 2016) (figure 19).



**Figure 19 :** Résultats du test de production de NH<sub>3</sub>

L'ammoniac est l'agent inhibiteur de certains phytopathogènes. Il est produit comme un intermédiaire du catabolisme des acides aminés des exsudats racinaires assimilés par les bactéries du sol (Cherif, 2014). C'est une molécule clé utilisée dans la signalisation lors de l'interaction entre les plantes et les Rhizobactéries (Becker et al, 2002). 29/32 de nos isolats ont produit l'ammoniaque, la production de l'ammoniaque par les microorganismes de la rhizosphère est souvent recherchée comme un paramètre pour la sélection des bactéries promotrices de la croissance des plantes (Srivastava et al., 2014).

# *Conclusion*

### Conclusion

Le sol est un environnement complexe, contient une grande diversité de micro-organismes bénéfiques que pathogènes. Ces micro-organismes sont principalement des bactéries qui sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencer de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre les agents phytopathogènes. Ces bactéries sont connues sous le nom PGPR.

Dans cette étude, 32 isolats bactériens ont été isolés et purifiés. La recherche des caractères PGP chez ces isolats nous a permis de vérifier la possibilité de sélectionner quelques PGPR potentiels.

L'analyse de nos résultats nous a permis de vérifier la diversité microbienne en termes d'espèce et de caractéristiques fonctionnelle. Les résultats obtenus varient en fonction de l'isolat testé. Certains de nos isolats ont quelques critères PGPR, d'autres ont présenté plusieurs. Ces derniers peuvent certainement, fertiliser le sol et améliorer la croissance des plantes, soit par leurs activités enzymatiques (lipase, estérase, protéase, phosphatase, cellulase, amylase, chitinase) ou par la production de phytohormones ou encore par leur potentiel antagoniste.

Tous ces résultats laissent suggérer l'utilisation de ces isolats actifs comme bio-fertilisants, agents de biocontrôle et stimulateurs de la croissance des plantes

*Au terme de ce travail, et pour une meilleur exploitation de ces isolats il serait intéressante :*

- Réaliser des tests *in vivo* sur plants pour vérifier l'efficacité des isolats ;
- Réaliser des tests d'antagonisme *in vitro* sur d'autres microorganismes phytopathogènes et *in vivo* pour confirmer ces activités ;
- Extraire, identifier et déterminer le mode d'action des molécules impliquées dans la lutte biologique et la stimulation de la croissance des plantes ;
- Identifier les isolats.

# *Références bibliographiques*

**Alabouvette, C., Lemanceau, P., & Steinberg, C. (1993).** Recent advances in the biological control of Fusarium wilts. *Pesticide Science*, 37(4), 365-373.

**Antoun, H., & Prévost, D. (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In *PGPR: biocontrol and biofertilization* (pp. 1-28). Springer, Dordrecht.

**Ashrafuzzaman, M., Hossen, F. A., Ismail, M. R., Hoque, A., Islam, M. Z., Shahidullah, S. M., & Meon, S. (2009).** Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, 8(7).

**Arora, N. K., Tewari, S., & Singh, R. (2013).** Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs. In *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances* (pp. 411-449). Springer, New Delhi.

**Ali, S., Hameed, S., Imran, A., Iqbal, M., and Lazarovits, G. (2014).** Genetic, physiological and biochemical characterization of *Bacillus* sp. strain RMB7 amended with phosphorus-enriched compost. *Pedosphere* 27, 1049–1061. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60366-7

**Aaliya ; K. (2017).** Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102-117.

**Ali, S., Hameed, S., Shahid, M., Iqbal, M., Lazarovits, G., and Imran, A. (2020).** Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. *Microbiol. Res.* 232:126389. doi: 10.1016/j.micres.2019.126389

**Corbaz R. (1990).** *Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presse polytechniques et universitaires romandes*

**Anonyme. (2016)** Rhizosphère, *Ecologie Microbienne*, Lyon. [En ligne. <http://www.ecologiemicrobiennelyon.fr/spip.php?rubrique29>] [Consulté le : 01-03-2017]

**Alabouvette, C. et Cordier, C. (2018).** Fertilité biologique des sols : des microorganismes utiles à la croissance des plantes. *Innovation Agronomiques*. 69, 61-70 .

**Ayantola, K. J., & Fagbohun, E. D. (2020).** Enzymatic activity of *Rhizobacillus* isolated from tomato rhizosphere. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 4(3), 11- 19.

**Bric ,J. M .,Bostock,R.M.,& Silversstone ,S.E.(1991).**Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane . *Zpplied and environmenmental Microbiology* ,57(é), 535-538.

**Bach H.J. et Munch J.C. (2000).** Identification of bacterial source of soil peptidases. *Biol Fertil Soils* .31/219-224.

**Beneduzi, A., Ambrosini, A. et Passaglia, L.M.P. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) :Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35 (4), 1044-1051

**Bakthavatchalu, S., Shivakumar, S. et Shanker, S.B. (2012).** Identification of ,multi-trait PGPRisolates and evaluation of their potential as biocontrol agents. *Acta Biol. Indica.* 1 (1), 61-67.

**Bais H , Park S, Weir T , Callaway R , Vivanco J , (2004) .** HOW Plants Ommunicate using theunderground information Superhighway .*Trends Plantes Sci* 9 :26-32 .Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., and Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl.Soil Ecol.* 121, 102–117.

**Babalola, O.O. (2010).** Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett* 32:1559–1570.

**Bhattacharyya et Jha, 2012) ; Bhattacharyya, P.N. & Jha, D.K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture *World J. Microbiol. Biotechnol* 28(04) : 1327-1350.

**Becker D ., Stanke R., Fendrik I., Frommer W.B., Vanderleyden J., Kaiser W.M. et Hedrich R. (2002).** Expression of the NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporter gene LEAMT 1,2 is induced in tomato roots uponassoiation with N<sub>2</sub> – fixing bacteria .*Planta* . 215/424-429.

**BOUDEHANE,A.,& MEZIOUD ,R. (2017).**Caractérisation physico-chimique d'enzyme bactériennes d'intérêt industriels et thérapeutiques (Doctoral dissertation, Université de Bouira).

**Cader J.H.(1986).**Detection and quantification of cellulase by congo red staining of sunstrates in a cup-plate difussion assay .*Anal .Biochem.*153 :75-79.

**Capuccino J.C. et Sherman N.(1992).** Negative staining . In :Capuccino J.C et Sherman

N.(Eds), Microbiology : A laboratory Manual . Redwood Cty ,CA : Benjamin/Cummings . pp 125-179.

**Cleyet-Marel, J.C., & Hinsiger, P. (2000).** Soil as a living environment, a medium to be discovered and put to good use . OCL-Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 7(6), 490-493.

**Cherif, H. 2014.** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec bacillus sp. et pantoea agglomerans isolées de sols. Thèse de doctorat en microbiologie, université Ferhat Abbas Sétif. 162

**Carrim A.J.I., Barbosa E.C et Gonçalves V.J.D. (2006).** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of Jacaranda decurrens Cham . Carobinha-do-campo). Braz Arch Biol Techn. 49 : 353-359.

**Chaves- Lopez C., Serio A., Gianotti A., Sacchetti G., Ndagijimana M., Ciccarone C., Stellarini A., Corsetti A et Paparella A. (2015).** Diversity of food-borne Bacillus Volatile compounds and influence on fungal growth. Journal of Applied Microbiology. 199 : 487- 499.

**Calvo P, Ormeño-Orrillo E, Martínez-Romero E et Zúñiga D. (2010).** Characterization of Bacillus isolates of potato rhizosphere from andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. Brazilian Journal of Microbiology. 41, 899-906.

**Chi, Z., Ma, C., Wang, P., & Li, H. F. (2007).** Optimization of medium and cultivation conditions for alkaline protease production by the marine yeast Aureobasidium pullulans. Bioresource Technology, 98(3), 534-538.

**Desbrosses, G., Contesto, C., Varoquaux, F., Galland, M. et Touraine, B. (2009).** PGPR-Arabidopsis interactions is a useful system to study signaling pathways involved in plant developmental control. Plant Signaling et Behavior. 4 (4), 319-321.

**Del Carmen Orozco-Mosqueda, M.; Glick, B.R.; Santoyo, G.** ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress **Defago G, Haas**

**D. (1990).** Pseudomonas as antagonists of soil borne plant pathogens: mode of action and genetic analysis. Soil Biochemistry. 6: 249-291. ss in crops. Microbiol. Res. 2020, 235, 126439

**Di Francesco, A., Ugolini, L., Lazzeri, L., & Mari, M. (2015).** Production of volatile organic compounds by Aureobasidium pullulans as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. Biological Control, 81, 8-14.

**Dobereiner, J. (1997).** Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. *Soil Biol. Biochem.* 29:771–774

**Derewenda U., Swenson L., Wei Y., Green R., Kobos P.M, Joerger R., Hass M.J., Derewenda Z. S., 1994,** Conformational lability of lipases observed in the absence of an oil–Water interface: crystallographic studies of enzymes from the fungi *Humicola lanuginosa* and *Rhizopus delemar*. *Journal of lipid Research*, 35: 524-534.

**Dendouga,W. (2006).** Isolement et identification de moisissures productrices de protéase à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Diplôme de Magister, Université MENTOURI, Constantine, Algérie .

**Egamberdieva D. (2008).** Plant Growth Promoting Properties of Rhizobacteria Isolated from Wheat and Pea Grown in Loamy Sand Soil. *Turk J Biol.* 32, 9-15.

**Foster RC , Rovira AD , 1978** the ultrastructure of the rhizosphere of *trifolium subterraneum* L , in : *microbial ecology* ( MW Loutit , JAR Miles , eds ) Springer – Verlag , Berlin , 278-290

**Graham, P. H (1988).** Principles and Application of Soil Microbiology, pp: 322–345.

**Glik, B.R., 2012.** Plant Growth-Promoting Bacteria : Mechanisms and applications. In : *Scientifica*. Octobre 2012. Vol. 2012, p. 1-15. DOI 10.6064/2012/963401.

**Grochulski P., Li Y., Schrag J. D., Bouthillier F., Smith P., Harrison D., Rubin B., Cygler M., 1993,** Insights into interfacial activation from an open structure of *Candida rugosa* lipase. *Journal of Biological Chemistry*, 268:12843-12847.

**Grochulski P., Li Y., Schrag J. D., Cygler M., 1994,** Two conformational states of *Candida rugosa* lipase. *Protein science*, 3: 82-91.

**Gupta M. R., 2004,** Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(6):763-81.

**García-Gómez, M. J., Huerta-Ochoa, S., Loera-Corral, O., & Prado-Barragán, L. A. (2009).** Advantages of a proteolytic extract by *Aspergillus oryzae* from fish flour over a commercial proteolytic preparation. *Food chemistry*, 112(3), 604-608.

**Hamid, B.; Zaman, M.;Farooq, S.; Fatima, S.; Sayyed, R.Z.; Baba, Z.A.; Sheikh, T.A.; Reddy,M.S.;El Enshasy, H.; Gafur, A.; et al. Bacterial Plant Biostimulants: A SustainableWay towards Improving Growth, Productivity, and Health of Crops. Sustainability 2021, 13, 2856. <https://doi.org/10.3390/su13052856>.**

*Hakim et al .(2021) Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms forAgriculture and Ecological . Frontiers in Sustainable Food Systems .Food Syst. 5:617157.*

**Jamali F, Sharifi-Tehrani A, Lutz MP et Maurhofer M. (2009).** Influence of Host Plant Génotype, Presence of a pathogen, and Coinoculation with *Pseudomonas fluorescens* Strains on the rhizosphere expression of hydrogen Cyanide- and 2,4-Diacetylphloroglucinol biosynthesis Genes in *P. fluorescens* biocontrol Strain CHAO. *Microb Ecol.* 57, 267-275.

**Jaradat Z., Dawagreh A.,Ababneh Q.and Saadoun I.(2008).**Influenceof culture Conditions on Cellulase Production by *Streptomyces* sp.(Strain J2). *Jordan Journal of Biological Sciences* :1 ;141-146.

**Kaur,M.,Gupta , M.,Tripathi, K.k . and Gupta , K.G.1989.**Lytic effect of *Pseudomonas aeruginosa* elastase on gram positive and gram negative bacteria. *Zentrablatt Bakt. International Journal of Microbiology* 127 :153-157.

**Kamilova F., Lamers G., Lugtenberg B., 2008.** Biocontrol strain *Pseudomonas Fluorescens* WCS365inhibits germination of *Fusariumoxysporum* spores in tomato root Exudate as well as subsequent formation of new spores. *Environmental Microbiology*, 10, (9),pp 2455-246

**Kirdi, B., & Zermane, N. (2010).** Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la luttecontre les phanérogames parasites: *Orobanche crenata* Forsk. et *Cuscuta campestris* Yuncker/“. Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: *Orobanche crenata* Forsk. And *Cuscuta campestris* Yuncker.

**Khan MS,Zaidi A,Javed M.(2009).**Microbial strategies for crop Improvement : 1-371.Spiringer-verlag Berlin Heidel berg.

**Kopečný J.,Hodrovà B. et Stewart C.S.(1996).**The isolation and characterization of a rumen chitinolyticbacterium . *Lett.Microbiol.*23 :195-198.

**Kachhap S , Chaudhary ANITA , Singh SD, ( 2015).** Response of plant growth promoting rhizobacterie ( pgpr) in relation to elevated temperature conditions in groundnut ( *Arachis hypogaea* .L) .The Ecoscan , 9(3 and 4 ) . 771- 778.

**Lorck H.(1948)** Production of hydrocyanic acid by bacteria .Phyiol.Plant .1 :142-146.

**Mench M , 1985 .** Influence des exsudats racinaire soluble sur le dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs ( *zea mays* L ) thèse de Dr del'INPL,univ Nancy, 109p

**Marschner, P., & Timonen, S. (2006).** Bacterial community composition and activity in rhizosphere of roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. In *Microbial activity in the Rhizosphere* (pp. 139-154). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Martinez-Salgado MM, Gutiérrez-Romero V, Janssens M et Ortega-Blu R. 2010).** Biological soil quality indicators: a review. In A.Mendez-Vilas (ed.),

**Maleki M, Mostafae S, Mokhtarnejad L and Farzaneh M. (2010).** Characterization of *Pseudomonas fluorescens* strain CV6 isolated from cucumber rhizosphere in Varamin as a potential biocontrol agent. *AJ C S.* 4 (9): 676-683.

**Naznin, H. A., Kimura,M.,Miyazawa,M., and Hyakumachi,M. (2013).** Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungus *Phoma* sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. *Microbes Environ.* 28, 42–49. doi: 10.1264/jsme2.ME12085

**Nermeen A.E., Hanan A., Gehan M.A., Hassan A .H.L. et Nabil M.K.E. (2010).** Optimization,economization and characterization of cellulose produced by marine streptomyces *ruber* .Africa journal of biotechnology . ;6355-6364.

**O'Sullivan,M. , P.M.,Stephens, and F.O'Gara.1991.** Extracellular protease production by fluorescent *Pseudomonas* spp.and the colonisation of sugarbeet roots and soil .*Soil Biol . Biochem.*23 :623-627.

**OUSERIR et al. ,(2018) ,** EFFETS DE LA BACTÉRIISATION PAR *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ET *RHIZOBIUM FABAE* SUR LA STIMULATION DE LA NODULATION ET DE LA CROISSANCE DE LA FÈVE (*VICIA FABAE* L. VAR. HISTAL) . *Revue Agrobiologie.* 8 , 775-785 .)

**Peleg, Z., &Blumwald, E. (2011).** Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop Plants.*Current opinion in plant biology,* 14(3), 290-295.

**Ramnath L., Sithol B., Govinden R., 2016**, Classification of lipolytic enzymes and their biotechnological application in the pulping industry : A review .Canadian Journzl of Microbiology (3) : 3-20.

**Rijavec T, Lapanje A ,(2016)**. Hydrogen Cyanide in the rhizosphere : not surprising plantpathogene,but rather regulating availability of phosphate. Front Microbiol .7,1785.

**Rogers, J. R., Bennett, P. C., & Choi, W. J. (1998)**. Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. American Mineralogist, 83(11-12\_Part\_2), 1532-1540.

**Rai, A., Cherif, A., Cristina, C.R.U.Z. et Nabti, E. (2018)**. Extracts from Marinemacroalgae and Opuntia ficus-indica cladodes enhance halotolerance and enzymatic potential of diazotrophic rhizobacteria and their impact on wheat germination under salt stress. Pedosphere. 28 (2), 241-254.

**Rehman, F., Kallsoom, M., Adnan, M. & Toor, M. 2020**. Plant growth promoting rhizobacteria andtheir mechanisms involved in agricultural crop production. Sun Text Review of Biotechnology, 1, 1-6

**Raiz,U., Murtaza,G.,Anum,W.,Sarfraz,M&Nazir,M.Z.2021**.Plant Growth-Promoting Rhizobacteria(PGPR) as biofertilizers and biopesticides .Microbiota and Biofertilizers ,4,181-196

**Subramanium, N., and Sundaram, L. (2020)**. Siderophore producing Pseudomonas spp. isolated from rhizospheric soil and enhancing iron content in Arachis hypogaea L. plant. Int. J. Agric. Technol. 16, 429–442. Available online at: [http://ijataatsea.com/pdf/v16\\_n2\\_2020\\_March/18\\_IJAT\\_16\(2\)\\_2020\\_Subramanium,%20N.%20.pdf](http://ijataatsea.com/pdf/v16_n2_2020_March/18_IJAT_16(2)_2020_Subramanium,%20N.%20.pdf)

**Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S. et Bhatti, A. S. (2007)**. Perspective of plantgrowth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. J. Ind. Microbiol. Biotechol. 34 (10), 635-648.

**Saddki S.(1999)**.Utilisation du Bradyrhizobiumjaponicumcomme rhizobactériesfavorisant la croissance des plantes cher le maïs . Thèse pour l’obtention du grand de maitre en Science. Université LAVAL ,65p.

**Seshadri,B.,N.S.&Naidu, R . (2015)**.Rhizosphère-induced heavy metal (loid) transformation

in relation to bioavailability and remediation, Centre for Environmental Risk Assessment and Remediation, University of South Australia, M Journal of Soil Science and Plant Nutrition 15(2):524-548.

**Sivasakthi, S., Usharani, G. et Saranraj, P. (2014).** Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. Afr. J. Agric. Res. 9 (16), 1265-1277

**Syed Shameer, T. N. V. K. V Prasad. (2017).** Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses

**Saxena, A.K et KVBR. Tilak (1998).** Free-living nitrogen fixers: Its role in crop production. In: Microbes for Health, Wealth and Sustainable Environment, Malhotra Publ Co, New Delhi. Edited by Verma AK, 25–64. brasilense indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. Plant and Soil, 312(1), 15-23.

**Sivasakthi, S., Usharani, G. and Saranraj, P. 2014.** Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) : *Pseudomonas fluorescens* and *B. subtilis* : Revi

**Sahin F, R. Cakmakci et F. Kantar (2004).** Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant Soil, 265:123–129.

**Sierra G.A (1957).** A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates, *Antonie Lee*. 28 :15-22

**Sebihi, F. (2016).** Effet PGPR des souches de *Pseudomonas fluorescens* isolées de la rhizosphère du blé cultivé dans la région de Constantine. Thèse doctorat de l'université de Constantine, pp. 8.

**Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shaid, N., and**

**Vessey, J.K (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil, 255: 5071–586 .

**Vocciante, M.; Grifoni, M.; Fusini, D.; Petruzzelli, G.; Franchi, E. The Role of Plant Growth- Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses. Appl. Sci. 2022, 12, 1231. [https://doi.org/ 10.3390/app12031231](https://doi.org/10.3390/app12031231)**

**Vinoth R.S., Kanikkai R.A .Babu VA., Manoj G.T., Nman H.S., Johnson A.J. , Infant S.B. et Sathiyaseelan K.(2009).** Study of starch degrading bacteria from Kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw . Recent Research in Science and Technology 1 :8-13.

**Yandri, T. Suhartati ; D. Herasari ,and S. Hadi.2008.** The chemical modification of protease enzyme isolated from local bacteria isolate , Bacillus Subtilis ITBCCB148 with cyanuric chloride- polyethylenglycol. European Journal of scientific Research,(23)1 :177-186.

# *Annexe*

## Annexe I. Composition des milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

### ➤ Gélose nutritive (GN)

Composition	Quantité (g)
Peptone	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
NaCl	5
Agar	7.5
pH	7.2±0.2

### ➤ Bouillon Nutritif

Composition	Quantité (g)
<b>Peptone</b>	<b>10</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>5</b>
<b>Chlorure de sodium</b>	<b>5</b>
<b>pH</b>	<b>7.2±0.2</b>

### ➤ Gélose de Dénombrement (PCA)

Compositions	Quantité (g)
Glucose	1
Tryptone	5
Extrait de levure	2.5
Agar	12
pH	7.0±0.2

### ➤ Eau peptonée

Composition	Quantité (g)
<b>Peptone de caséine</b>	<b>1</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>5</b>
<b>NaCl</b>	<b>5</b>
<b>Tween</b>	<b>1ml</b>

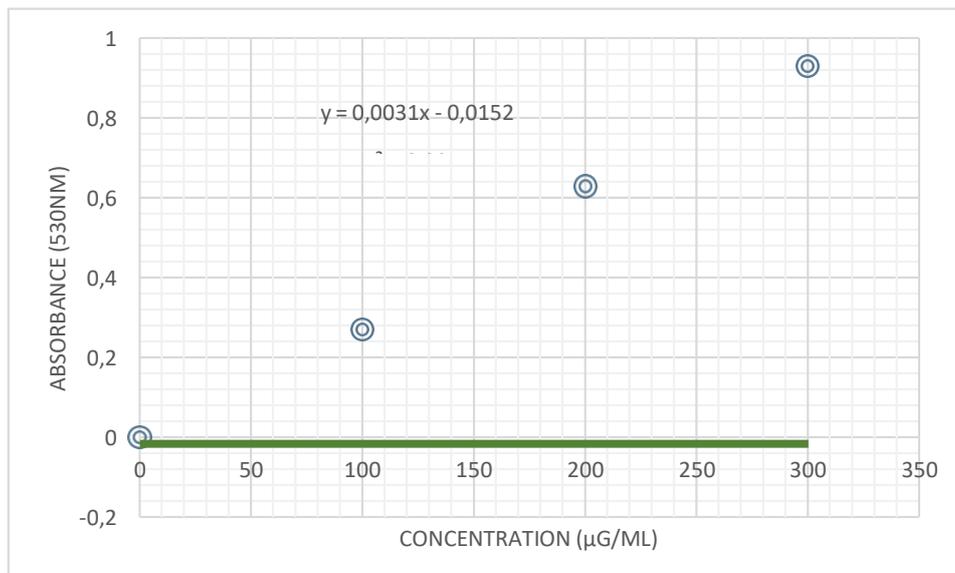
➤ **Luria Bertani (LB)**

<b>Composition</b>	<b>Quantité (g)</b>
<b>NaCl</b>	<b>4</b>
<b>Tryptone</b>	<b>10</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>5</b>
<b>Agar</b>	<b>8</b>
<b>pH</b>	<b>7.3±0.2</b>

➤ **Potato Dextrose Agar (PDA) :**

<b>Compositions</b>	<b>Quantité (g)</b>
<b>Pomme de terre</b>	<b>200</b>
<b>Glucose</b>	<b>20</b>
<b>Agar</b>	<b>15</b>
<b>pH</b>	<b>5.4±0.2</b>

**Annexe II : Courbe d'étalonnage de l'AIA**



## Résumé

L'objectif de ce travail est de sélectionner des rhizobactéries qui présentent des caractéristiques fonctionnelles de PGPR. 32 isolats bactériens obtenus à partir des sols rhizosphériques prélevés à Bejaïa (Merdjouamane) ont été testés pour leur capacité à produire des enzymes d'intérêt agricole (estérase, lipase, protéase, cellulase, amylase, phosphatase et chitinase) et les phytohormones (AIA). Les isolats sont également testés pour leur activités antagonistes à l'égard de *A. niger* et *Penicillium* sp. ainsi que la synthèse de deux métabolites antifongiques (HCN et NH<sub>3</sub>). Les résultats ont montré que la plus part des isolats produisent au moins deux enzymes et que 31/32 des isolats produisent l'AIA avec des concentrations variables. A l'égard des champignons, uniquement deux isolats se sont avérés actifs avec des PGI% importants. 29/32 des isolats ont produit l'ammoniaque alors que seulement 3/32 ont produit l'HCN.

**Mots clé :** PGPR ; enzymes hydrolytiques ; champignons phytopathogènes ; Métabolites antifongiques ; AIA

## Abstract

This work aims to select rhizobacteria which present functional characteristics of PGPR. 32 bacterial isolates were obtained from rhizospheric soils sampled in Bejaïa (Merdjouamane) were tested for their ability to produce agricultural enzymes (esterase, lipase, protease, cellulase, amylase, phosphatase and chitinase) and phytohormones (IAA). The isolates were also tested for their antagonistic activities against *A. niger* and *Penicillium* sp. as well as the production of two antifungal metabolites (HCN and NH<sub>3</sub>). The results showed that majority of isolates produced at least two enzymes and 31/32 of isolates produced IAA with varying concentrations. Concerning antifungal activities, only two isolates were found to be active with significant PGI%. 29/32 of the isolates produced ammonia while only 3/32 produced HCN.

**Key words :** PGPR ; hydrolytic enzymes ; phytopathogenic fungi ; Antifungal metabolites, IAA,