

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

*Université Abderrahmane Mira de Béjaia (UAMB)  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie*

## *Mémoire de fin de cycle*

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master  
en Microbiologie*

*Option : Ecologie Microbienne et Environnement*

### *Thème*

*Isolement et caractérisation des bactéries productrices  
d'enzymes à intérêt agricole à partir du sol et d'algues  
marines*

**Réalisé par :**

**M<sup>lle</sup> BELHADI Fatma**

**M<sup>lle</sup> AIT MEDDOUR Kahina**

**Membres de Jury :**

**Président : M<sup>r</sup> AISSAT K.**

**Examineur : M<sup>r</sup> BENSAID K.**

**Examineur : M<sup>r</sup> LAADJOUZI R.**

**Promoteur : M<sup>r</sup> NABTI El-H.**

**Co-Promotrice: M<sup>lle</sup> BENSIDHOUM L.**

**2012 /2013**



## *Remerciements*

*Tout d'abord, Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage et bénédiction pour accomplir ce travail.*

*Nous remercions en premier lieu notre promoteur, M<sup>R</sup> Nabti El-Hafid, pour son suivi et ses orientations.*

*Nous remercions également notre co-promotrice M<sup>lle</sup> Benssidhoum Leila pour son suivi attentif tout au long de ce travail ainsi que ces encouragements et sa bonté.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement les membres de jury d'avoir accepté d'examiner Notre travail, M<sup>R</sup> AISSAT, M<sup>R</sup> Bensaid M<sup>R</sup> et Laadjouzi Nous tenons a remercier aussi : Noura, Nacera, Nadira, Fatima, Djahida et Zahra pour leurs encouragements et les bons moments passer ensemble*

*En fin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A Mes très chers parents que je remercie Dieu de les avoir protégés pour être témoins de ma réussite, qui ont toujours été là pour moi, ainsi que pour leur soutien ;*

*A ma grande sœur Djadjia et ses enfants (Boubker, Maustapha, Idris, Karima, Zahra, Férielle, Kahina et Chripha)*

*A son mari Djamel Mekbel que le destin nous a arraché et que nous portons comme trésor dans nos cœurs à jamais*

*A mon grand frère Hamza, sa femme Zahra et leurs enfants (Micipssa, Khadoudja et Abd Assalam)*

*A mes sœurs (Tounes, Zineb, Chafiaa et Dahbia)*

*A mon frère Daoud*

*A toute la famille Belhadi*

*A mes très chères amies : Khoukha ; Karima ; Warda et Sabiha et toutes leurs familles*

*A mes copines de chambre ; ma binôme et sa famille.*

*A tous les étudiants de la promotion Microbiologie*

*2012 /2013*

**BELHADI Fatma**



# *Dédicaces*



*A l'hommage de mon grand-père qui a toujours partagé  
avec nous le bon et le mauvais*

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour*

*A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles*

*Et ceux à qui je dois tant*

*A mes chers parents pour leur amour et leur support continu*

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde  
reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi*

*A mes soeurs Yassmina, Salima, Chafika et Razika*

*A mes frère Omar et Abdellah.*

*A toute la famille Ait-Meddour et la famille Taourirt*

*A tous mes chers frères et sœurs des différentes commissions religieuses des  
résidences universitaires de la wilaya de Béjaia surtout les trois résidences de  
Berchiche .*

*Je le dédie particulièrement à mon binôme Fatma et sa famille*

*A tous les étudiants de la promotion de microbiologie 2012/2013*



*Ait meddour Kahina*



# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** ..... 01

## *Synthèse bibliographique*

### **Chapitre I : *La rhizosphère et les bactéries d'intérêt agricole***

1. Le sol ..... 03

1.1-La rhizosphère..... 03

1.2-Les bactéries d'intérêt agricole ..... 03

1.2.1-Les PGPR..... 03

1.2.2-Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des  
plantes par les PGPR ..... 04

**a. Les mécanismes directs**..... 04

*a.1. Fixation d'azote*..... 04

*a.2. Solubilisation de phosphore*..... 05

*a. 3. Formation de sidérophores*..... 05

*a.4. Les Phytohormones*..... 06

**b. Mécanismes indirectes** ..... 06

*b.1. La Compétition*..... 06

*b.2 L'antiboise*..... 06

*b.3 Production d'enzymes* ..... 07

*b.4 Induction des mécanismes de défense de la plante*..... 07

2. Les algues et les bactéries d'intérêt agricole.....	08
2.1-Les algues dans le règne végétal.....	09
2.2-Interaction bactéries-Algues .....	10
2.3-Intérêt des bactéries associées aux algues .....	11

## ***Chapitre II : Les enzymes d'intérêt d'agricole***

1. Activités enzymatiques .....	12
1.1-Activité amylasique .....	12
1.2-Activité cellulasique.....	12
1.3-Activité chitinasique .....	13
1.4-Activité phosphatasique.....	13
1.5-Activité protéasique .....	13
1.6-Activité uréasique .....	14
1.7- Activité lipasique .....	14

## ***Partie pratique***

### ***Chapitre I : Matériel et méthodes***

1-Prélèvements .....	16
1.1-Prélèvement du sol.....	16
1.2-Le prélèvement des algues.....	19
1.3-Tests physicochimiques du sol.....	21
1.3.1-Humidité .....	21
1.3.2-pH.....	21
a.pH- eau .....	21
b.L'acidité titrable ou de réserve .....	22

2- Isolement des bactéries .....	22
2.1.A partir du sol.....	22
2.2-A partir des algues .....	24
3. Recherche des enzymes d'intérêt agricole.....	26
3.1- Détermination de l'activité cellulasique .....	26
3.2-Détermination de l'activité estérasique .....	26
3.3-Détermination de l'activité lipolytique.....	26
3.4-Détermination de l'activité chitinasique.....	27
3.5-Détermination de l'activité protéasique.....	27
3.6- Détermination de l'activité amylasique .....	27
4-Etude des bactéries isolées.....	28
4.1-Mobilité et morphologie microbienne .....	28
4.2-Coloration de Gram.....	28
4.3-Test de la catalase .....	28
4.4- Mise en évidence du nitrate réductase .....	28
4.5- Fermentation des sucres.....	28
4.6- Citrate.....	29

## ***Chapitre II : Résultats***

1. Tests physicochimiques du sol.....	30
1.1-Humidité.....	30
1.2-pH .....	30
2- Isolement des bactéries .....	31
3-Recherche des enzymes d'intérêt agricole.....	31
4-Identification des isolats .....	34

## ***Chapitre III : Discussion***

1-Les propriétés physico-chimiques des sites de prélèvement .....	38
a) L'humidité .....	38
b) Le pH.....	38
2-Recherche des propriétés d'intérêt agricole.....	38
2.1-Activité cellulasique.....	39
2.2-Activité protéasique .....	40
2.3-Activité lipasique et estérasique .....	41
2.4-Activité amylasique .....	41
2.5-Activité Chitinases.....	42
3- Identification biochimique des isolats .....	42
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>45</b>
<b>Annexes</b>	

## *Liste des tableaux*

---

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<b>I</b>	Origine des échantillons de sol et leurs aspects	<b>17</b>
<b>II</b>	Les échantillons d'algues et leurs caractéristiques	<b>20</b>
<b>III</b>	Les valeurs de l'humidité des différents échantillons.	<b>30</b>
<b>IV</b>	Les valeurs de pH-eau et pH-KCl des échantillons de sol.	<b>30</b>
<b>V</b>	Résultats des différents tests d'activités enzymatiques appliqués sur les isolats sélectionnées à partir du sol	<b>32</b>
<b>VI</b>	Résultats des différents tests activités enzymatiques appliqués sur les isolats sélectionnés à partir d'algues	<b>33</b>
<b>VII</b>	Les pourcentages d'activités enzymatiques des isolats du sol et d'algues	<b>34</b>
<b>VIII-1</b>	Les origines des isolats sélectionnées du sol et d'algues	<b>34</b>
<b>VIII-2</b>	Caractères cultureux et morphologiques des isolats du sol.	<b>35</b>
<b>IX</b>	Caractères cultureux et morphologiques des bactéries marines	<b>36</b>
<b>X</b>	Résultats des tests biochimiques des colonies choisies de sol	<b>36</b>
<b>XI</b>	Résultats des tests biochimiques des isolats collectés à partir d'algues	<b>37</b>

*Liste des figures*

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<b>1</b>	Représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère	<b>8</b>
<b>2</b>	Comparaison de la morphologie d'une algue et d'une plante à fleur	<b>9</b>
<b>3</b>	Lieux de prélèvement des échantillons du sol	<b>17</b>
<b>4</b>	Site de prélèvement des algues	<b>19</b>
<b>5</b>	Étapes d'isolement à partir des échantillons du sol	<b>23</b>
<b>6</b>	Les différentes méthodes d'isolement à partir des algues marines	<b>25</b>
<b>7</b>	Quelques aspects de colonies obtenues sur GN et ZoBell	<b>31</b>
<b>8</b>	Quelques images des résultats des tests d'activités enzymatiques appliqués	<b>33</b>
<b>9</b>	Pourcentage d'activités enzymatiques des isolats du sol et d'algue marines	<b>42</b>

<b>AIA</b>	<b>Acide Indole Acétique</b>
<b>CMC</b>	<b>Carboxy Methyl Cellulose</b>
<b>DAPG</b>	<b>Diacétyl Phluroglucinol</b>
<b>GN</b>	<b>Gélose Nutritif</b>
<b>PBS</b>	<b>Phosphate Buffer Solution</b>
<b>PGPR</b>	<b>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</b>
<b>pH</b>	<b>potentiel Hydrogène</b>

# Introduction

L'agriculture est née avec la mise en terre de semences ou de graines par l'homme. Au début, il s'agissait pour lui d'assurer sa survie en produisant le juste nécessaire. (Nyembo et al., 2012).

Aujourd'hui avec une croissance démographique forte, l'augmentation du niveau de vie des pays les plus développés et la mondialisation des marchés, l'agriculture est devenue intensive à l'extrême en s'appuyant sur la mécanisation et les moyens modernes de l'agronomie (fertilisation, biologie, génétique, etc...). Ce qui a donc permis d'augmenter la production agricole, mais l'agriculture industrielle intensive est de plus en plus critiquée en raison des dégradations de l'environnement dont elle est responsable dans une grande partie ces dégradations environnementales ont soulevé de nombreuses questions et entraîné le développement, voire l'apparition de nouvelles préoccupations pour la science agronomique (dépollution, traitement des déchets, aménagement rural, lutte biologique) (Nyembo et al., 2012).

Pour plusieurs décennies, les bactéries ont été introduites dans le sol, les graines, les racines, ou autre matériel végétal pour améliorer la croissance et la santé de ces derniers. Les objectifs majeurs de l'inoculation bactérienne inclus ; l'augmentation de la fixation symbiotique de l'azote, dégradation des composés xénobiotiques, promotion de la croissance des plantes et la lutte biologique contre leurs microorganismes pathogènes (Barriuso et al., 2008).

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. Ces rhizobactéries sont présentes dans une zone d'interface entre la plante et le sol, appelée rhizosphère (Qureshi, 2012). Ces bactéries intéressantes et libre ou liées, colonisent les racines, stimulent la croissance des plantes et augmentent le rendement. Ces PGPR sont aussi connus pour leur capacité à induire une résistance contre divers microorganismes phytopathogènes. (De Salamone et al., 2005)

Beaucoup de travaux ont été publiés ces dernières années sur l'application des bactéries rhizosphérique pour améliorer le rendement des récoltes, et la santé des plantes soit sous serre ou en plein champs.

C'est dans cette optique que notre travail est dirigé; il s'agit d'un isolement de bactéries du sol à partir de différentes régions de la wilaya de Bejaïa et d'un seul site de la wilaya de Sétif, plus un isolement de bactéries immobilisées sur des algues marines, à partir de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat). Ces bactéries sont sélectionnées sur la base de la production d'enzymes d'intérêt agricole, et identification phénotypique et biochimique des isolats .

**1. Le sol :**

Point de rencontre du monde végétal, animal et minéral, le sol est la base d'un cycle de vie sur notre planète. C'est un système dynamique qui naît (sol jeune), évolue (sol mûr) et meurt (sol dégradé), c'est un milieu vivant où se développe une activité biologique très intense (**Heritage et al., 1997**).

**1.1- La rhizosphère :**

Le terme rhizosphère (du grec *Rhiza* : la racine, et de sphère : domaine d'influence) a été utilisé pour la première fois par Lorenz Ailtner (1904) (**Morgan et al., 2005**) pour définir la zone du sol sous l'influence des racines des légumineuses. La rhizosphère est définie aujourd'hui comme étant le lieu d'interaction entre le sol ; la plante et les microorganismes. Ces interactions dépendent des conditions physiques du milieu et des organismes mis en jeu (**Norini, 2007**). Les composantes physico-chimiques et biologiques de la rhizosphère diffèrent nettement de celles d'un sol non cultivé (**Morgan et al., 2005 ; Cregut, 2009**). 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 des racines, et les racines elles mêmes (**Antoun et Prévost, 2005 ; Vega, 2007 ; Nihorimbere et al., 2010 ; Qureshi, 2012**). La rhizosphère est divisée comme suivant : l'endo-rhizosphère (le rhizoplane) et l'ecto-rhizosphère (**Lynch, 1987**).

**1.2-Les bactéries d'intérêt agricole :****1.2.1 Les PGPR :**

Les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens se nomment Bactéries ou rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou PGPR : plant growth promoting rhizobacteria (**Kloepper et Schroth., 1978 ; Lemanceau, 1992 ; Adesemoye et Kloepper, 2009**). Les rhizobactéries incluent diverses espèces de *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobactérie*, *Bacillus*,

*Burkholderia*, *Serratia*, *Xanthomonas* et *Klebsiella* (Babalola,2010 ;Hassen et Labuschagne , 2010 ).

Les PGPR peuvent vivre librement dans le sol et certaines envahissent les tissus des plantes vivantes et causent des infections inapparentes et asymptomatiques, ces rhizobactéries sont dites endophytes (Lemanceau, 1992).

### **1.2.2- Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes par les PGPR :**

Les PGPR sont des bactéries de la rhizosphère qui possèdent la capacité de stimuler et augmenter la croissance des plantes par différents mécanismes (Glick et al.,1999 ;Adesemoyeet al., 2009). Ces mécanismes influencent la croissance des plantes par un mode direct ou indirects (Kloepper, 1993; Diaz-Zorita et Fernández-Canigia , 2008 ; Adesemoye, 2009 ;Martinez-Viveros et al.,2010 ; Govindasamy et al., 2011 ; Jha et al., 2011). Les modes directs incluent la fixation d'azote atmosphérique, l'apport de nutriments non disponibles, (phosphore et autres nutriments minéraux), la production de régulateurs de croissance végétale (auxines, cytokinines et gibbérellines) et la répression de la synthèse d'éthylène (Hassen et Labuschagne, 2010).

Quant aux mécanismes indirects, il s'agit de l'élimination des agents phytopathogènes à travers la compétition pour l'espace et les nutriments, la synthèse d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des enzymes ou des toxines produites par les pathogènes, et l'induction des mécanismes de résistance de la plante (Antoun et Prévost, 2005).

#### **a. Les mécanismes directs :**

##### *a.1. Fixation d'azote :*

La fixation associative de l'azote et la promotion de la croissance végétale par les rhizobactéries sont importantes pour un système agricole durable. Les cultures dépendent principalement du processus de fixation d'azote par les bactéries associatives, symbiotiques et libres, vivant dans la rhizosphère (Cocking, 2000 ; Mia et al., 2005 ; Martínez-Viveros et al., 2010).

La plus grande partie de l'azote de la biosphère (79%) existe sous forme gazeuse, cette forme est inaccessible pour les plantes (Weyens et al., 2010 ; Bhattacharjee et Jha., 2011).

Les PGPR plus connus pour leur rôle de stimulation des plantes grâce à leur capacité de fixer l'azote atmosphérique sont : *Azoarcus sp.*, *Burkholderia sp.*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum*; *Azotobacter* *Paenibacillus* et *Azospirillum brasilense* (Weyens et al., 2010).

#### a.2. Solubilisation de phosphore :

Le phosphore (P) est un élément largement distribué dans la nature. Il est considéré, avec l'azote (N) et le potassium (K), comme un constituant fondamental de la vie des plantes et des animaux. Le phosphore a un rôle important dans le métabolisme de la plante, et il est l'un des éléments nutritifs essentiels pour la croissance et le développement des végétaux. Cependant, le phosphore existe sous forme inaccessible pour la plante, il reste donc immobilisé dans le sol (Qureshi et al., 2012). Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétale et, par la suite, la majeure partie du phosphore absorbée est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction. Toutefois, les plantes déficientes en phosphore montrent un retard de croissance (réduction de la croissance des cellules et des feuilles, perturbation de la respiration et de la photosynthèse) (FAO, 2004). Les espèces du genre *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Aspergillus* et *Penicillium* ont la capacité de solubiliser le phosphate dans le sol (Qureshi et al., 2012).

#### a. 3. Formation de sidérophores :

Le fer est le quatrième élément fréquent sur terre. C'est l'un des éléments les plus essentiels pour toutes les cellules vivantes, il se trouve de manière abondante dans l'environnement en particulier dans le sol (Wittenwiler, 2007).

Les sidérophores (sidéros = fer ; phoros = transport) (Rossum et al., 1994) sont des composés organiques de faible poids moléculaire avec une affinité très élevée et spécifique pour chélater le fer. Les Sidérophores augmentent aussi la disponibilité du fer par la complexation forte de  $Fe^{3+}$ . Ces complexes restent en solution et augmentent de ce fait la diffusion du fer sur la surface de cellules. Presque 500 structures de sidérophore sont connues jusqu'ici, qui sont produites par des bactéries, des mycètes et des plantes (Boukhalfa et Crumbliss, 2002).

### a.4. Les Phytohormones

Les phytohormones sont des substances sécrétées par les PGPR, elles jouent un rôle régulateur fondamental lors de la croissance et du développement d'une plante. Ces substances sont élaborées en quantités variables par la plante au cours de son développement. Elles sont produites dans certains organes spécifiques de la plante (souvent les régions méristématiques), ensuite transportées de cellule en cellule *via* le système vasculaire vers leur lieu d'action (**Baca et Elmerich, 2003**). Les phytohormones comprennent 5 groupes de substances majeures : les auxines (AIA, acide indole acétique), les cytokinines, les gibbérellines (GA), l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) (**Vessey, 2003**). L'éthylène est une phytohormone gazeuse importante. Il est impliqué dans la croissance et le développement des plantes telles que la germination de graine, la longueur de racine, et l'abscission de la feuille et du pétale. Les plantes peuvent synthétiser l'éthylène comme métabolite secondaire une fois exposées aux stress biotiques ou abiotiques comprenant la concentration élevée en sel, la sécheresse, la contamination du sol par les métaux lourds et les attaques par les microorganismes pathogènes. Cependant, les concentrations en éthylène au-dessus du seuil peuvent inhiber la croissance des plantes et réduire l'efficacité de la restauration (**Lim et al., 2012**).

### b. Mécanismes indirectes :

#### b.1. La Compétition :

5% de rhizobactéries favorisent la croissance des plantes et les protègent contre les agents pathogènes tels les bactéries, les champignons (**Beauchamp, 1998**). Toutefois, La compétition pour les nutriments et les différentes sources nécessaires pour la vie se produit généralement entre les microorganismes du sol, par conséquent la croissance végétale diminue. Ces PGPR fixateur du fer et du phosphore, inhiberont la croissance des pathogènes d'une part, et favoriseront celle des plantes, d'une autre part (**Pal et al., 2006**).

#### b.2 L'antibiose :

La production et la libération des molécules qui tuent ou réduisent la croissance des pathogènes cibles est le mécanisme le plus efficace par lequel les microorganismes peuvent contrôler les maladies des plantes, (**Harman et Shores, 2007**). Les antibiotiques consistent en : le butyrolactone, 2,4 diacétyl phluroglucinol (DAPG), Kanosamine, oligomycine A,

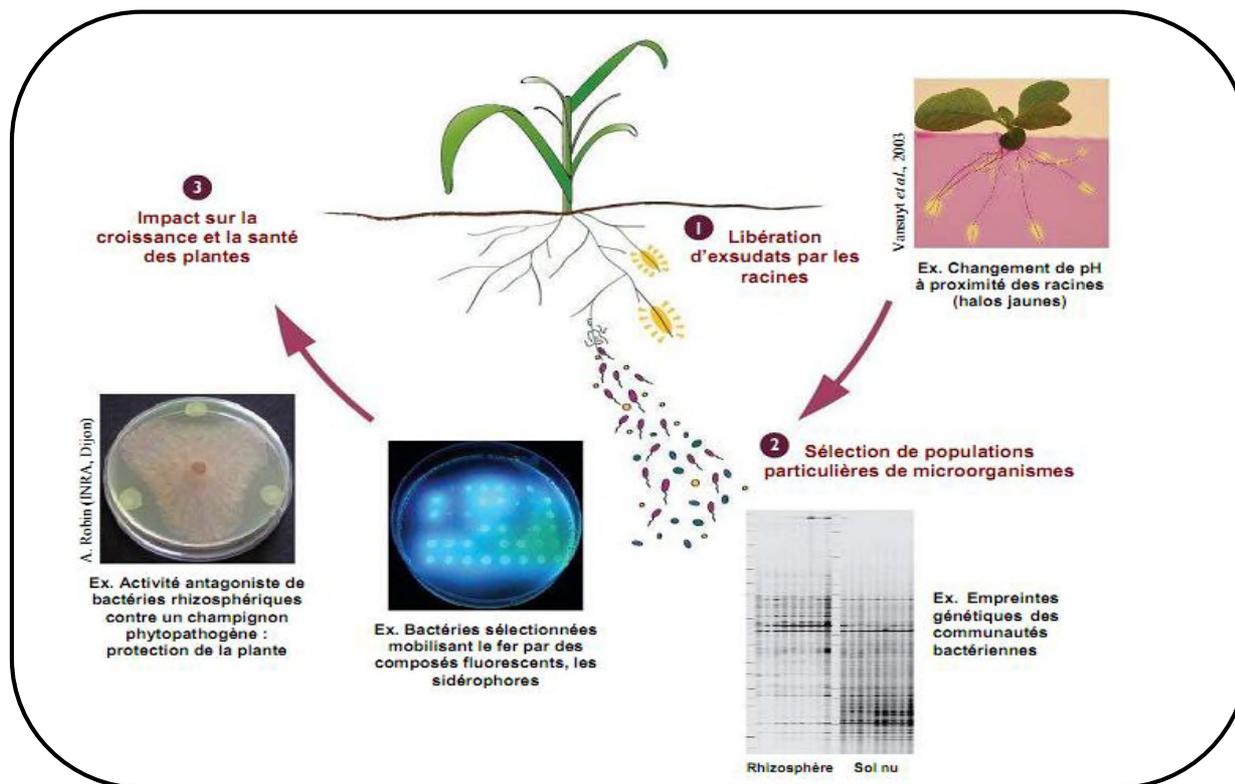
phénazine – 1 acide carboxylique, pyolutéorine, pyrrolnitrine, viscosinamide, xanthobaccine et zwittermycine sont généralement produits par diverses bactéries antagonistes.

*b.3 Production d'enzymes:*

Plusieurs micro-organismes produisent et libèrent des enzymes pour hydrolyser une large variété de polymères, y compris la chitine, les protéines, la cellulose et l'hémicellulose. L'expression et la sécrétion de ces enzymes par différents microorganismes peuvent parfois inhiber le développement et la croissance des microorganismes phytopathogènes (**Ordentlich et al., 1988**) C'est le cas des glucanases impliquées dans la rupture des liaisons  $\beta$  (1,3) glucane des parois cellulaires fongiques (**Pal, 2006**).

*b.4 Induction des mécanismes de défense de la plante :*

Un stimulateur de défense des plantes est une molécule ou un microorganisme non-pathogène capable d'induire chez une plante des modifications physiologiques, protégeant ainsi ces dernières contre des attaques subséquentes des virus, bactéries et champignons (**Jourdan et al., 2008**).



**Figure 1** : Représentation schématique décrivant les interactions plantes-micro organismes dans la rhizosphère (Lemanceau *et al.*, 2006).

## 2. Les algues et les bactéries d'intérêt agricole :

Les bactéries marines sont au carrefour de toutes les préoccupations actuelles des spécialistes de la mer : biodiversité, recyclage des déchets et polluants, remédiation des sites pollués, matériaux durables et même énergies renouvelables (Slaum,2009) .

La compréhension du monde de vie en biofilm de la plupart des peuplements bactériens associés aux surfaces marines inertes et aux organismes marins a joué un rôle clé dans les développements des études récentes en microbiologie marine . Les études sur ces biofilms sont encore limitées, mais elles se sont largement inspirées des concepts et des méthodes établis pour les micro-organismes infectieux ou d'autres bactéries d'origine terrestre (Slaum,2009) .

## 2.1- Les algues dans le règne végétal :

Les algues appartiennent au règne végétal mais elles ne constituent pas un ensemble homogène. Elles peuvent être libres ou fixées sur un support, leurs tailles varient de micromètre à plusieurs dizaines de mètres pour certaines algues (Egan et al., 2008). Les algues macroscopiques ne possèdent ni feuilles, ni tiges, ni racines. Pour ces organismes, on parle de thalle qui peut présenter des tailles très variables. (Pérez-Matos et al., 2007). (Figure )

Toutefois, on retrouve également dans la nature des algues brunes, rouges et vertes (Dhana et al., 2006), dont certaines sont utilisées dans l'agriculture moderne pour développer le rendement des cultures (Webster et Bourne, 2007). Les algues sont également des producteurs primaires, elles sont capables de convertir l'énergie lumineuse et les éléments nutritifs en composés organiques (Mercado et al., 2012).

Les algues ont aussi la capacité de libérer l'oxygène contenu dans la molécule d'eau grâce au processus de la photosynthèse. Elles contribuent au processus de la respiration des organismes aquatiques (Gomez et al., 2010).

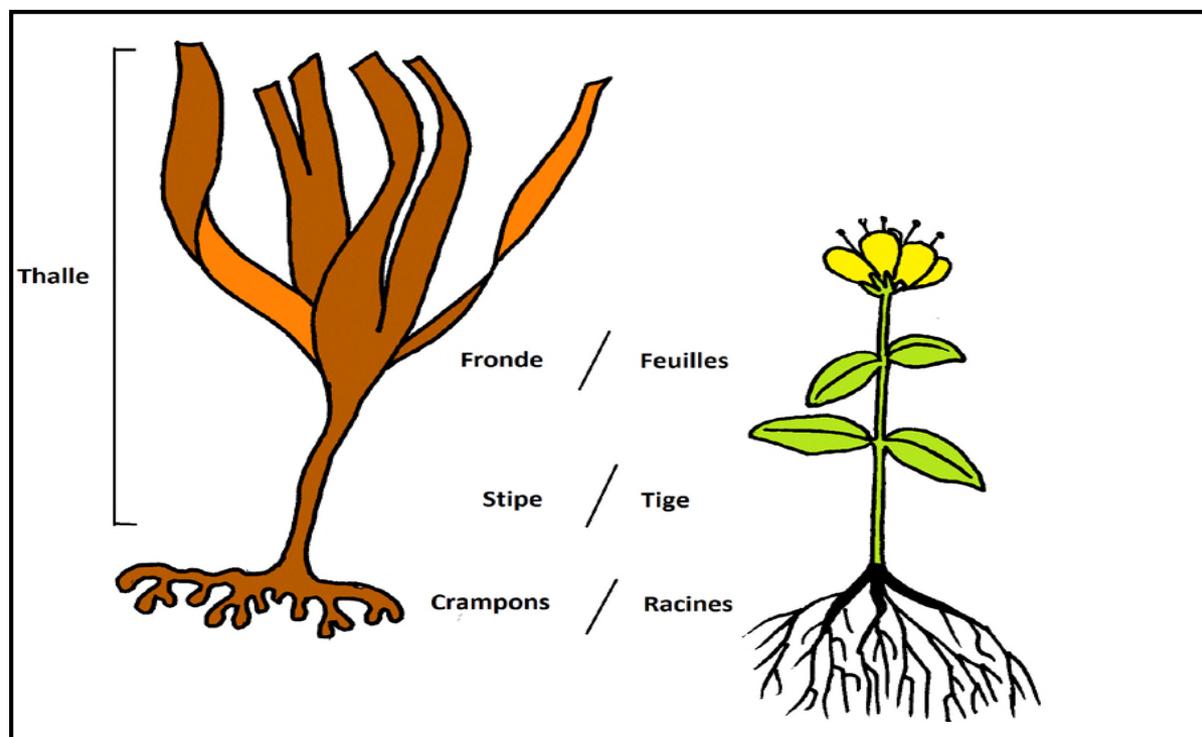


Figure 2 : Comparaison de la morphologie d'une algue et d'une plante à fleur

**2.2- Interaction bactéries-Algues :**

Parmi les nombreux constituants des algues, il convient de citer les protéines, les acides aminés, les stérols, les polyols, l'iode, les sels minéraux, mais également une grande variété d'oligo et polysaccharides, ces derniers représentant d'ailleurs 60 à 70 % de la masse sèche du thalle. Trois principaux types de polysaccharides chez les algues peuvent être distingués : les polysaccharides de réserve intracellulaire, les composants fibrillaires, qui constituent en quelque sorte le squelette de la paroi des cellules (**Guezennec et Debitus, 2005**).

Ces polymères contribuent également au développement de nouvelles applications biotechnologiques et thérapeutiques. Il a ainsi été démontré que de telles molécules possèdent, à l'état natif ou après modifications, des propriétés pharmacologiques potentielles, telles que des activités anti tumorales, antivirales, antimicrobiennes, anticoagulantes.

Enfin, l'utilisation des algues dans le secteur agricole est également développée où elles sont utilisées comme engrais, fertilisants foliaires ou aliments pour le bétail. La valorisation de cette ressource marine est donc en plein essor et semble promise à un long avenir eu égard à ces diverses applications (**Guezennec et Debitus, 2005**).

Dans la majorité des cas, les populations bactériennes rencontrées sur les surfaces, et notamment celles des macro algues, sont spécifiques et évolutives au cours de l'année ou même au cours des différents stades du cycle de vie de l'hôte (**Bony, 1965 ;Ferderle et Bassler,2003**). En terme d'écologie chimique, il semble probable qu'il possède un rôle « protecteur » de quelques souches bactériennes épiphytes présentes sur la surface, qui émettent dans l'eau de mer environnante des composés chimiques faisant obstacle aux bio salisseurs extensives des surfaces (**Hallsworth et al., 2001**), les algues marines sont aussi à l'origine de différentes sources d'énergie et de carbone, elles sont riches aussi en substances osmoprotectrices (Glycine-bétaine et Diméthyl-sulfonio-propionate –oxalate ou acétate) qui sont utilisées par plusieurs bactéries afin de challenger le stress salin (**Ghoul et al., 1995**). Plusieurs études sont menées sur l'utilisation de l'algue marine *Ulva lactuca* comme osmoprotecteur de la souches *Azospirillum brasilense* NH dans des concentrations de salinité élevées (**Nabti et al., 2007** ).

### 2.3-Intérêt des bactéries associées aux algues :

Parmi les études existantes sur les interactions entre les micro-organismes et les eucaryotes sessiles marins, celles concernant la diversité microbienne associée aux coraux et aux éponges sont les plus importantes (**Handerson et al., 2007 ; Iglesias-Rodriguez et al., 2008a**). De ce fait, l'étendue de la diversité des hôtes sessiles pouvant héberger une communauté microbienne distincte peut avoir un impact remarquable sur notre vue actuelle de la diversité microbienne marine (**Iglesias-Rodriguez et al., 2008b**).

Contrairement aux microorganismes terrestres, les métabolites secondaires produits par les micro-organismes marins ont des structures différentes et leur activité biologique est beaucoup plus forte (**Karner et al., 2001 ; Riebsell et al., 2007**).

Autrement dit, l'étude des mécanismes impliqués dans les produits naturels résultants de la biosynthèse des bactéries marines a montré que la synthèse de nombreux composés bioactifs est stimulée par des associations bactérie-algue (**Lipp et al., 2008**). Ces composés sont considérés comme une ressource durable (**Martin et al., 2002 ; Pace, 2009**) et englobent de nombreuses substances antifongiques et antibactériennes (**Ramos et al., 2007**).

Par ailleurs, les bactéries marines actives sont attribuées aux genres : *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Flavobacterium* (**Riebsell et al., 2005**).

**1. Activités enzymatiques :**

De très nombreuses activités enzymatiques peuvent être décelées dans le sol : hydrolases, oxydo-réductase, transférases, lyases (Dick et Tabatabai,1992 cité par Chaussod,1996), ils s'agit donc des amylases, arylsulphatases,  $\beta$ -glucosidases, cellulases, chitinases, déshydrogénases, phosphatases, protéases et des uréases libérées dans cette matrice (Caldwell,2005). Ces enzymes jouent un rôle clé dans le processus global de la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes (Petit et Jobin , 2005 ) ,en raison de leurs liens évidents avec les grands cycles biogéochimiques , elles sont synthétisées, accumulées, inactivées et/ou constamment décomposées dans le sol, selon l'environnement physico-chimique (Caldwell,2005).

**1.1- Activité amylasique :**

L'amylase est une enzyme hydrolysant l'amidon (Ross, 1976). Elle est constituée d'une  $\alpha$ -amylase et d'une  $\beta$ -amylase (Thoma et al., 1971).

Il est bien établi que les  $\alpha$ -amylases sont synthétisées par les plantes, les animaux et les micro-organismes, tandis que, les  $\beta$ -amylases sont principalement synthétisées par les plantes (Pazur, 1965 ; Thoma et al., 1971). Plusieurs autres enzymes sont induites en présence de l'amidon, mais ce sont les  $\alpha$ -amylases qui dégradent l'amidon en glucose et/ou oligosaccharides, alors que les  $\beta$ - amylases obtiennent du maltose (Thoma et al.,1971).

**1.2- Activité cellulasique :**

La cellulose est le composé organique le plus abondant dans la biosphère, comportant presque 50% de la biomasse synthétisée par la fixation photosynthétique du CO<sub>2</sub> (Eriksson et al., 1990).

Le système enzymatique des cellulases comporte trois types importants d'enzymes. Elles incluent : endo-1, 4 -  $\beta$ - glucanase qui attaque la cellulose en chaîne au hasard, exo-1, 4 -  $\beta$ -glucanase qui élimine le glucose ou cellobiose de l'extrémité non-réductrice de la cellulose en chaînes, et  $\beta$ -D-glucosidase qui hydrolyse la cellobiose et d'autres cellodextrines hydrosolubles au glucose (Otajewwo et Aluyi., 2011).

**1.3- Activité chitinasique :**

Les chitinases ou enzymes chitinolytiques sont principalement responsables de la dégradation de la chitine (poly  $\beta$ -1-4- (2-n acétamide-2-désoxy) - D-glucoside). Elles sont également considérées comme éléments principaux dans l'élaboration des parois cellulaires des champignons (**Chet et chernin, 2002**), inversement, les enzymes provenant des bactéries sont aussi impliquées dans la dégradation des parois cellulaires des mycètes pathogènes (**Chet et al., 1990 cité par Tabli,2012**).

**1.4- Activité phosphatasique :**

Les phosphatases sont un large groupe d'enzymes hydrolysant des esters et des anhydrides de l'acide phosphorique (**Schmidt et Lawoski, 1961**).

Dans les écosystèmes du sol, ces enzymes sont impliquées dans des rôles critiques dans les cycles de P (**Speir et Ross, 1978**) et jouent un rôle principal dans l'activité biologique du sol (**Dick et Tabatabai, 1992 ; Eivazi et Tabatabai, 1997 ; Dick et al., 2000**).

Plusieurs études ont montrés une présence excessive de phosphatases chez les bactéries vivantes en interaction avec les légumineuses et certaines céréales (**Yadav et Tarafdar, 2001**).

La forme insoluble du phosphore est convertie en ions monobasiques; ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) et ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ). Ce processus est dit solubilisation minérale du phosphore. Ce qui induit une augmentation de la disponibilité du phosphore et sa prise par les plantes et cette activité serait dû à la synthèse des phytases qui sont très réponsus chez les souches *Bacillus*. (**Alabouvette et al., 2006 ; Basharat et al., 2008**).

**1.5- Activité protéasique :**

Les protéases jouent un rôle significatif dans la minéralisation de l'azote dans le sol (**Ladd et Jackson, 1982**). C'est un processus important dans la disponibilité de l'azote (Stevenson, 1986) et donc dans la croissance des plantes. Cette enzyme dans le sol est généralement liée aux colloïdes inorganiques et organiques (**Nannipieri et al., 1996 ;Petit et Jobin,2005**).

La concentration élevée de cette enzyme extracellulaire est un indice de la capacité biologique présente dans le sol pour dégrader les différents substrats azotés et libérer de l'azote minéral (**Petit et Jobin, 2005**).

L'activité protéasique est affectée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques (**Allison et al., 2011**) donc ,Il est nécessaire d'étudier les propriétés de ces facteurs impliquant dans l'écosystème de sol pour indiquer quelques rôles inconnus dans la gestion de fertilité du sol (**Makoi et Ndakidemi, 2008**).

L'activité protéasique peut avoir un effet plus poussé, elle influence indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'AIA et d'autres substances appariées (**Mansour et al., 1994**).

### **1.6- Activité uréasique :**

L'uréase est responsable de l'hydrolyse de l'urée pour produire le CO<sub>2</sub> et l'ammoniac(NH<sub>3</sub>). Elle est utilisée comme indicateur de la qualité du sol, car sa concentration est en fonction du taux de la matière organique (**Martinez-Salgado et al., 2010**). Cette dernière constitue un engrais potentiel et efficace dans le sol (**Andrews et al., 1989 ; Byrnes et Amberger, 1989**).

En raison de ce rôle, l'activité uréasique dans les sols a suscité beaucoup d'attention depuis qu'elle a été rapportée la première fois par Rotini (1935), ce qui augmente la disponibilité de l'azote pour les plantes (**Byrnes et Amberger, 1989 ; Van et Wang, 1991**). D'une part. L'activité uréasique est très sensible aux concentrations toxiques des métaux lourds (**Yang et al., 2006**), est varié selon la profondeur de sol ainsi que l'élévation de la température (**Hoffmann, 1959 ;Skujins,1967 ; Myers et Garity, 1968 ; Ross et Roberts, 1968** ).

### **1.7- Activité lipasique :**

Les lipases, ou les triacylglycérol acyl-hydrolases, sont des enzymes atypiques de par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats (**Sharma et al., 2001**).

En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides et leurs substrats préférentiels, en acide gras et en glycérol (**Guzmán et al., 2008**).

Chez de nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale plus de son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides. De plus, certaines

lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides et des esters de cholestérol (**Guzmán et al.,2008**).

Ils forment une classe d'enzymes hétérogènes selon leurs origines, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes, ce qui augmente encore leurs potentialités (**Singh et al., 2010**). Elles sont largement répandus chez les bactéries (Gram+ en grande quantité) (**Fickers et al., 2007**), les levures et les champignons filamenteux, ainsi la production de lipases est influencée par le type et la disponibilité d'une source du carbone et d'azote (**Ghosh et al.,2005**).

## 1-Prélèvements :

Dans le but de rechercher des bactéries productrices d'enzymes d'intérêt agricole, différents prélèvements du sol et d'algues sont effectués pendant le mois de Mars 2013.

### 1.1-Prélèvement du sol :

10 échantillons du sol sont collectés dans plusieurs sites de la wilaya de Bejaïa (Barbacha, Smaoun, Sidi Ali lebher) et un site de la wilaya de Sétif (Maabouda). Les prélèvements sont effectués dans la couche superficielle du sol (0-20 cm) (Alvarez et *al.*, 2002) d'une manière aléatoire, à l'aide des flacons stériles, ils sont mis dans une glacière (4°C) et sont directement transportés au laboratoire.



Lieux de prélèvements des échantillons de sol



Stérilisation de la surface

Prélèvement des échantillons

Figure 3 .Lieux de prélèvement des échantillons du sol

Tableau I : Origine des échantillons du sol et leurs aspects :

Echantillon	Origine	Type de sol	Aspect
A	SMAOUN	Agricole	
B	BARBACHA	Agricole	
C	1 AKWIR (Barbacha)	Agricole	
	2 ASSEFSSAF (Barbacha)	Agricole	

	3	ASSEFSSAF (Barbacha)	Agricole	
	4	AKWIR (Barbacha)	Rhizosphère de fève	
	5	AKWIR (Barbacha)	Rhizosphère de petit pois	
	6	AKWIR (Barbacha)	Rhizosphère d'une légumineuse (lotier)	
	7	Sétif (Maabouda)	Agricole	
	8	Sidi Ali lebher (Béjaia)	proche de la mer	

1.2-Prélèvement d'algues :

Le prélèvement d'algues est effectué dans la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat). Cinq échantillons sont collectés à l'aide d'un couteau stérile, les échantillons sont mis dans des boîtes en verre stériles contenant l'eau de mer environnante, ils sont directement transportés au laboratoire dans une glacière (4°C).



Figure 4 : Site de prélèvement des algues

**Tableau II :** Les échantillons d'algues et leurs caractéristiques (L'identification des échantillons d'algues effectuées à l'aide d'un spécialiste (M<sup>r</sup> Moussi ) par l'observation sous la loupe).

Échantillon	Algue	Espèce	Aspect
E <sub>1</sub>	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	
E <sub>2</sub>	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	
E <sub>3</sub>	Verte	<i>Ulva lactuca</i>	
E <sub>4</sub>	Brune	<i>Scytosiphon lomentaria</i>	
E <sub>5</sub>	Verte	<i>Enteromorpha intistinalis</i>	

### **1.3-Tests physicochimiques du sol :**

#### **1.3.1-Humidité :**

C'est la perte au séchage d'un produit frais (sol) à haute température jusqu'à stabilité du poids (**Mathieu et Pieltain, 2003**).

2g de chaque échantillon du sol sont soumis à la dessiccation à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Les résultats des taux d'humidité sont déterminés selon l'équation suivante :

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

P1 : Poids initial de l'échantillon et du creuset ;

P2 : Poids final de l'échantillon et du creuset après séchage ;

P3 : Poids du creuset vide.

#### **1.3.2-pH :**

La mesure du pH est réalisée suivant le protocole de **Mathieu et Pieltain. (2003)**.

**a. pH- eau** (acidité effective) :

- Peser 2g de terre tamisée (<2mm) séchés à 40°C;
- Ajouter 5ml d'eau déminéralisée, et agiter;
- Laisser reposer 2h ;
- Plonger l'électrode dans le liquide surnageant et effectuer la mesure ;
- Laisser la lecture se stabiliser durant plusieurs secondes.

**b. L'acidité titrable ou de réserve :**

Est mesurée par échange avec une solution saline de KCl. On échange ainsi une partie des ions H<sup>+</sup> absorbés par du potassium.

Donc le même test est répété en remplaçant le solvant qui est l'eau déminéralisée par une solution de KCl 1N.

**2-Isolement des bactéries :****2.1-A partir du sol :**

1 g de chaque échantillon du sol est dissous dans 9 ml de bouillon PBS. Des dilutions décimales ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) sont effectuées. Des boîtes de Pétri de gélose nutritive (**Annexe I**) sontensemencées avec 1 ml de chaque dilution, puis incubées à 30°C/ (48 h-7J).

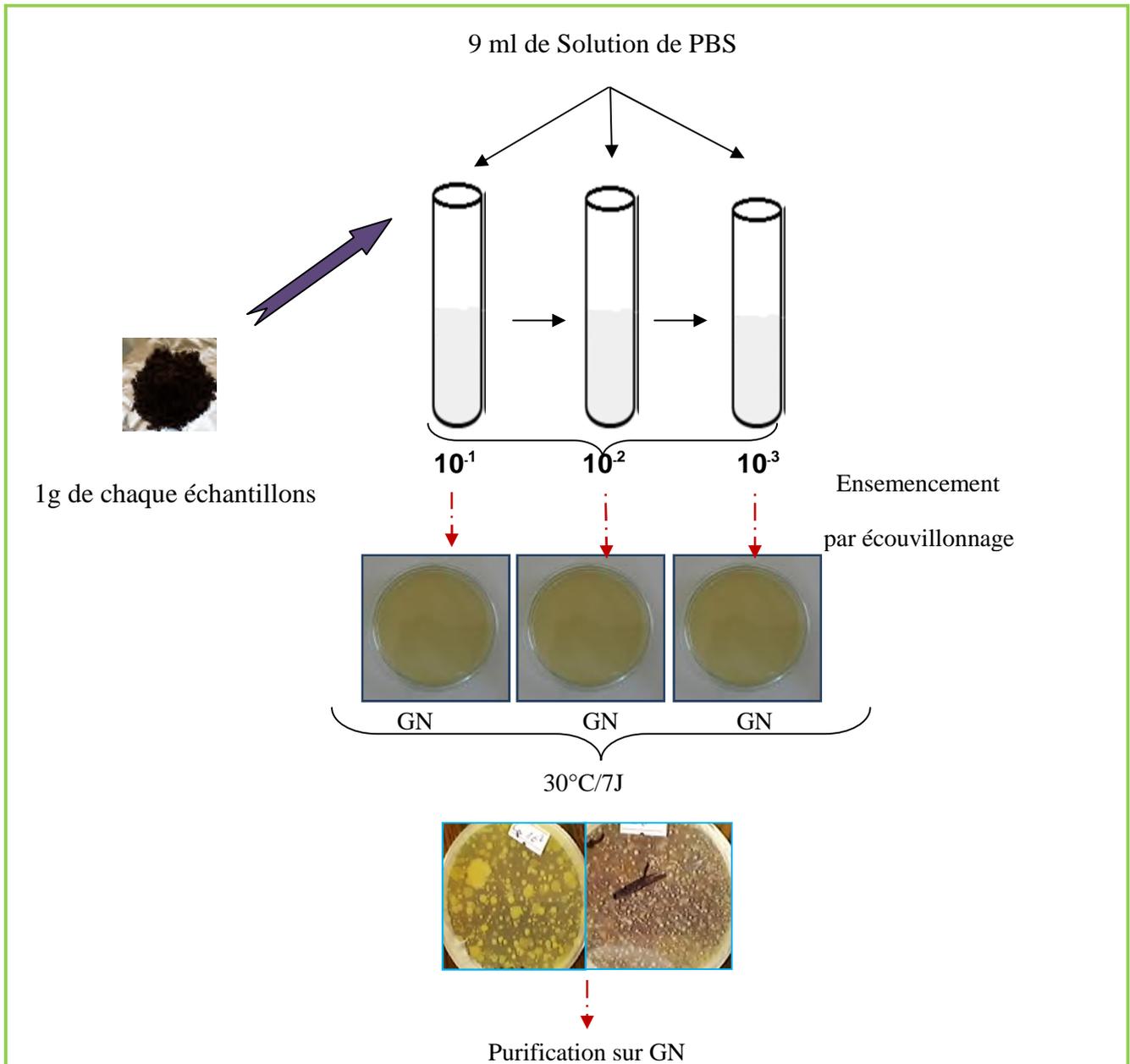


Figure 5 : Etapes d'isolement à partir des échantillons du sol .

**2-2.A partir des algues :**

Les échantillons d'algue sont lavés avec l'eau distillée stérile pour éliminer les impuretés et les bactéries faiblement attachées aux algues. L'isolement de bactéries à partir des algues récoltées est effectué sur milieu Zobell (**Annexe I**) par 3 méthodes différentes :

- a- La surface d'algue est frottée avec un écouvillon stérile, qui est utilisé pour ensemercer des boîtes de milieu Zobell.
- b- Un morceau de chaque échantillon d'algues est découpé stérilement puis déposé directement à la surface de milieu solide.
- c- La troisième méthode consiste à tremper un écouvillon stérile dans l'eau qui a servi au lavage d'échantillon d'algue, l'essorer à l'intérieur du tube puis le frotter sur toute la surface de milieu Zobell.

Toutes les boîtes sont incubées à 22°C/7J.

Des repiquages successifs sont effectués jusqu'à l'obtention de colonies pures.

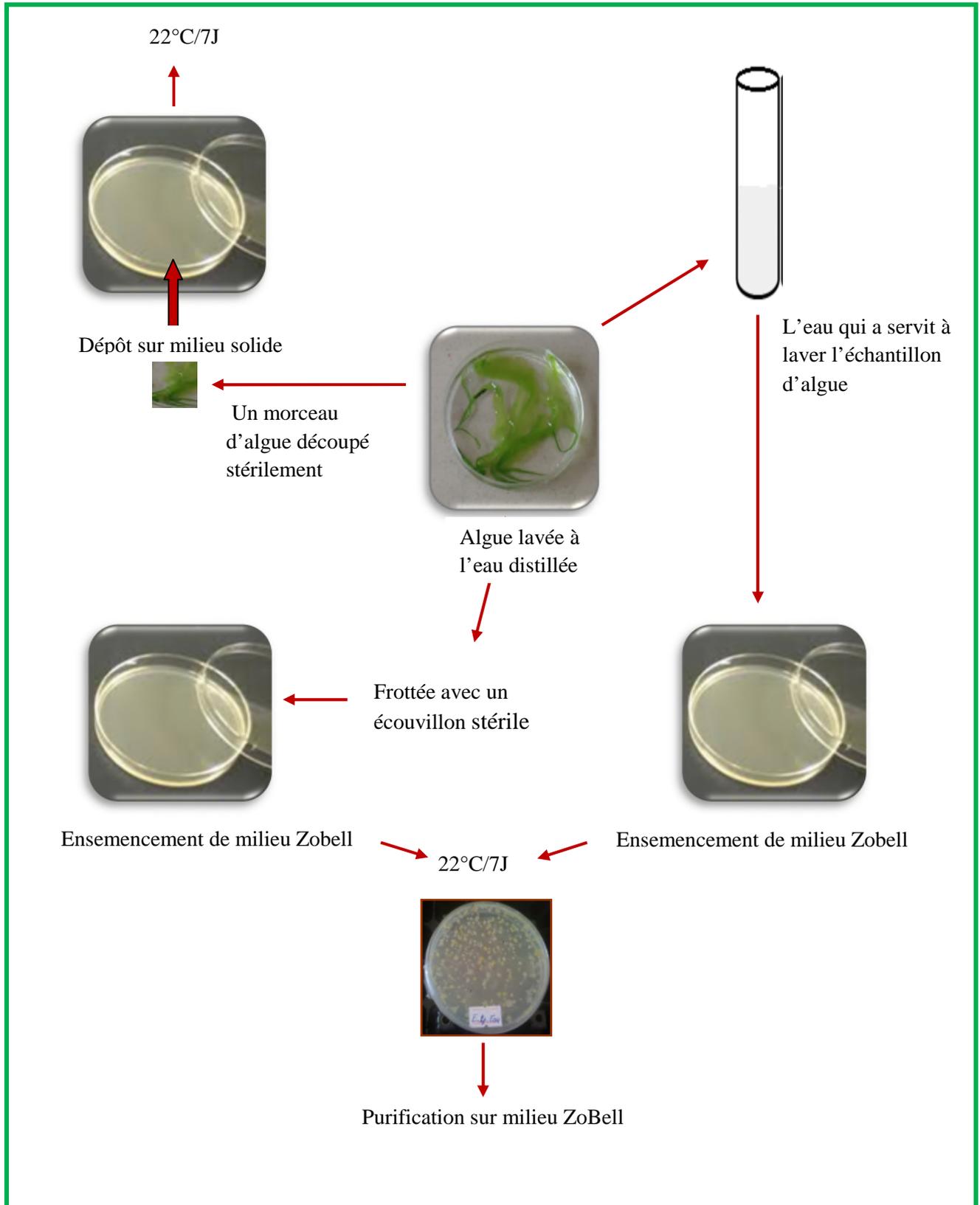


Figure 6 : Les différentes méthodes d'isolement à partir des algues marines

### **3-Recherche des enzymes d'intérêt agricole :**

Plusieurs enzymes sont recherchées : protéases, cellulases, amylases, lipases et estérases, qui ont une activité sur la fertilité de sol on ajoute à ces enzymes la chitinase qui joue un rôle dans le biocontrol. L'étude est effectuée par la méthode des cylindres d'agar.

#### **3.1- Détermination de l'activité cellulosique :**

La présence de cellulase est révélée par le repiquage des souches sur milieu de Carder (1986) qui contient en g/l: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (6) ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (3); NaCl (0,5); NH<sub>4</sub>Cl (1); Extrait de levure (3) ; CMC (carboxyméthylcellulose) (7) ; Agar (15). Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 8 jours (Carrim et al., 2006).

Après l'incubation, une solution de rouge Congo (1%) est ajoutée à la surface des colonies. Après 20 minutes, la surface est inondée avec 1M de NaCl puis laissée au repos une nuit. Par ailleurs, l'apparition d'un halo clair autour des cylindres traduit la présence d'une cellulase.

#### **3.2-Détermination de l'activité estérasique :**

L'activité estérasique est testée sur le milieu de culture utilisé par Sierra (1957) Il contient en g/l : peptone (10) ; NaCl (5.0) ; CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O (0.1) ; Tween 80 (1%, v/v) et Agar (18). Le pH est ajusté à 7,4. (Carrim et al, 2006). Après ensemencement de milieu les boîtes sont incubées pendant 48h. La présence d'une activité estérasique est traduite par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

#### **3.3-Détermination de l'activité lipolytique :**

La recherche de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité estérasique. Toutefois, le tween 80 est remplacé par le tween 20, et le résultat positif est déterminé par la présence d'un halo clair autour des colonies (Carrim et al., 2006).

**3.4-Détermination de l'activité chitinasique :**(Kopečný et *al.*, 1996).

Le milieu de culture suivant est utilisé, il est composé de la manière suivante en g/l :  
La chitine colloïdale : 0.8 à 0.6, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 2.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0.3, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O : 0.7, NaCl :  
0.5, KCl : 0.5, Extrait de levure : 0.13, Agar : 15. l'incubation dure 7 jours minimum.  
L'activité chitinasique se manifeste par un halo transparent autour de ces disques.

**3.5-Détermination de l'activité protéasique :** (Bach et Munch, 2000).

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 ensuiteensemencé par la méthode des  
disques. Les bactéries ayant une activité protéasique montrent un halo transparent autour des  
disques.

**3.6- Détermination de l'activité amylasique :** (Vinoth Raj et *al.*, 2009)

Le test d'activité amylasique est réalisé sur gélose à base d'amidon. Le milieu contient  
en (g/l) :KNO<sub>3</sub> (0,5), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,0), MgSO<sub>4</sub> (0,2), CaCl<sub>2</sub> (0,1), FeCl<sub>3</sub> (0,001), amidon soluble  
(10,0), agar (15,0). Le pH est ajusté à 7,2. Les boîtes sont incubées pendant 48h-72h

Une solution de lugol est préparée comme suit : 1g d'iode cristallin, 2g de KI,  
300ml d'eau distillée. Le tout est mélangé est laissé au repos puis filtré.

Après apparition des colonies, la solution de lugol préalablement préparée est  
éparpillée sur toute la surface du milieu. Ensuite après quelques minutes du contact, l'excès  
éliminé et les boîtes sont lavés à l'eau distillée. La lecture s'effectue de la manière suivante :

La présence de l'amidon dans le milieu donnera une couleur bleue noire, ceci implique  
une absence d'activité amylasique. En revanche, si l'amidon est hydrolysé, une zone claire  
apparaîtrait autour des disques d'agar, ce qui traduit une présence d'activité amylasique chez  
les souches.

Pour toute les activités, les milieux sontensemencés par dépôt d'un disque de 5 mm de chaque souche (âgée d'une nuit) à la surface. L'incubation se fait à 30°C pour les bactéries de sol et 22°C pour les bactéries marines.

#### **4-Etude des bactéries isolées :**

44 colonies sont choisies selon la présence des enzymes recherchés (32 à partir du sol et 12 à partir des algues).L'étude de ces souches sélectionnées a nécessité plusieurs étapes, permettant leur identification et leur caractérisation physicochimique et métabolique.

##### **4.1-Mobilité et morphologie microbienne :**

La mobilité des bactéries a été étudiée par observation microscopique à l'état frais sur cultures en phase de croissance dans une goutte d'eau distillée stérile entre lame et lamelle, et confirmée par repiquage sur milieu spécifique : mannitol-mobilité.

##### **4.2-Coloration de Gram :**

Des frottis sont préparés à partir des souches jeunes et pures. Les frottis sont colorés par la méthode de Gram, puis ils sont observés au microscope optique (Grossissement x 100) après l'ajout de l'huile à immersion.

##### **4.3-Test de la catalase :**

Le matériel bactérien prélevé est mis dans goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La présence de la catalase s'exprime par un dégagement gazeux.

##### **4.4- Mise en évidence du nitrate réductase :**

Les cultures sont réalisées dans le Bouillon-Nitraté. L'apparition de la couleur rouge, après l'addition des deux réactifs (nitrite1 et nitrite2), est un indicateur coloré de la réduction des nitrates.

##### **4.5-Fermentation des sucres et production de H<sub>2</sub>S:**

La fermentation des sucres (glucose, lactose) ainsi que la production de H<sub>2</sub>S ont été recherchées sur le milieu d'identification combiné : milieu Hajna-Kligler, en ensemençant

abondamment la surface par des stries ou par inondation et le culot par une simple piqûre centrale.

#### **4.6- Citrate :**

Les bactéries capables d'utiliser le citrate de sodium comme seule source de carbone pourront se développer sur ce milieu. La fermentation du citrate de sodium entraîne alors une acidification qui provoque un virage de la couleur du milieu de vert au bleu.

Les échantillons du sol sont numérotés A (A<sub>1</sub> ; A<sub>2</sub> ; A<sub>3</sub>), B (B<sub>1</sub> ; B<sub>2</sub> ; B<sub>3</sub>), C (C<sub>1</sub> ; C<sub>2</sub> ; C<sub>3</sub> ; C<sub>4</sub> ; C<sub>5</sub> ; C<sub>6</sub> ; C<sub>7</sub> ; C<sub>8</sub>), tandis que ceux des algues sont numérotés :E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>.

**1-Tests physico-chimiques :**

**1.1 -Humidité :**

Les résultats d’humidité des différents échantillons de sol sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau III :** Les valeurs de l’humidité des différents échantillons.

Echantillon	H (%)
A <sub>1</sub>	12,82
A <sub>2</sub>	15,27
A <sub>3</sub>	14,88
B <sub>1</sub>	17,00
B <sub>2</sub>	14,66
B <sub>3</sub>	15,67
C <sub>1</sub>	33,90
C <sub>2</sub>	33,78
C <sub>3</sub>	28,15
C <sub>4</sub>	22,46
C <sub>5</sub>	27,21
C <sub>6</sub>	28,41
C <sub>7</sub>	21 ,5
C <sub>8</sub>	21,21

**1.2-pH :**

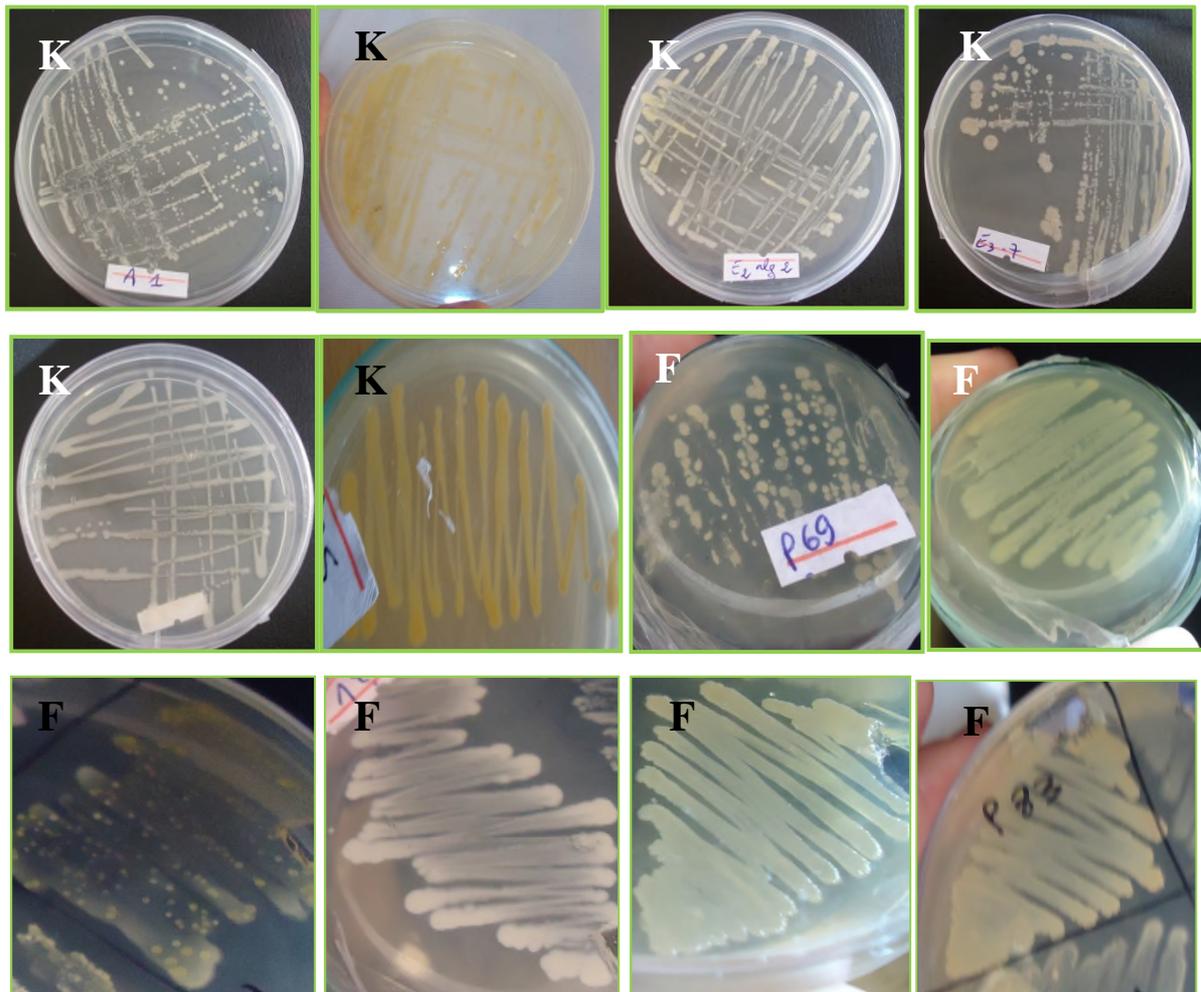
Les résultats du pH sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau IV :** Les valeurs de pH-eau et pH-KCl des échantillons de sol.

Echantillon pH	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>
pH <sub>eau</sub>	7,77	7 ,62	8,03	8,01	8,21	7,97	7,60	7,52	7,77	7,99	7,87	7,54	8,07	8,38
pH <sub>kcl</sub>	7,08	6,88	7,14	7 ,26	7,36	7,32	7,32	7,17	7,36	7,28	7,20	7,1	7,48	7 ,40

## 2- Isolement des bactéries :

194 colonies différentes sont isolées (54 colonies à partir des algues et 140 colonies à partir du sol) à partir des échantillons récoltés, et cela en se basant sur l'aspect des colonies sur milieu solide. Ces colonies représentent une grande diversité de taille, forme, couleur et surface.



**Figure 7 :** Quelques aspects des colonies obtenues sur GN et ZoBell.

(F : Bactéries du sol sur GN ; K : Bactéries marine sur milieu Zobell)

## 3-Recherche des enzymes d'intérêt agricole :

Tous les isolats sont testés pour diverses activités enzymatiques, cellulase, chitinase, estérase, protéase, amylase et lipase.

Parmi les 194 isolats testés, 44 isolats sont sélectionnés (32 à partir du sol et 12 à partir des algues) pour des tests d'identification.

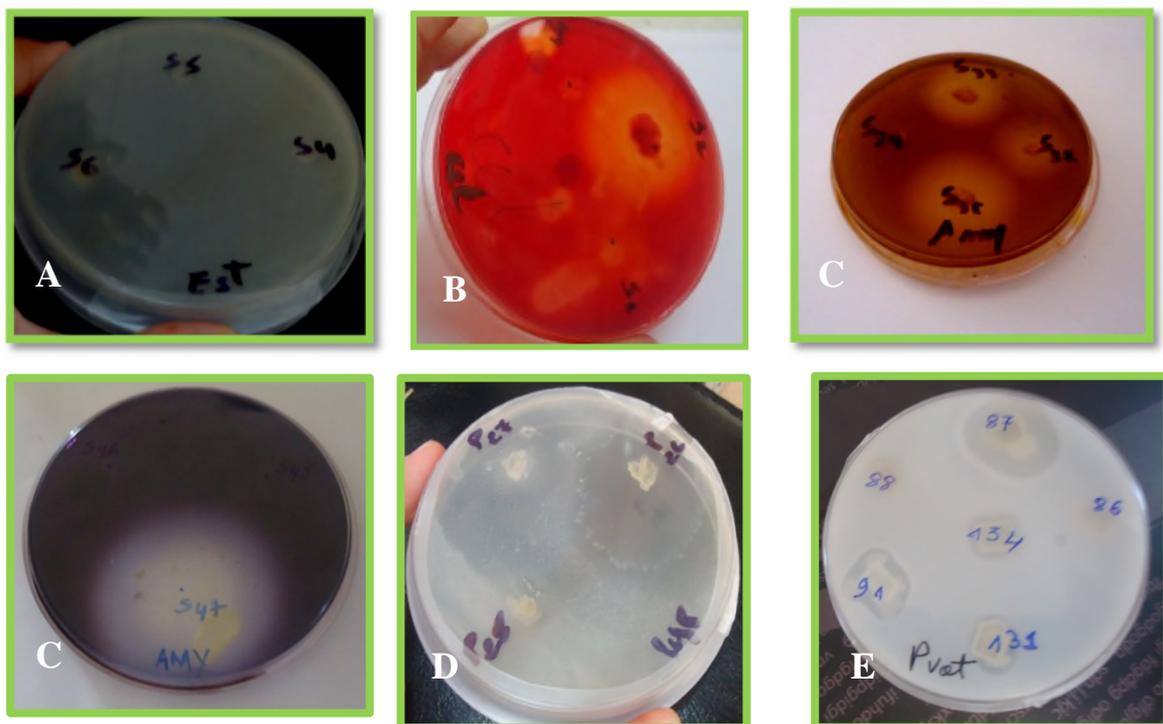
**Tableau V** : Résultats des différents tests d'activités enzymatiques appliqués sur les isolats sélectionnés à partir du sol

Isolat	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
P15	+++	++	-	+	-	+
P26	++++	+++	+	++++	+	-
P28	-	++	+	+	++	-
P33	++	+++	-	-	+++	++
P36	++	++	+++	+	++	-
P39	++	++	+	++	++	+
P41	-	+	-	++	+	+
P42	++	++	-	++	+	+
P48	+	++	+++	+		+
P50	+	++	++++	+	+	+
P53	+++	+++	+++	-	++	++
P56	++	++	+	-		+++
P59	++	-	+	++	+	++
P63	+++	++		+	++	-
P64	++	+	+	+++	+	++
P67	++	++	+	++	+	+++
P68	++	+++	++	+	-	+++
P69	++	+++	++	+	++	+++
P78	++	+	+		-	+++
P85	++	++	+++	-	+	++
P86	++	++	+++	-	+	++
P87	+++	+++	++++	+	+	++
P88	++	++	+	+	+	++
P89	-	+++	++	+	+	+
P90	-	++	+++	+	-	+
P95	++	++	++			++
P98	++	-	++	+		+++
P103	++	++	+++	++	-	+
P114		+++	-	+	+	+++
P115	+++	++	+	+		
P129	++	+	-	+	-	++
P135	++	++	++	-	+	-

**Tableau VI.** Résultats des différents tests activités enzymatiques appliqués sur les isolats sélectionnés à partir d'algues :

Isolat	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
S1	++	+	-	++	-	-
S6	+++	++	++	++	+++	+++
S11	-	+++	++++	-	+	+
S12	++	+	-	-	+	+
S13	+++	++	-	++	+++	+++
S18	++	++	-	+++	+	+++
S23	-	++++	+	++	++	++
S24	+	++	+	++++	-	-
S26	++++	++	-		-	+++
S32	++	++	+	-	+	+++
S35	-	++	+	+	+	+++
S36	+++	+++	+	+	+++	+++

+: Activité faible; ++ : activité moyenne ; +++ : activité forte ; - : Pas d'activité enzymatique.



**Figure 8 .** Quelques images des résultats des tests d'activités enzymatiques appliqués :

A : Estérase ; B : cellulase ; C : amylase ; D : lipase ; E : protéase.

**Tableau VII:** Les pourcentages d'activités enzymatiques des isolats du sol et d'algues

Activité enzymatique	Sol	Algues
Cellulasique	84,37%	75%
Lipolytique	93,75%	100%
Estérasique	78,12%	58,33%
Protéasique	75%	66,66%
Chéтинasique	65,62%	75%
Amylasique	87,5%	83,33%

**Tableau VIII-1 :** Les origines des isolats sélectionnées du sol et d'algues : ( le code (P) pour les isolats à partir de sol, le code (S) pour les isolats à partir des algues).

Les échantillons	Les isolats sélectionnées
<b>A</b>	<b>P98- P103.</b>
<b>B</b>	<b>P26- P28 - P33- P114- P115- P129- P135.</b>
<b>C1</b>	<b>P39- P41 - P42- P48- P50 - P53.</b>
<b>C4</b>	<b>P15.</b>
<b>C5</b>	<b>P36.</b>
<b>C6</b>	<b>P56- P59- P63- P64.</b>
<b>C7</b>	<b>P67- p68- P69- P78- P85- P86 -P87- P88.</b>
<b>C8</b>	<b>P89 -P90- P95.</b>
<b>E1</b>	<b>S18- S23.</b>
<b>E2</b>	<b>S13- S24.</b>
<b>E3</b>	<b>S1- S6- S36.</b>
<b>E4</b>	<b>S11- S32.</b>
<b>E5</b>	<b>S12- S35- S26.</b>

#### **4-Identification des isolats :**

L'observation de l'aspect cultural et morphologique des colonies isolées et purifiées est réalisée sur milieu GN. D'autres observations au microscope optique sont aussi effectuées sur ces dernières, à l'état frais et après coloration de Gram (X100).

Tableau VIII-2: Caractères cultureux et morphologiques des isolats du sol.

Isolats	Etat frais	Gram	Mobilité
P15	Cocci	-	+
P26	Diplocoque	-	+
P28	Coccobacille	+	+
P33	Cocci	+	+
P36	Coccobacille	-	+
P39	Bacille	+	-
P41	Bacille	+	+
P42	Bacille	-	+
P48	Diplocoque ou plusieurs	-	-
P50	Petitbacille	-	+
P53	Cocci	-	+
P56	Bacille	+	+
P59	filaments	+	-
P63	filaments	+	-
P64	Bacille	-	+
P67	Bacille	+	+
P68	Bacille	+	+
P69	Grandbacille	-	+
P78	Bacille	+	+
P85	Bacille	-	+
P86	Coccobacille	-	+
P87	Coccobacille	-	+
P88	Bacille	+	+
P89	Bacille	-	+
P90	Bacille	-	+
P95	Bacille	-	+
P98	Bacille	+	+
P103	Bacille	+	-
P114	Bacille	-	+
P115	filaments	+	+
P129	Diplocoque	-	-
P135	Cocci	-	-

Tableau IX : Caractères cultureux et morphologiques des bactéries marines

Isolat	Etat frais	Gram	Mobilité
S1	Cocci	+	-
S6	Bacille très fin	-	-
S11	Coccobacille	-	-
S12	Cocci	+	-
S13	Petit bacille	-	+
S18	Petit bacille	+	-
S23	Cocci	-	-
S24	Bacille	+	-
S26	Coque-diplocoque	-	-
S32	Coccobacille	-	+
S35	Filaments	-	-
S36	Coccobacille	-	-

L'identification biochimique des isolats sélectionnés est effectuée par des galeries classiques avec un nombre limité de caractères, les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultats des tests biochimiques des isolats de sol

Colonie	Nitrate réductase	Citrate	Mannitol	Catalase	H <sub>2</sub> S	Production du gaz	Glucose	Lactose
P15	NR <sup>-</sup>	+	+	-	-	-	+	+
P26	NR <sup>-</sup>	+	+	+	-	-	+	+
P28	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	-	+
P33	NR <sup>+++</sup>	+	-	+	+	+	+	-
P36	NR <sup>+</sup>	+	+	-	-	-	+	-
P39	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P41	NR <sup>+++</sup>	+	+	+	-	+	+	-
P42	NR <sup>-</sup>	+	+	+	-	-	+	-
P48	NR <sup>-</sup>	-	+	+	+	-	-	-
P50	NR <sup>-</sup>	-	+	+	-	-	+	-
P53	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	-
P56	NR <sup>-</sup>	+	-	+	-	-	+	-
P59	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P63	NR <sup>+</sup>	-	+	-	+	-	+	-
P64	NR <sup>+</sup>	-	-	+	-	+	+	-
P67	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P68	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P69	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	-

P78	NR <sup>+++</sup>	-	+	+	-	+	+	+
P85	NR <sup>-</sup>	-	+	+	-	+	+	+
P86	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	+	+	+
P87	NR <sup>+</sup>	-	+	-	-	+	+	+
P88	NR <sup>+</sup>	-	-	+	-	+	-	-
P89	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	-
P90	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P95	NR <sup>+</sup>	+	+	-	-	-	+	-
P98	NR <sup>+</sup>	-	+	-	-	-	+	-
P103	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	-
P114	NR <sup>+</sup>	-	+	-	-	-	+	-
P115	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	+
P129	NR <sup>+</sup>	+	+	+	-	-	+	-
P135	NR <sup>+</sup>	-	+	-	-	-	-	-

Tableau XI : Résultats des tests biochimiques des isolats collectés à partir des algues marines

Isolat	Nitrate réductase	Citrate	Mannitol	Catalase	H <sub>2</sub> S	Production de gaz	Glucose	Lactose
S1	NR <sup>-</sup>	-	-	+	-	-	-	+
S6	NR <sup>+</sup>	-	+	++	-	-	+	+
S11	NR <sup>-</sup>	-	+	+	-	-	-	-
S12	NR <sup>+</sup>	-	+	++	-	-	-	-
S13	NR <sup>+</sup>	-	+	++	-	-	+	+
S18	NR <sup>-</sup>	-	+	+	-	-	+	+
S23	NR <sup>+++</sup>	-	-	+	-	-	+	+
S24	NR <sup>-</sup>	-	+	+	-	-	-	-
S26	NR <sup>+</sup>	-	-	+	-	-	+	+
S32	NR <sup>+</sup>	-	+	+	-	-	+	-
S35	NR <sup>+</sup>	-	+	++	-	-	+	+
S36	NR <sup>+</sup>	-	+	++	-	-	+	-

Dans cette présente étude, 9 échantillons du sol de différentes régions de la wilaya de Bejaïa (Barbacha, Smaoun, Sidi Ali lebher) et un seul de la wilaya de Sétif (Maabouda) sont étudiés. Les échantillons du sol sont prélevés à une profondeur allant de 15 à 20 cm, et les cinq échantillons d'algues sont prélevés dans la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat), dans des conditions stériles, dans le but d'isoler les bactéries productrice d'enzymes d'intérêt agricoles. 194 colonies sont isolées et séparées au départ sur la base de leurs caractères culturaux. Chaque colonie est suspendue puis testée pour la présence d'activités enzymatiques. En fin, 44 isolats se sont révélés producteurs d'enzymes, et ont donc fait l'objet de certains tests d'identification.

## **1. Les propriétés physico-chimiques des sites de prélèvement :**

### **a) L'humidité :**

La teneur en humidité superficielle d'un sol représente le stockage temporaire de l'eau, généralement limitée à la zone d'aération. La teneur en humidité du sol est très variable, tant du point de vue spatial que du point de vue temporel, en raison de l'hétérogénéité des propriétés du sol ; de la topographie ainsi que de la distribution des précipitations et de l'évapotranspiration (**Juglea, 2011**).

La différence du pourcentage de l'humidité dans les échantillons du sol est due principalement à la période de l'échantillonnage, les premiers prélèvements A et B sont effectués pendant un temps ensoleillé et les autres pendant un temps pluvieux, ce qui explique le taux élevé de l'humidité des échantillons C.

### **b) Le pH :**

Selon (**Denis, 2000**), les échantillons A, B, C ( $6.5 < \text{pH} < 7.5$ ) sont des sols neutres. De plus, la diversité bactérienne dans le sol est très influencée par l'humidité et le pH du sol. Dans nos échantillons, on a des valeurs d'humidité et de pH moyennes qui n'inhibent pas la croissance bactérienne ni la diversité microbienne du sol.

## **2. Recherche des propriétés d'intérêt agricole :**

L'importance des microorganismes dans la production d'enzymes figure dans leur grande production, le bon prix, et leurs prédispositions aux manipulations génétiques (**Carrim**

et *al.*, 2006). Les enzymes extracellulaires peuvent dégrader les nutriments insolubles présents dans le sol comme les protéines, l'amidon et la cellulose. ( **Burns et Wallenstein, 2010**). L'utilisation des bactéries pour la production d'enzyme dans le sol, pour améliorer la biodisponibilité des nutriments pour la plante, ou pour la production des hormones afin d'améliorer la croissance des plantes, a été étudiée par plusieurs auteurs. Et présente beaucoup d'avantages.

Les actinomycètes sont de bons décomposeurs. En plus de leurs synthèses d'antibiotiques, ils sont connus pour la production de plusieurs enzymes comme, les chitinases, les amylases et les protéases (**Ningthoujam et al., 2009**).

D'après **Siddique et al. (2001)**, les actinomycètes qui sont des bactéries Gram +, colonisent différents écosystèmes et secrètent plusieurs enzymes extracellulaires permettant la dégradation des matériaux organiques complexes retrouvés dans le sol. Parmi les actinomycètes, les *Streptomyces* secrètent une large variété d'enzymes incluant les cellulases, lipases, amylases et les protéases. Et La différenciation entre les espèces implique la morphologie ; la physiologie et les activités biochimiques à savoir les enzymes et les antibiotiques (**Suneetha et al., 2011**).

Concernant les *Pseudomonas*, ils forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau. Dans le sol, les *Pseudomonas* représentent une grande fraction de la communauté microbienne partageant leur milieu avec des commensaux appartenant principalement aux genres *Bacillus* et *Actinomyces*. On les retrouve un peu par tout, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes. Les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Elles sont connues pour produire les composés antimicrobiens et les enzymes extracellulaires (lipase, estérase, xylanase, pectinase, amylase, protéase et cellulase) (**Allaire, 2005**).

### 2.1-Activité cellulasique :

La dégradation de la cellulose joue un rôle clé dans le cycle de carbone (**Lee et al., 2007**), elle est essentiellement convertie par les microorganismes en dioxyde de carbone dans des conditions aérobies et en méthane en anaérobiose (**Eriksson, 1985**). Plusieurs souches de *Bacillus circulans* et de *Bacillus subtilis* productrices de cellulases ont été isolées (**Otajevwo et Aluyi, 2011**).

Dans ce travail, la production de la cellulase est observée chez 84,37% des isolats obtenus à partir du sol, et 75% pour l'ensemble des isolats collectés à partir des algues. Cette enzyme leur permet de bien résister dans le sol, car la cellulose est le nutriment le plus abondant. **Veiga et al. (1983)** ont isolé 36 souches d'actinomycètes appartenant au genre *Streptomyces* à partir de sédiments marins, dont plus de 50% montrent une activité cellulasique.

Environ 80% des bactéries cellulolytiques isolées jusqu'à présent sont des Gram positives et sont réparties en seulement deux phylum (**Schwarz, 2001**). Certaines appartiennent au phylum des *Actinobacteria* et seulement à l'ordre *Actinomycetales*, les autres appartiennent au phylum des *Firmicutes* et essentiellement à l'ordre des *Clostridiales* mais aussi quelques-unes à l'ordre des *Bacillales*.

## 2.2-Activité protéasique :

Les protéases sont les enzymes les plus importantes en industrie avec 60% du total des enzymes vendues (**Ningthoujam et al., 2009**). La dégradation des protéines par les protéases microbiennes est importante dans le cycle d'azote au niveau du sol, en le rendant disponible pour les plantes et les micro-organismes (**Petit et Jobin, 2005**). 75% et 66,66% représentent respectivement le pourcentage de l'activité protéasique des isolats du sol et d'algues marines. Les protéases d'origine microbienne sont probablement les plus secrétées parmi toutes les enzymes, ce sont les enzymes les plus importantes en industrie avec 60% du total des enzymes vendues (**Ningthoujam et al., 2009**). Elles sont utilisées dans le domaine alimentaire, l'industrie fromagère, les détergents, l'industrie de soie, domaine de la pharmacologie et la production de médicaments et dans l'agriculture (**El-Safey et Abdul-Raouf, 2004**). Leur synthèse se manifeste durant la période de sporulation chez les *Streptomyces*, ce qui de même pour *Bacillus subtilis* (**Siddique et al., 2001**).

Comparés au genre *Bacillus*, les actinomycètes sont moins exploités pour l'activité protéasique. Il y a peu de rapports sur les activités protéasiques des actinomycètes par rapport au *Bacillus* (**Ningthoujam et al., 2009**). Parmi les souches d'actinomycètes, certaines sont productrices d'enzymes protéolytiques, d'autres non (**Ningthoujam et al., 2009**).

L'activité protéasique peut avoir un effet plus poussé, elle influence indirectement la synthèse des auxines en libérant les acides aminés comme le tryptophane qui est le précurseur de la synthèse de l'AIA (acide indole acétique) et d'autres substances appariées (**Mansour et al., 1994**).

### 2.3-Activité lipasique et estérasique:

L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé d'augmenter au cours des 25 dernières années, principalement en raison du grand nombre d'applications qu'elles offrent dans différents domaines. Les lipases microbiennes présentent comme avantages d'une part, les procédés de fabrication sont relativement simples comparés aux lipases d'origine animale, et d'autre part, elles montrent une grande stabilité vis-à-vis de la température, des détergents et des enzymes protéolytiques. (**Sharma et al., 2001**). Dans ce travail, l'activité lipasique est observée chez 94% des isolats du sol et 100% des isolats d'algues testées, et l'activité estérasique est observée chez 79% des isolats du sol et 59% pour ceux d'algues.

Les lipases sont largement répandues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. Elles sont aussi bien produites chez les bactéries Gram + telles que *Bacillus* et *Staphylococcus* que par des bactéries Gram – telle que *Pseudomonas*.

**El-Safey et Abdul-Raouf (2004)** rapportent que les souches de *Bacillus subtilis* sont productrices de grandes quantités de protéases et d'estérases, et d'autres types d'exo-enzymes à la fin de la phase exponentielle de leur croissance.

### 2.4-Activité amylasique :

L'activité amylasique est observée chez 83,3 % des isolats obtenus à partir des algues marines et 87,5% des isolats du sol.

Les amylases sont des enzymes qui hydrolysent l'amidon ou le glycogène. Elles peuvent dériver de plusieurs sources comme les plantes, les animaux et les microorganismes. Ces derniers sont plus favorisés grâce à leur large disponibilité et leur production volumineuse à l'échelle industrielle (**Vidyalakshmi et al., 2009**).

La synthèse d'enzymes amylolytiques par les bactéries du sol permet une dégradation de la matière organique et fournit les éléments minéraux nécessaires pour la croissance.

Dans leur étude sur *Bacillus sp.*, **Obi et Odibo (1984)** ont révélé une production de quantités considérables en  $\alpha$  et  $\beta$ -amylases. Ils ont aussi déterminé les différents paramètres

(température et pH) influençant la synthèse des amylases par les actinomycètes du sol dans le milieu de culture.

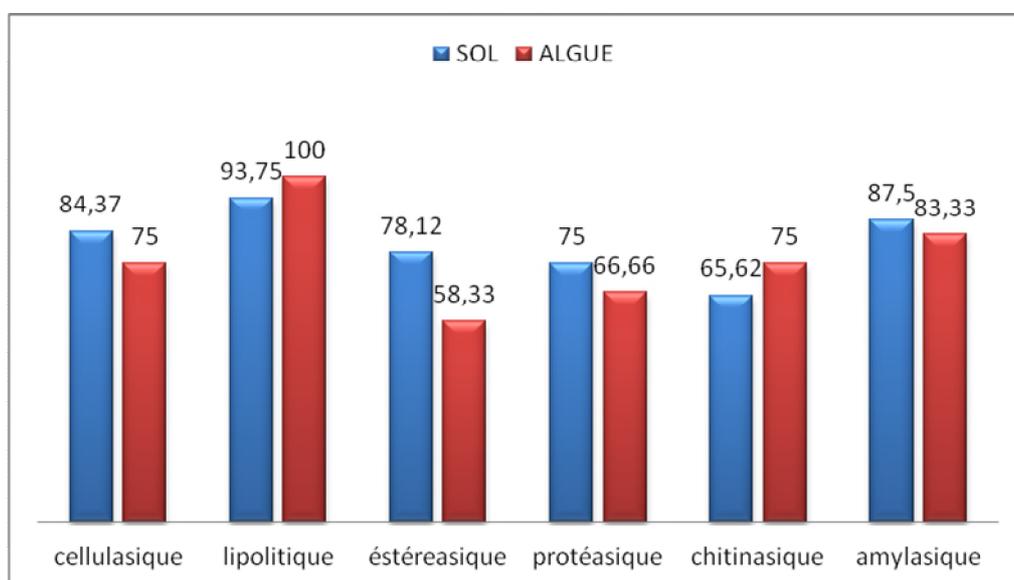
### 2.5-Activité Chitinasique :

Cette activité est observée chez 66% des isolats du sol et 75% des isolats d'algues.

Selon **Bhushan et Hoondal (1998)**, les chitinases hydrolysent des polymères linéaires insolubles de  $\beta(1,4)$  de N-acétylglucosamine, qui est un constituant majeur des cellules pariétales de plusieurs champignons, les coquilles des crustacées et l'exosquelette des insectes. Plusieurs espèces du genre *Bacillus* sont connues pour la production de chitinases, comme *B. circulans*, *B. licheniformis* et autres (**Pleban et al., 1997**). Les Streptomyces possèdent une bonne activité enzymatique selon **Trejo-Estrada et al (1998)**.

Les chitinases de plusieurs actinomycètes ont aussi montré des effets antagonistes contre plusieurs champignons du coton, du riz, et de tomate. D'après **Quecine et al. (2008)**, la quasi-totalité des souches de *Bacillus sp.* est connue par son activité chitinasique élevée.

Les valeurs des pourcentages d'activité enzymatique obtenus, montre qu'il n'y a pas une grande différence entre les isolats de deux milieux.



**Figure 9 :** Pourcentage d'activités enzymatiques des isolats du sol et d'algue marines

### 3. Identification biochimique des isolats

Les 44 isolats sont soumis à des tests conventionnels (Caractérisation morphologique et biochimiques) pour une éventuelle identification.

Concernant l'aspect des colonies isolées, on trouve des colonies crémeuses à bord régulier ou irrégulier, sèche ou très muqueuse ; petites colonies sphérique crémeuse; colonies jaunâtre formant un tapis visqueuse ou non visqueuses et de petites colonies roses sphériques muqueuse, formant un tapis.

Les tests effectués sur les isolats montrent la présence d'une importante diversité microbiologique dans l'échantillon de Sétif (Maabouda), et que le genre *Bacillus* qui possèdent une très bonne activité protéasique selon (Hellio,1993) est le plus dominants par rapport au autres genres dans les isolats du sol, en revanche à la surface des algues, les genres *pseudomonas* et *stryptomycetes* sont plus dominants, on les retrouve à la surface de tout les échantillons, *Ulva lactuca*, *Enteromorpha intistinalis* et *Scytosiphon lomentaria*) contrairement au genre *Bacillus* qui n'est isolé qu'à partir de *Scytosiphon lomentaria*.

Les mini-galeries biochimiques classiques et les tests morphologiques ont permet d'affilier les isolats aux *Actinomycètes* (Gram+) et aux *Protobacteries* (Gram-).

Les résultats obtenus s'accordent avec ceux de la littérature (**Wiese, 2008 ; Brisou, 1980**). qui indiquent que : *Bacillus*, *Myxococcus*, *Azotobacter* et *Streptomyces* sont largement distribués dans la rhizosphère de plusieurs plantes. Quant au *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* et *Enterobacter* et les germes appartenant à la classe des Proteobacteries sont très répandues à la surface des algues.

## **Conclusion**

Malgré les grandes recherches, l'utilisation de micro-organismes du sol rhizosphérique où ceux immobilisés à la surface des macro-algues en Agriculture, reste insuffisante par rapport à l'utilisation des pesticides et des engrais chimiques.

Concernant notre étude, 9 échantillons du sol sont prélevés de différentes régions de la wilaya de Bejaïa (Barbacha, Smaoun, Sidi Ali lebher) et un de la wilaya de Sétif (Maabouda). Cinq autres échantillons sont collectés à partir des algues de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat). Ces échantillons ont fait l'objet d'un isolement de bactéries productrices des différentes enzymes hydrolytiques, lipases, estérases, chitinases, cellulases, amylases, et les protéases.

140 colonies différentes sont isolées à partir du sol et 54 à partir d'algues marines, la recherche d'activités enzymatique cellulase, chitinase, amylase, protéase, estérase, et lipase ont permis de sélectionner 32 isolats du sol et 12 isolats d'algues marines avec des pourcentages d'activités plus de 65%.

L'identification des bactéries productrices d'enzymes, sur mini-galerie ; coloration de Gram et observation à l'état frais, a permis d'affiler la majorité des isolats aux classes: *des Actinomycètes et Protéobactéries*.

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

- Tester la présence d'autres enzymes ; Uréase et Phosphatase ;
- Pousser l' identification biochimique et phylogénétique des isolats plus importantes ;
- Réaliser des Tests de stimulation de la croissance végétale ;
- Réaliser des tests d'antagonisme *in vitro* et *in vivo* avec des champignons ;
- Déterminer leurs modes d'action dans l'activité antifongique
- Extraction et identification des molécules impliquées dans la lutte biologique(les antibiotiques).



### A

**Aalten D.M., Synstad B., Brurberg M.B., Hough E., Riise B.W., Eijsink V.G. and Wierenga R.K. (2000).** Structure of a two-domain chitotriosidase from *Serratia marcescens* at 1.9-Å resolution, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**: 5842–5847.

**Adesemoye A.O. and Kloepper J.W. (2009).** Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl Microbiol Biotechnol* **85**:1–12.

**Alabouvette C., Olivain C. and Steinberg C. (2006).** Biological control of plant diseases. The European situation. *European Journal of Plant Pathology.* **114**:329–341.

**Allaire M. (2005).** Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. **90** : 4-12.

**Alamgir K., Williams K.L. and Nevalainen H.K.M. (2004).** Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control.* **31**: 346–352.

**Allison V.J. and Goldberg D.E. (2002).** Species-level versus community level patterns of mycorrhizal dependence on phosphorus: An example of Simpson's paradox. *Functional Ecology* **16**: 346-352.

**Antoun H. and Prévost D. (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *Z. A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization.* p 1–38.

**Arotupin d.J. and Ogunmalu F.E. (2012).** Screening of Fungal isolates from Nigerian Tar Sand Deposit in Ondo State for Novel Biocatalysts; *Jurnal of Biological Sciences.* **12(1)**:57-61.

### B

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

**Bach HJ. and Munch JC. (2000).** Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biol Fertil Soils* **31**: 219–224.

**Baco N.M., Jonas D. and Moutaharou A. (2003).** Gestion de la fertilité des sols dans le nord du Bénin et incidences économiques pour les exploitations agricoles . INRAB, CRA-Nord, BP 03, N'Dali, Bénin.

**Bailey M.J., Biely P. and Poutanen K. (1992).** Inter-laboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *J. Biotechnol.* **23**: 257-270

**Baligar V. C., Wrigh R. J.T. and Hern J. L. (2005).** Enzyme Activities in Soil Influenced by Levels of Applied Sulfur and Phosphorus. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **36**: 1727–1735.

**Barriuso J., Solano B. R., Lucas J. A., Lobo A. P., Villaraco A. G. and Mañero F. J. G. (2008).** Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). Plant-Bacteria Interactions. Strategies and Techniques to Promote Plant Growth: 1-18.

**Basharat A., Anjum N. S., Ljung K. and Hasnain S. (2008).** Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp. and their phytostimulatory effect on *Vigna radiate* (L.). *World J Microbiol Biotechnol.* **25**:519–526.

**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*, vol. **74(1)**: 19-27.

**Beverley H., Kjelleberg S.T. And Marshall K. C. (1982).** Responses of Marine Bacteria Under Starvation Conditions at a Solid-Water Interface. *Applied And Environmental Microbiology*, **45** (1): 43-47.

**Bhat M.K. and Bhat S. (1997).** Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnol Adv*, **15**: 583-620.

**Bhushan B. and Hoondal G.S. (1998).** Isolation, purification and properties of a thermostable chitinase from an alkalophilic *Bacillus* sp. *BG-11*. *Biotechnology Letters*, **20**:(2). 157–159.

**Boney, A.D. (1965).** A biology of marine algae. Hutchinson on Educational Ltd., London.

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

**Bruce A. C. (2005).** Enzyme activities as a component of soil biodiversity. Department of Forest Science, Oregon State University, 321 Richardson Hall, Corvallis, OR 97331-5752, USA.

**Brurberg M.B., Nes I.F. and Eijsink V.G. (1996).** Comparative studies of chitinases A and B from *Serratia marcescens*, *Microbiology* **142 (Pt 7)**: 1581–1589.

**Burns R.G. (1978).** Soil Enzymes. Academic Press, New York.

**Burns R.G. (1982).** Enzyme activity in soil - location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology & Biochemistry* **14**,423-427.

**Burns R.G., Dick RP. (2002).** Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Marcel Dekker, New York.

**Burns R.G. and Wallenstein M. (2010).** Microbial extracellular enzymes and natural and synthetic polymer degradation in soil: current research and future prospects .A School of Land, Crops and Food Sciences, The University of Queensland, Brisbane, Queensland 4072.

### C

**Caldwell B.A. (2005).** Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* **49**, 637- 644.

**Calwell RR. (2010).** Viable but non culturable Bactéria in the marine environment and the Biotechnological tools to detect them. *Biotechnology-IX*.

**Carder, 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.

**Carrim, A. J. I., Barbosa E.C. and Gonçalves V. J.D. (2006).** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology.* **49** : 353-359.

**Chet I. and Chernin L. (2002).** Biocontrol, microbial agents in soil. In: Bitton G \_ed.\_, Encyclopedia of Environmental Microbiology. John Willey and Sons Inc., New York, USA., pp 45–465.

**Cregut M. (2009).** Caractérisation de la communauté bactérienne impliquées dans la minéralisation du soufre organique dans les rhizosphère de colza et d'orge. Thèse de doctorat. Nancy University INPL. Ecole Doctorale RP2E.INRA.15 p.

### D

**Denis B. (2000).** Guide des analyses en pédologie, 2eme édition. 266P.

**Di'az-Zorita M. and Ferná'ndez-Canigiab V. (2008).** Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. *European journal of soil biology.*

**Downing K.J. and Thomson J.A. (2000).** Introduction of the *Serratia marcescens* chiA gene into an endophytic *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of phytopathogenic fungi, *Can. J. Microbiol.* **46**: 363–369.

### E

**Egan S., Thomas T. and Kjelleberg S. (2008).** Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities. *Current Opinion in Microbiology.* **11**: 219-225.

### F

**FAO. (2004).** Utilization des phosphates naturels pour une agriculture durable .

## Références Bibliographiques

---

**Ferderle M.J. and Bassler. (2003).** Interspecies communication in Bacteria. *Journal of clinical Microbiology*, **112**:1291-1299.

**Fickers .P ; Destain .J ; Thonart .P(2008)** Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications (*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **12**(2), 119-130.

**Fukumori F., Kudo T., and Horikoshi K. (1985).** Purification and properties of a cellulase from alkalophilic *Bacillus* sp. No.1139. *J. Gen. Microbiol*, **131**: 3339-3345.

### G

**Gómez-Cabrera.C ; Ortiz .J.C Loh.W.K.W; Ward.S (2008)** Acquisition of symbiotic dinoXagellates (*Symbiodinium*) by juveniles of the coral *Acropora longicyathus*. 27:219–226.

**Govindasamy V., Senthilkumar M., Bose P., Vithal K. L., Ramadoss D. and Annapurna K. (2011).** ACC deaminase Containing PGPR for potential exploitation in agriculture. D.K. Maheshwari (ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*. p.183-208.

**Guezennec. J ; Debitus. C (2005)** .Les ressources marines de la Polynésie française : applications en matière de biotechnologie (Substances naturelles en Polynésie française) P37 -48.

**Guiraud J. P. and Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.Edi Usine.Paris.239p.

**Guzmán M.N., Vargas V.A., Antezana H. and Svoboda M. (2008).** Lipolytic enzyme production by halophilic/halotolerant microorganisms isolated from laguna verde, bolivia. Centro de Biotecnología – UMSS, Cochabmamba - Bolivia; Laboratoire de Chimie Biologique – Université Libre de Bruxelles, Belgium. **25**(1).

### H

**Hallsworth, J. E., Yakimov, M. M. and Golyshin, P. N. (2007).** Limits of life in MgCl<sub>2</sub>-containing environments: chaotropicity defines the window. *Environ. Microbiol.* **9**: 801–813.

**Harman G. E. and Shores M. (2007).** The Mechanisms and Applications of Symbiotic Opportunistic Plant Symbionts.P.131-155. *In* Vurro M. and Gressel J. (eds.), *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*.

**Hellio F.C., Orange N. and Guespin-Michel J.F. (1993).** Growth temperature controls the production of a single extracellular protease by *Pseudomonas fluorescens* MFO, in the presence of various inducers. *Res. Microbiol.* **144**: 617-625.

**Henderson, G. P., Gan, L. and Jensen, G. J. (2007).** 3-D ultrastructure of *Ostreococcus tauri*: electron cryotomography of an entire eukaryotic cell. **2**(8): 749.

**Himmel, M.E., Ruth M.F. and C.E. Wyman. (1999).** Cellulase for commodity products from cellulosic biomass. *Curr. Opin. Biotechnol*, **10**: 358-364.

**Heritage J., Evans E. G. V. and Killington R. A. (1997).** The microbiology of soil and of nutrient cycling. *Microbiology in Action*.

**Howard R.L, Abotsi E, Jansen van Rensburg E.L. and Howard S. (2003).** Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. School of Molecular and Life Sciences, University of the North- South Africa .*African Journal of Biotechnology* **2** (12): pp. 602-619.

### I

**Idris H. A. and Labuschagne N. (2010).** Root colonization and growth enhancement in wheat and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses. *World J Microbiol Biotechnol*. **26**:1837–1846.

**Iglesias-Rodriguez, M. D., Halloran, P. R. and Rickaby, R. E. M. (2008a)** Phytoplankton calcification in a high-CO<sub>2</sub> world. *Science* **320**: 336–340.

**Iglesias-Rodriguez, M. D., Buitenhuis, E. T. and Raven, J. A. (2008b).** Response to comment on “Phytoplankton calcification in a high-CO<sub>2</sub> world”. *Science* **322**: 1466.

**Irma E.S.M., Villarreal-Gómez L. J., Rivas1 G.G. and Ayala Sánchez N.E..(2012).**Bioactive Compounds from Bacteria Associated to Marine Algae . *Biotechnology - Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life* Edited by Prof. Reda Sammour.**3**: 25-41.

### J

**Jha B., Gontia I. and Hartmann A. (2012).** The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential *Plant Soil*, **356**:265–277.

**Joachim H. J. R. Makoi1. and Ndakidemi Patrick A. 2008).** Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*. **7**: (3), pp. 181-191.

### K

**Karner, M. B., De Long, E. F. and Karl, D. M. (2001).** Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* **409**: 507–510.

**Kennedy A. C. (2005).** Rhizosphère. P. 242-262. In ylvia D.M S, J.J, Fuhmann, P. G. Hartel, and D. A.Zubber, (eds.), 2ème Principals and Applications of soil Microbiology. Pearson, Prentice Hall, New Jersey.diqui Z. A. (ed.), *PGPR : Biocontrol and Biofertilization*

**Kim K. Y., Jordan D. and Krishnan H. B. (1997).** *Rahnella aquatilis* , a bacterium isolated from soybean rhizosphere, can solubilise hydroxyapatite. *FEMS Microbiology letters*. **153**: 273-277.

**Kim .W. G., Weon H.Y., Seok, S.J and Lee K. H. (2008).** In Vitro Antagonistic Characteristics of *Bacilli* Isolates against *Trichoderma spp.* and Three Species of Mushrooms. *Mycobiology* **36(4)**: 266- 269.

**Kloepper J.W. ( 1993).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents in Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management. Metting, F.B. Jr. (ed.). Mercel Dekker, New York,pp 255-27.

**Kopečný J., Hodrová B. and Stewart C. S. (1996).** The isolation and characterization of a rumen chitinolytic bacterium. *Lett. Appl. Microbiol.* **23**: 195-198.

### L

**Lee, Y., Kim B., Lee B., Jo K., Lee N., Chung C. and Lee J. (2007).** Purification and characterization of cellulase produced by *Bacillus amyoliquefaciens* DL-3, utilizing rice hull Bioresour Technol, **98(2)**: 288-297.

**Lemanceau P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp* fluorescents . *Agronomie*.**12** :413-437.

**Lim J.H. Chang H. A., Kim Y. H., Jung B. K. and Kim S.D. (2012).** Isolation of Auxin- and 1-Aminocyclopropane -1- carboxylic Deaminase –producing bacterium and its effect on pepper growth under saline stress. *J Korean sol Appl Biol Chen*.**55**: 607-612.

**Lipp, J. S., Morono, Y., Inagaki, F. and Hinrichs, K. U. (2008).** Significant contribution of Archaea to extant biomass in marine subsurface sediments. *Nature* **454**: 991–994.

**Luis J. V-G., Irma E. S-M., Guerra-Rivas G. and Ayala-Sánchez N. E. (2010).** Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* , **45 (2)**: 267-275.

**Lynch. J. M. (1990).** The potential for genre exchange between rhizosphere bacteria .J. C. Fry et al. (ed). *Bacteria genetics in natural environments*. 172p

### M

**Mansour F. A., Aldesuquy H.S. and Hamedo H.A. (1994).** Studies on Plant Growth Regulators and Enzymes Production by Some Bacterie. *Qatar Univ.Sci. J*.**14 (2)**: 281-288.

**Marchal N., Bourdon J.L. and Richard C. (1982).** Les milieu de culture pour l'identification biochimique des bactéries. Paris : Doin.483p .

**Marschner P., Crowley D. and Yang C. H. (2004).** Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. *Plant and Soil* **261**: 199–208.

**Martin, W. and Embley, T. M. (2004).** Evolutionary biology: early evolution comes full circle. *Nature* **431**: 134–137.

**Martínez-Viveros<sup>1</sup> O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo G. and Mora M.L. (2010).** Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **10 (3)**: 293 – 319.

**Mathieu C. and Pieltain F. (2003).** Prélèvement et préparation des échantillons de terre, *In* Analyse chimique des sols « méthodes choisies » Edition TEC&DOC. p1-22.

**Mia M.A., Shamsuddin Z.H., Wahab Z. and Mahmood M. (2007).** Fixation associative de l'azote par *Azospirillum* et *Bacillus* spp. dans les bananiers. *InfoMusa* -**16**.

**Mirosław G., Bartosz A. (2007).** The ability of plants to secrete proteases by roots. Laboratory of Plant Morphogenesis, Department of Plant Cytology and Cytochemistry, Institute of Plant Physiology, Cytology and Cytogenetics, University of Łódź: 90-237.

**Morgan J. A. W., Bending G. D. and White P. J.(2005).** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.***56** : 1729-1739.

### N

**Nabti E. (2007).** Restauration de la croissance de *Azospirillum brasilense* et de Blé dur et leur osmoprotection par *Ulva lactucaen* Milieux Salés.thèse de Doctorat en Science Biologique. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.147p.

**Nannipieri P., Kandeler E. and Ruggiero P. (2002).** Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns RG, Dick R (eds) *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, New York, pp 1–33and A. Varma (eds.), *Soil Enzymology, Soil Biology* 22.

**Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M. T., Landi L., Pietramellara G., and Renella G. (2003).** Microbial diversity and soil functions. *Euro. J. Soil Sci.* **54**:655-670.

**Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M. T., Landi L., Pietramellaza G., Renella G. and Valori F. (2008).** Effects of Root Exudates in Microbial Diversity and Activity in Rhizosphère Soils. P.339-365, *In* Nautiyal C.S., P. Dion (eds.), *Molecular Mechanisms of Plants and Microbes Coexistence. Soil Biology*.

**Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., Renella G. (2011).** Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bunemann EK, Obreson A, Frossard E (eds) *Phosphorus in action*. Springer, Berlin, pp 215–243.

**Ningthoujam D. S., Kshetri P., Sanasam S and Nimaichand.S . (2009).** Screening, Identification of Best Producers and Optimization of Extracellular Proteases from Moderately Halophilic Alkalithermotolerant Indigenous Actinomycetes. *World Applied Sciences Journal* **7**: 907-916.

**Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M. and Thonart P. (2010).** Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **15**(2): 327-337.

**Norini M .P. (2007).** Ecodynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols à pollution mixte (HAP, métaux, avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : influence de la rhizosphère et de mycorhization . thèse de Doctorat en Géosciences .Université Henri Poincaré Nancy. p33.

### O

**Obi S. K. C. and Odibo F. J. C. (1984).** Partial Purification and Characterization of a Thermostable Actinomycete 3-Amylase. *Applied and Environmental Microbiology.* **47**: 571-575.

**Ordentlich A., Elad Y. And Cher I. (1988).**The role of chitinase of *Serratia marcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* .**78** (1): 84-88.

**Otajevwo F. D. and Aluyi H.S.A. (2011).** Cultural Conditions Necessary for Optimal Cellulase Yield by Cellulolytic Bacterial Organisms as They Relate to Residual Sugars Released in Broth Medium. *Modern Applied Science.* **5** (3):141-151.

### P

**Pace N. R. (2009).** It's time to retire the prokaryote. *Microbiol. Today* **36**: 85–87.

**Pal K. K. and Gardener B. M. (2006).** Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor* : 1-25.

**Pérez–Matos, A. E., Rosado, W. and Govind, N.S. (2007).** Bacterial diversity associated with the Caribbean *Tunicate Ecteinascidia turbinata*. *Antonie Van Leeuwenhoek.* **92**: 155-164.

**Perez, R. (1992).** La culture des algues marines dans le monde. Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer.

**Petit J. and Jobin P. (2005).** La fertilisation organique des cultures *Les bases*. Fédération d'agriculture biologique du Québec .

**Pleban S., Chernin L. and Chet I. (1997).** Chitinolytic activity of an endophytes ctraîne of *Bacillus cereus* . *Letters in Applied microbiology.***25**: 284-288.

### Q

**Quecine M. C., Araujo W. L., Marcon J., Gai C. S., Azevedo J. L. and Pizzirani-Kleiner A.A. (2008).** Chitinolytic activity of endophytic *Streptomyces* and potential for biocontrol. Original Article.

**Qureshi M. A., Ahmad Z. A., Akhtar. N., Iqbal A., Mujeeb F. and 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.

### R

**Ramos, J. B. E., Biswas, H., Schulz, K. G., LaRoche, J. and Riebesell, U . (2007).** Effect of rising atmospheric carbon dioxide on the marine nitrogen fixer *Trichodesmium*. *Global Biogeochem*.

**Riebesell, U., Schulz, K. G. and Bellerby, R. G. J. (2007).** Enhanced biological carbon consumption in a high CO<sub>2</sub> ocean. *Nature* **450**: 545–548.

**Rossum D. V., Muyotcha A., Verserveld V. W ., Stouthmer. A. H. and Boogerd F. C. (1994).** Siderophore production by *Bradyrhizobium spp.* Stains nodulating groundnut. *Plant and soil* **163**: 177-187.

### S

**Sharma, A.D., Thakur M., Rana M. and Singh K. (2004).** Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds. *Afr. J. Biotech.* **6**:308-312

**Sharma, R. C., Gupta N. K., Gupta S. and Hasegawa H. (2005).** Effect of NaCl salinity on photosynthetic rate, transpiration rate, and oxidative stress tolerance in contrasting wheat genotype. *Photosynt.* **43**:609-613.

**Scherr S.J. and Yadav S. (1997).** Degradation des sols dans le monde en  
Developpement : questions et options decisionnelles pour 2020 .

**Schwarz W.H. (2001).** The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**: 634-649.

**Steven D. A., Michael N. W., Tracy B. G. and Mark P. W. (2011).** Evolutionary-Economic Principles as Regulators of Soil Enzyme Production and Ecosystem Function .G. Shukla and A. Varma (eds.), *Soil Enzymology, Soil Biology* 22.

**Schut Frits ., Egbert J. De Vries. and Gotitschal A. C. (1993).** Isolation of Typical Marine Bacteria by Dilution Culture: Growth, Maintenance, and Characteristics of Isolates under Laboratory Conditions. *Applied and environmental microbiology*, **59** (7): 2150-2160.

**Siddique A., Ahmed S. and Hameed A. ( 2001).** Production of Thermostable Protease by *Streptomyces thermoviolaceus*. *Pak. J. Bot.*33

**Siddiqui Z. A. (2005).** PGPR: Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. P.111-142. In Siddiqui Z. A. (ed.), PGPR: biocontrôle and Biofertilization.

**Sinsabaugh R.L., Reynolds, H. and Long T.M. (2000).** Rapid assay for amidohydrolase (urease) activity in environmental samples. *Soil Biology & Biochemistry* **32**:2095-2097.

**Sridhar S. and Rengasamy, R. (2011).** Potential of seaweed liquid fertilizers (slfs) on some agricultural crop with special reference to protein profile of seedlings. Department of Botany, Govt. Arts College , Tamil Nadu, India. *International Journal of Development Research . 1* (7): 055-057.

**Suneetha V., Karthick R and Prathusha. K. (2011).** Isolation and identification of *Streptomyces* ST1 and ST2 strains from Tsunami affected soils: Morphological and biochemical studies. *Journal of Oceanography and Marine Science.* **2**(4): 96-101.

### T

**Tabli N. (2012).** Recherche de bactéries stimulatrices de la croissance de la tomate et leur application dans la lutte biologique. These de Magistere en Microbiologie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

**Trejo-Estrada S. R., Paszczynski A. and Crawford D. L. (1998).** Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent *Streptomyces violaceusniger* YCED-9. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.* **21**: 81–90.

### U

**Udawatta R. P., Robert K. J., Garrett H. E. and Anderson S. H. (2009).** Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems . *Agriculture, Ecosystems and Environment* .**131**: 98–104.

### V

**Vaaje-Kolstad G., Horn S.J., van Aalten D.M., Synstad B. and Eijsink V.G. (2005).** The noncatalytic chitin-binding protein CBP21 from *Serratia marcescens* is essential for chitin degradation.

**Veiga M., Esparis A., and Fabregas. J. (1983).** Isolation of Cellulolytic Actinomycetes from Marine Sediments. *Applied and Environment Almicrobiology.* **46** : 286-287.

**Vega N. and Walter O. (2007).** A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* **60** (1):3621-3643.

**Vessey J. Kevin. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* **255**: 571–586.

**Vidyalakshmi R., Paranthaman R. and Indhumathi. J. (2009).** Amylase Production on Submerged Fermentation by *Bacillus spp.* *World Journal of Chemistry* **4** (1): 89-91.

**Vinoth R. S., Kanikkai R. A., Babu V. A., Manoj G. T., Naman H. S., Johnson A. J., Infant S.B. and 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**(1): 008–013.

### W

**Watanabe T., Kobori K., Miyashita K., Fujii T., Sakai H., Uchida M. and Tanaka H. (1993).** Identification of glutamic acid 204 and aspartic acid 200 in chitinase A1 of *Bacillus circulans* WL-12 as essential residues for chitinase activity.

**Webster, N.S. and Bourne, D. (2007).** Bacterial community structure associated with the Antarctic soft coral, *Alcyonium antarcticum*. *FEMS Microbiology Ecology.* **59**: 81-94.

**Weyens N., Monchy S., Vangronsveld J., Taghari. and Lelie D. V. (2010).** Plant- Microbe Partnerships (ed.), Hand booh of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. p. 547-257.

**Wittenwiler M. (2007).** Mechanisms of Iron Mobilization by Siderophores. p3.

---

## Annexes

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

#### GNO

Peptone .....	5g
Extrait de levure .....	2g
Extrait de viande .....	1g
Na Cl .....	5g
pH.....	7,5g
Agar.....	18g

#### Bouillon PBS

Nacl.....	18g
Kcl.....	0,2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1,44g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,24g
pH.....	7

#### Milieu Zobell

Agar.....	15g
Tryptone.....	5g
Extrait de levure.....	1g
Eau de mer artificielle.....	750ml
Eau ultra pure .....	qsp 1L
pH.....	7

#### Eau de mer artificielle

Nacl.....	30g
Kcl.....	7g
Mgcl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O.....	10,8g

MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O..... .5,4g  
 CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O.....1g  
 L'eau distillée.....1000m

**Annexe II. Résultats des différents tests appliqués sur les souches isolés à partir du sol et d'algues.**

**a. Isolats du sol**

Souche	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
P1	+++	-	+	+	-	-
P2	-	++	+	++	-	-
P3	-	++	-	++	-	-
P4	-	++	-	++	-	-
P5	-	++	+	+	-	-
P6	-	-	-	+	-	-
P7	-	++	-	-	-	+
P8	-	+	+	+	++	-
P9	-	++	++	-	+	-
P10	-	+++	-	-	+	+
P11	-	+++	-	-	+	+
P12	-	+++	-	-	+	+
P13	-	+	-	-	+	-
P14	++	-	+	++	+++	-
P15	+++	++	-	-	-	+
P16	++	+++	++	-	-	
P17	-	+++	-	++	-	
P18	++	++	+++	-	+	
P19	-	++	++	-	++	+
P20	-	-	+	++	+++	+
P21	-	++	-	+	-	-
P22	++	-	++	-	+	-
P23	++	-	+++	-	+	-
P24	++	++	+	-	-	-
P25						
P26	++++	+++	+	++++	+	-
P27	-	+++	-	+	+	-
P28	-	++	+	+	++	-
P29	-	++	-	++	+	+
P30	-	+	++	-	-	+
P31	-	++	+	+	+	+
P32	-	+++	+	-	++	-
P33	++	+++	+/-	-	+++	++
P34	+++	+	+/-	-	-	+
P35	++	++	+/-	++	+	+
P36	++	++	+++	+	++	-
P37	++	++	-	-	-	+

P38		-		++	+	+++
P39	++	++	+	++	++	+
P40	-	++	+/-	++	-	++
P41	-	+	-	++	+	+
P42	++	++	-	++	+	+
P43	++	+	++	+		-
P44	+	+	-	-	+	+
P45	+	++	-	-	+	+
P46	-	++	++	+	+/-	+
P47	+	+	-	-	+/-	+++
P48	+	++	+++	+	+/-	+
P49	-	+	-	-	+/-	++
P50	+	++	++++	+	+	+
P51	-	+	+	-	-	++++
P52	-	++++	-	+	+	+
P53	+++	+++	+++	-	++	++
P54	-	+++	-	+	-	++
P55	-	+++	+	+	+	++
P56	++	++	+	-	+/-	+++
P57	-	-	++	-	+/-	+++
P58	-	+	+++	++		-
P59	++	-	+	++	+	++
P60	-	-	++	++	+	+++
P61	++	++		++	+	-
P62	++	++		++	+	-
P63	+++	++		+	++	-
P64	++	+	+	+++	+	++
P65	-	+	-	+	++	+
P66				+	++	
P67	++	++	+	++	+	+++
P68	++	+++	++	+	-	+++
P69	++	+++	++	+	++	+++
P70		+	+	+		+
P77	-	++	+	+/-	+	++
P78	++	+	+	+/-	-	+++
P79	-	+	+	+/-	+	+++
P80	-	-	-	+	-	+++
P81	-	-	++		+/-	+++
P82	-	+	++	-	+/-	+++
P83	-	+	+	-	+/-	+++
P84	-	+	+	-	+/-	+++
P85	++	++	+++	-	+	++
P86	++	++	+++	-	+	++
P87	+++	+++	++++	+	+	++
P88	++	++	+	+	+	++
P89	-	+++	++	+	+	+
P90	-	++	+++	+	-	+
P91	-	-	+	+++	+++	+

P92	-	+	+/-	-	+	-
P93	-		+/-	-	+/-	-
P94	++	-	-	-	+/-	+
P95	++	++	++		+/-	++
P96					+/-	
P97	-	+	-	+	+/-	-
P98	++	-	++	+	+/-	+++
P99	-	+++	-	+	++	-
P100	-	+++	-	+	-	+
P101	-	-	+++	-	-	+
P102	-	+++	-	-	-	+++
P103	++	++	+++	++	-	+
P104	-	-	-	+	+	++
P105	-	++	+	+	-	-
P106	-	-	+++	+	+/-	-
P107	-	-	-	+	+/-	+
P108	+-	+/-	+/-	+	-	++
P109	-	-	+++	+	+/-	+++
P110	-	-	+++	+	+/-	++
P111	-		-	-	-	+
P112	-	++	-	++	-	+++
P113	-	++	+	++	-	+++
P114		+++	-	+	+	+++
P115	+++	++	+	+		
P118	-	++	+	+	+	-
P119	+	++	+	+		-
P120	++	++	+	+	-	-
P121	-	+	+	-	+	-
P122	-	+++	-	-	+	-
P123	-	++	-	+	+	+
P124	-	+++	-	-	-	++
P125	-	+	+	-		-
P126	-	++	++	+	-	-
P127				++		
P128	-	-	++	+	+	-
P129	++	+	-	+	-	++
P130	-	+	-		-	+
P131		+++		+	-	++
P132	-	+++	+	-		-
P133	-	-	-	-	+	-
P134	-	+++	-	+	-	++
P135	++	++	++	-	+	-
P136	-	++	++	+	+	-
P137	-	++	+	+	++	-
P138	+++	-	-	+++	-	
P139				++	-	
P140	++	+	+	-	-	-

a. Isolats d'algues marines :

Souche	Cellulase	Lipase	Estérase	Protéase	Chitinase	Amylase
S1	++	+	-	++	-	-
S2	+++	+	-	-	-	-
S3	-	-	++	++	-	-
S4	-	++	-	+++	-	-
S5	-	-	+	+	-	-
S6	+++	++	++	++	+++	+++
S7	-	-	+	++	-	+
S8	-	++	-	+	-	-
S9	-	-	+++	-	-	+++
S10	-	++	++	-	-	-
S11	-	+++	++++	-	+	+
S12	++	+	-	-	+	+
S13	+++	++	-	++	+++	+++
S14	-	++	+	++	+	-
S15	-	++	-	+++	-	-
S16	-	++	-	+	-	-
S17	-	++	+++	-	-	-
S18	++	++	-	+++	+	+++
S19	-	++	-	+	++	-
S20	-	++	-	+	-	-
S21	-	+	-	-	-	-
S22	+		+	-	-	-
S23	-	++++	+	++	++	++
S24	+	++	+	++++	-	-
S25	-	++	+	-	-	+
S26	++++	++	-		-	+++
S27	-	++	-		-	-
S28	+++	++	-	+	-	-
S29	-	-	-	+	-	-
S30	-	+	+	++	-	-
S31	-	++	+	++	-	-
S32	++	++	+	-	+	+++
S33	-	++	-	++	+	+++
S34	+++	+	-	+	-	-
S35	-	++	+	+	+	+++
S36	+++	+++	+	+	+++	+++
S37	-	+++	-	-	+	+++
S38	-	+	-	+++	-	-
S39	+	+	+	-	-	-
S40	-	-	-	-	+	-
S41	+++	+	+	-	+	-
S42	-	++	-	++	-	-
S43	-		+	-	-	-

---

---

<b>S44</b>	-		+		-	-
<b>S45</b>	-		-	+++	-	-
<b>S46</b>	-		-	-	+	-
<b>S47</b>	-		+	++	-	+++
<b>S48</b>	-		-	+	+	-
<b>S49</b>	-		-	+	+	+++
<b>S50</b>			-	-	-	-
<b>S51</b>		+++	+++	-	-	
<b>S52</b>		+	+	-	-	
<b>S53</b>		+	+	-	-	
<b>S54</b>		+	-	-	-	

### **Résumé :**

9 échantillons du sol de différentes régions de la wilaya de Bejaïa (Barbacha, Smaoun, Sidi Ali lebher), un site de la wilaya de Sétif (Maabouda) et cinq échantillons d'algues de la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat) sont prélevés dans des conditions stériles. 194 colonies différentes sont isolées et purifiées : 140 à partir du sol et 54 à partir d'algues marines. La recherche de l'activités enzymatique : cellulase, chitinase, amylase, protéase, estérase, et lipase ont permis de sélectionner 32 isolats du sol et 12 isolats d'algues marines ,la majorité de ces isolats présentent des pourcentages plus de 65% . L'identification des isolats obtenus, sur mini-galerie biochimique, a permis de les affilier aux classes : des *Actinomycètes* et *Protéobactéries*.

**Mots clés :** Rhizosphère ; algues ; bactéries ; enzymes ; intérêt agricole.

### **Abstract :**

9 samples soil from different parts of the province of Bejaia (Barbacha, Smaoun, Sidi Ali lebher), and another one from the wilaya of Sétif (Maabouda), then 5 samples from algae in the west coast of the province of Bejaia (Boulimat) are collected under sterile conditions. 194 colonies are isolated and purified: 140 from the soil and 54 from marine algae. The presence of enzymatic activities: cellulase, chitinase, amylase, protease, esterase and lipase were used to screen 32 isolates of soil and 12 isolates of seaweed with a percentage up to 65% . The identification of these isolates on biochemical mini-gallery allowed joining them to the classes : *Actinomycetes* and *Protéobactéria*.

**Keywords:** Rhizosphere, seaweed, bacteria, enzymes, agricultural interest