

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie



MEMOIRE

Présenté par
ABDESSELAM Newal
LATACHE Nour el houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En biologie
Option microbiologie

Thème

**IDENTIFICATIONS ET CARACTÉRISATIONS DES
BACTÉRIES ISOLEES A PARTIR DE DIFFERENTS
SOLS**

Soutenu le 11/07/2017, devant le jury composé de :

Présidente	Mme BOUBLEZA L.	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme MALEK F.	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme BENSALAH F.	M.C.B	Université de Tlemcen

Année universitaire 2016-2017

Dédicaces

A mes chers parents pour leur soutien, leur aide, et leur sacrifice et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude et tout mon amour.

A mes frères Fathi et Boubaķer et ma sœur Fatima pour leurs conseils.

A toute ma famille et à toutes mes amies.

A toute la promotion « Microbiologie 2016-2017 ».

A tous ceux dont l'amitié sincère mes agréeble

Nour El houda

Dédicaces

Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux. Louange à dieu qui m'a aidé durant des années, éclairé et ouvert les portes du savoir.

C'est avec une profonde émotion que je dédie ce mémoire :

A mes chers parents et mes beau parents à qui je dois tant et qui n'ont pas cessé de me témoigner affection, pour leurs amour, soutient, et leurs encouragement, en espérant les rendre fières.

A mes cher frère Boumedyene, Moustapha et à mes sœurs Fatima Zohra, Meryem et Hadjer pour leurs conseils et orientations.

Et à mon marie.

Newal

Remerciements

Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail.

Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

*Un remerciement spécial pour notre encadreur **Mme MALEK Fadila** maitre de conférence A à la Faculté de SNV / STU (Université de Tlemcen), qui nous a beaucoup aidé et retenue la longue de la rédaction de ce mémoire et qui nous a orienté avec ses conseils et surtout merci pour sa patience. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, soyez rassuré de notre profonde gratitude et notre respectueuse considération vos qualités scientifiques et humaines resteront à jamais pour nous l'exemple.*

*On remercie chaleureusement **Mme BOUBLENZA Lamia** maitre de conférences au département de biologie, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. On la remercie pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.*

*Nos sincères remerciements vont également à **Mme BENSALAH Fatima** Maitre assistante B au département de Biologie à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre entière reconnaissance.*

Je ne pourrai qu'exprimer un infini remerciement plein de gratitude, à tous les membres du laboratoire qui ont participé à la réalisation de ce travail. J'exprime ma profonde reconnaissance qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

On remercie également de tous nos cœurs tous les enseignants qui ont contribué à notre apprentissage depuis notre jeune âge à ce jour, et on leur adresse nos sentiments respectueusement reconnaissant pour tout le savoir qu'ils nous ont prodigués.

Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Encore une fois de plus merci.

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur la rhizosphère	3
1.1.Étymologie	3
1.2. Définition	3
1.3. Activité de la rhizosphère.....	4
1.4. La microflore rhizosphérique	4
1.5. Les bactéries rhizosphérique ou rhizobacteries.....	5
2. Rhizobacteries stimulatrices de la croissance végétale	6
2.1. Effet directe des PGPR sur la plante	8
2.1.1. Acquisition des ressources	8
2.1.1.1. Fixation d'azote.....	8
2.1.1.2. Solubilisation du phosphate	8
2.1.1.3. Solubilisation du potassium	9
2.1.1.4. Production des sidérophores.....	9
2.1.1.5. Production des phytohormones	10
2.1.2. Acide Indole Acétique (IAA).....	10
2.1.2.1. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) de aminase.....	11
2.1.2.2. Production des cytokynes.....	12
2.2. Effet indirect des PGPR sur les plantes.....	12
2.2.1. Production des antibiotiques	12
2.2.2. Induction d'un système de résistance.....	13
2.2.2.1. Effet phytoprotectrice Sidérophores.....	14
3. Formation des biofilm par les PGPR.....	14

Matériel et méthode

1. Echantillonnage.....	17
2. Déterminant du pH du sol	18
3. Isolement des bactéries du sol.....	18

3.1. Préparation des dilutions	18
3.2. Mise en culture	18
4. Conservation des souches.....	18
5. Identification des souches	18
5.1. Caractères culture et morphologique.....	18
5.1.1. Aspect des colonies	18
5.1.2. Technique de Coloration de gram	19
5.2. Caractère biochimique.....	19
5.2.1. Test catalase	19
5.2.2. Test oxydase.....	19
5.2.3. Etude de la mobilité.....	20
5.2.4. Identification par galerie Api Staph	20
5.2.5. Test de température	20
6. Etude de la propriété PGP de la souche isolée	21
6.1. Formation des biofilm dans les microplaques de titration	21
6.2. La production de souche inhibitrice (Antagonisme)	22

Résultats et discussion

1. Le pH du sol	24
2. Résultats de l'identification des souches.....	24
2.2. Identification des souches	27
2.2.1. Identification phénotypique des souches isolées.....	27
3. Résultats de l'identification le système Api	30
3. Déterminant du potentiel PGP des souches	32
3.1. Evaluation de la formation de biofilm.....	32
3.2. Antagonisme.....	36
Conclusion.....	38
Référence bibliographique	39

Annexe

Résumé

List des Abréviations

μL	:	Microlitre
AC	:	Cristal violet
ACC	:	1-Aminocyclopropane-1-carboxylate
C°	:	Degré Celsius
CV	:	Acide Acétique
Fe³⁺	:	Fer ferrique
g	:	Gramme
IAA	:	Acide indole-acétique
K	:	Potassium
mm	:	Millimètre
N₂	:	Nitrogène
PGPR	:	Plant Growth Promoting Rhizobacteria.
pH	:	Potentiel d'Hydrogène

Liste des figures

Figure 1 : Représentant la rhizosphère.....	3
Figure2 : la structure de la rhizospher.....	5
Figure3 : Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère.....	6
Figure4 : Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate.....	10
Figure5 : Le processus du développement de biofilm.....	16
Figure6 : Zone d'échantillonnage à partir du sol désertique.....	17
Figure7 : Zone d'échantillonnage à partir du sol cultivé.....	17
Figure8 : Test de température.....	20
Figure9 : Schémas représentant le protocole de formation des biofilms par la méthode ..	22
Figure10 : Aspects des colonies du sol désertique et du sol cultivé sur milieu gélosé.....	27
Figure11 : Galerie Api staph des souches désertique et cultivé.....	32
Figure12 : Formation des biofilm dans la microplaque de titration.....	32
Figure13 : Formation de biofilm par des différentes souches du sol désertique à 30° C...	33
Figure14 : Formation de biofilm par des différentes souches du sol désertique à 45° C...	34
Figure15 : Formation de biofilm par des différentes souches à 30°C.....	35
Figure 16 : Formation de biofilm par des différentes souches à 45 °C.....	35
Figure17 : Résultats de biofilms après la coloration avec le cristal violet.....	36
Figure18 : Résultats de l'activité inhibitrice de la souche I ₂	36

Liste des tableaux

Tableau 1 : Substance favorisant la croissance libéré par PGPR.....	7
Tableau 2 : Les souches à tester.....	23
Tableau 3 : Le pH de l'échantillon du sol.....	24
Tableau 4 : La caractérisation des souches isolée du sol désertique est basée sur les critères morphologiques	25
Tableau 5 : La caractérisation des souches isolée du sol cultivé est basée sur les critères morphologiques	26
Tableau 6 : Identification phénotypique des souches isolées du sol désertique	29
Tableau 7 : Identification phénotypique des souches isolées du sol cultivé.....	28
Tableau 8 : Les résultats de l'identification des staphylocoques et des microcoques par la galerie API staph	31

Introduction

Introduction :

Le sol est un réservoir important de microorganisme, il renferme une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels pour l'écosystème tellurique et les organismes pluricellulaires qui y vivent. Parmi les organismes supérieurs du sol, les plantes bénéficient des effets directs et/ou indirects des microorganismes en particulier ceux de la flore rhizosphérique. Celle-ci comprend, d'une part, les mycètes filamenteux qui exercent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes via des relations symbiotiques étroites: les mycorhizes. D'autre part, une flore bactérienne rhizosphérique hétérogène influence favorablement la croissance des plantes, et connue sous l'acronyme PGPR : plant growth promoting rhizobacteria, ou rhizobactéries stimulatrices de la croissance des plantes. En effet, les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes. Ces bactéries sont capables de faciliter la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (**Munees et Mulugeta, 2014**), ou indirecte par production des antibiotiques ou par induction de système de résistance et production des sidérophores phytoprotectrices (**kirdi billal, 2011**).

Dans ce travail, nous sommes intéressées à la flore rhizosphérique bactérienne de deux types de sol. Les propriétés PGP retenues dans le cadre de cette étude, concernent le potentiel d'adhésion et de formation de biofilm ainsi que l'antagonisme. La formation de biofilm concerne le pouvoir de colonisation du système racinaire par les bactéries et est considérée comme une propriété essentielle étant donné que la multiplication des cellules bactériennes au niveau des racines est nécessaire à l'expression de toute activité stimulatrice de la croissance des plantes. Les biofilms sont des communautés microbiennes uni ou multi adhérentes aux surfaces biotiques ou abiotiques et / ou en contact intime l'une avec l'autre, enfermées dans une matrice auto-produite de substances polymères extracellulaires (EPS). Les biofilms rhizosphériques sont des biofilms positifs par opposition aux biofilms négatifs qui sont à l'origine des problèmes de contaminations microbiennes. La production de biofilm par PGPR reflète leur pouvoir de colonisation du système racinaire et est considéré comme une activité PGP importante (**Prescott et al., 2003**).

L'activité PGP qui concerne l'antagonisme améliore les défenses de la plante contre les parasites et permet également sa protection par l'intermédiaire de la

production de substances inhibitrices. Les PGPR sont très intéressantes pour l'application, en agriculture, comme Biofertilisants et biopesticides et en phytoremédiation (**Berg, 2009**). La mise au point des formulations des PGPR est très importante afin d'augmenter leur efficacité d'utilisation (**Zahir *et al.*, 2004**). Le bio contrôle est une alternative importante à l'utilisation des pesticides et un moyen efficace pour la lutte contre les ravageurs des cultures, les phytopatogènes et les plantes adventices (**Peshin et Dhawan, 2009**).

Nous allons réaliser dans cette recherche:

- l'isolement de bactéries à partir de deux types de sol :
 - Un sol semi-aride cultivé
 - Un sol aride caractérisé par un couvert
- Identifications des souches rhizobactériennes
- Détermination du biotype par système API
- Caractérisation des souches isolées par rapport à deux activités PGP
 - Formation de biofilm
 - Production des souches inhibitrice (antagonisme)

*Synthèse
bibliographique*

1. Généralité sur la rhizosphère :

1.1. Étymologie :

Le mot rhizosphère a été introduit en 1904 par **Lorenz Hiltner (Anton et al., 2008)**, bactériologiste spécialiste de microbiologie du sol et professeur d'agronomie au collège Technique de Munich. (**Lombi et al., 2001**). « Rhizo » vient du grec rhiza signifiant racine. « Sphère » vient du latin sphaera (même sens), mot provenant lui-même du grec ancien sfaira (signifiant balle, ballon, ou globe). La sphère définit le champ d'influence du système racinaire. En raison du volume qu'elle occupe, par rapport au volume de la plante, la rhizosphère est aussi appelée la « moitié cachée » (the hidden half en anglais) (**Bowen et Roriva, 1991**).

1.2. Définition :

La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes et soumise à leur influence directe. C'est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral. Qui peut être affecté par le tassement du sol, un ennoiement durable, sa salinisation, son eutrophisation ou la pollution, ou encore par des phénomènes d'aridification. Aussi elle est la région d'activité microbienne intense (**Anoua et al., 1997**).

Elle joue un rôle important dans la résistance des sols à l'érosion, au gel, aux incendies, aux inondations, etc. De même pour la résilience de ces sols et des plantes cultivées (Les enjeux sont donc également agronomiques) (**Krafczyket al., 1984**).



Figure 1 : Représentant la rhizosphère

Filearchide.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom_f3ce1.pg

1.3. Activité de la rhizosphère :

La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines (**Mench, 1985**). Ces exsudats favorisent le développement de la microflore pathogène ou non. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter (**Schroth et Hildenbrand, 1964**). De même, la densité des bactéries est plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines : il s'agit de «l'effet rhizosphère» (**Foster et Rovira, 1978**). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les sidérophores, antibiotiques, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (**Lemanceau, 1992**).

Une flore bactérienne diversifiée, connue sous l'abréviation PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), rhizobactérie promotrice de la croissance des plantes est bénéfique à la croissance et à la santé des plantes. On en distingue deux grands groupes : les PGPR phytostimulatrices et les PGPR phytoprotectrices (**Malek, 2015**)

1.4. La microflore rhizosphérique :

Le sol n'est pas simplement le support dans lequel les plantes s'enracinent et puisent les éléments nutritifs indispensables à leur développement. Le sol est un réservoir important de micro-organismes (champignons et bactéries), en termes de diversité et de densité. (**symbiotech.com**)

La microflore du sol est complexe et varie. Elle comprend la bactérie, les champignons, les protozoaires et des virus. La distribution des micro-organismes du sol est hétérogène et dépend des facteurs nutritionnels et des facteurs physico-chimiques de sorte que les densités, bien que les plus importantes, ce qui compte au niveau de la rhizosphère (**Prescott et al., 2003**).

En effet, un gramme de sol végétalisé contient environ 1 milliard de bactéries réparties en 5 à 25000 espèces dont la plupart ne sont pas encore connues, ni même cultivables en laboratoire (**symbiotech.com**)

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. On estime qu'un gramme de sol peut contenir jusqu'à 10^9 bactéries par examen microscopique direct tout au plus un facteur (1/100 peut être isolé par la technique de culture

on parle à VNC) (Malek, 2015). Si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés (Dommergues et Mangenot, 1970). Les actinomycètes constituent l'ordre des actinomycètes. Ce sont des bactéries filamenteuses, septées, ramifiées, (Larpen et al., 1989).

Les mycètes sont également présents dans le sol. En effet, extra racinaire tous les sols contiennent une microflore abondante. La biomasse fongique est sans doute très variable suivant les cas peut atteindre entre 120 Kg/ha et plus d'une tonne, dans les sols normaux (Dommergues et Mangenot, 1970). Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols. De nombreux travaux indiquent la prédominance de : Mucor, Trichoderma et Aspergillus (Noumeur, 2008).

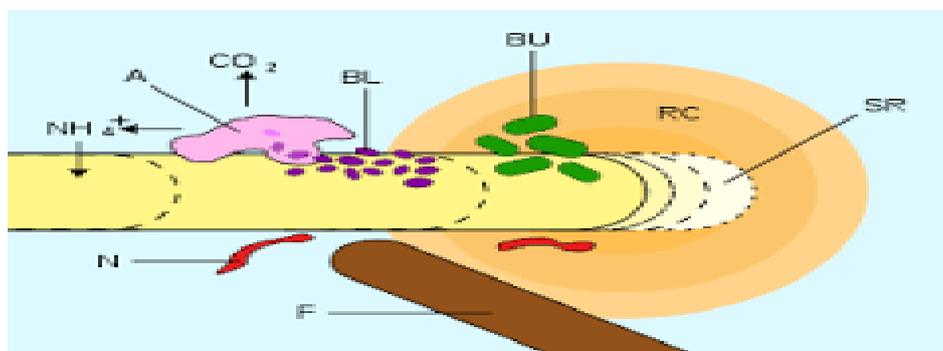


Figure2 : La structure de la rhizosphère

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/37/Rhizosphere.svg/1200pxRhizosphere.svg.png>

A=Amibe digérant une bactérie BL= Bactérie à énergie limitée BU= Bactérie à énergie non limitée RC=Racine SR=Poils absorbants racinaires F=Mycélium d'un champignon N=Ver nématode

1.5. Les bactéries rhizosphériques ou rhizobactéries :

Les rhizobactéries sont des bactéries qui présentent l'aptitude à coloniser les racines de façon intense (Schroth et Hancock, 1981, 1982). Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp fluorescents* (Lemanceau, 1992).

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol racine. En effet, le rhizo plan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant (Curl, 1982). Ces échanges sont réciproques.

2. Rhizobactéries stimulatrices de la croissance végétale :

Plusieurs interactions, bénéfiques (symbioses) ou non, voire délétères (pathogénie) sont observées entre plantes, bactéries et champignons du sol fleuriront l'activité biologique de ce sol. Parmi les interactions bénéfiques aux plantes, on peut citer les symbioses fixatrices d'azote, les associations avec les bactéries promotrices de croissance (PGPR) ou de santé, ou les interactions avec les champignons mycorrhizogènes. (Elaine, 2015). Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes, de manière directe ou indirecte (**figure 3**). Ces bactéries sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Haas et Defago, 2005).

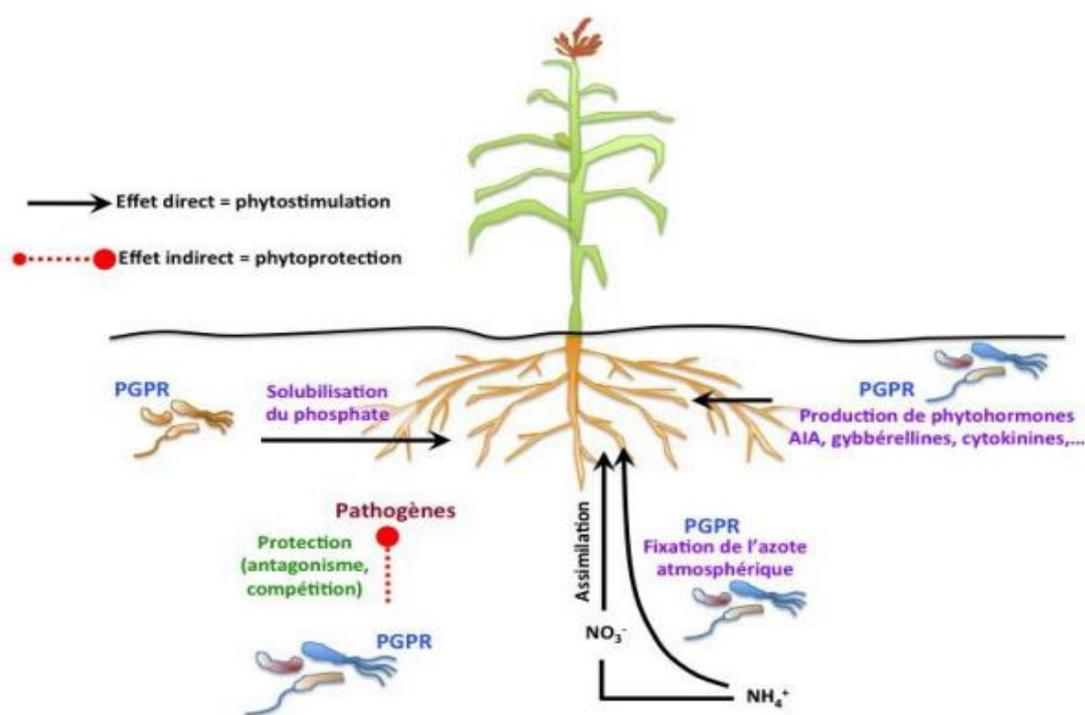


Figure 3: Interactions entre plantes et bactéries coopératives dans la rhizosphère

(Khan et al., 2009)

Tableau 1: Substance favorisant la croissance libéré par PGPR (Munees et Mulugeta ,2013)

PGPR	Traits de promotion de la croissance des plant
<i>Pseudomonas putida</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Klebsiella</i> sp ; <i>Enterobacter asburiae</i>	IAA, siderophores, HCN, ammoniacque, exopolysaccharides, solubilization du phosphate
<i>Psychrobacter</i> sp. SRS8, <i>Bradyrhizobium</i> sp. 750, <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Ochrobactrum</i> <i>mcytisi</i>	Mobilisation des métaux lourds
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	activité du Nitrogenase, solubilization du phosphate, IAA, ACC deaminase
<i>Pseudomonas</i> sp.	solubilization du Phosphate, IAA, siderophore, HCN, potential de biocontrol
<i>Burkholderia</i> <i>Pseudomonas</i> sp.	ACC deaminase, IAA, siderophore, solubilisation des métaux lourds, solubilization du phosphate
<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>	solubilization du Phosphate, IAA et siderophores
<i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Azotobacter</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp.	IAA, production de l'ammoniacque
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Activité antifongique

2.1. Effet directe des PGPR sur la plante :

Les bactéries PGPR facilitent la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormone végétales (Munees et Mulugeta, 2014)

2.1.1. Acquisition des ressources :

2.1.1.1. Fixation d'azote :

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78% de N₂ dans l'atmosphère, il est indisponible pour les plantes en croissance. Le N₂ atmosphérique est converti en formes utilisables par la plante par la fixation biologique de N₂ par les bactéries en utilisant un système enzymatique complexe appelé nitrogénase (Kim et Rees, 1994). Les bactéries fixatrices de l'azote ont la capacité de récupérer l'azote atmosphérique et de le fournir aux plantes par deux mécanismes: symbiotiques et non symbiotiques. La fixation d'azote symbiotique est une relation mutualiste entre une bactérie et la plante. La bactérie entre d'abord dans la racine et plus tard sur les nodules de forme dans lesquels se produit la fixation de l'azote. La rhizobie est un vaste groupe de rhizobactéries qui ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racines dans le végétale, dans le quelle l'azote est fixé à L'ammoniaque et le rendre disponible pour l'hôte (Munees et Mulugeta, 2014)

2.1.1.2.Solubilisation du phosphate

Le phosphore et le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, il est largement disponible dans le sol sous deux forme organique et inorganique (khan et al., 2009).Il joue un rôle pratiquement important dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration(Khan et al., 2010). Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles: les ions monobasique (H₂PO₄) et basique (HPO₄²⁻) (Govind et al., 2015). La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Ces microorganismes bénéficient directement du P bio disponible nécessaire pour leur croissance. De même,

d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures. Notons que ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, chélatent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (Salma, 2015)

2.1.1.3.Solubilisation du potassium

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate (Parmar et Sindhu, 2013). En outre, en raison de l'application déséquilibrée des engrais, la carence en potassium devient l'une des principales contraintes dans la production végétale. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles. (Kumar et Dubey, 2012) On a signalé que les microorganismes des sols jouaient un rôle clé dans le cycle K naturel et, par conséquent, les microorganismes solubilisants de potassium présents dans le sol pourraient fournir une technologie alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers et al., 1998)

2.1.1.4.Production des sidérophores :

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Neilands, 1995). Ces oligoéléments qui ont une forte compétition certaines bactéries sont capables de séquestrer le fer du milieu environnant par une molécule appelée sidérophore. Ces sidérophores se lient avec l'ion ferrique et forment un complexe sidérophore-ferrique qui se lie ensuite avec des récepteurs dépendants de la suspension de fer à la surface de la cellule bactérienne. L'ion ferrique est ensuite relâché et actif dans le cytoplasme comme ion ferreux. Beaucoup de plantes peuvent utiliser divers sidérophores bactériens comme sources de fer, beaucoup de bactéries productrices de sidérophores appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* de la rhizosphère (Kuffner et al., 2008). Le sidérophore le plus connu est l'aérobactine (figure 4), isolée pour la première fois de *Aerobacteraerogenes* (Gibson et Magrath, 1969).

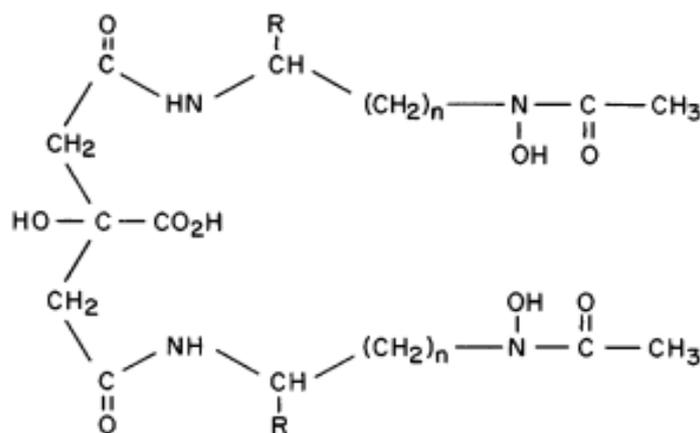


Figure4 : Structure générale des siderophores citrate-hydroxamate

(Gibson et Magrath, 1969).

Pour l'aerobactine, R 5 COOH et n 5 4. L'aérobactine, un second siderophore provenant de bactéries entériques, peut être codée sur des plasmides ou sur le chromosome.

2.1.1.5. Production des phytohormones :

Une large gamme de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des substances qui régulent la croissance et le développement des plantes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2013)

2.1.2. Acide Indole Acétique (IAA):

Les plantes ont développé des systèmes élaborés pour réguler les niveaux cellulaires de l'IAA (Normanly et Bartel, 1999). L'IAA représente l'une des hormones végétales les plus importantes, ce qui renforce de nombreux aspects de la croissance et du développement des plantes tout au long du cycle cellulaire de la plante, de la division cellulaire, de l'allongement cellulaire et de la différenciation (Guilfoyle et al., 1998). Généralement, IAA affecte la division, l'extension et la différenciation des cellules végétales; Stimule la germination des semences et des tubercules; Augmente le taux de développement du xylème et des racines; Contrôle les processus de croissance végétative; Initie la formation de racines latérales et accidentelles; Médiatise les réponses à la lumière, à la gravité et à la fluorescence; Affecte la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance

à des conditions stressantes. En outre, l'IAA bactériennes augmentant la surface et la longueur de la racine et fournit ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol. En outre, l'IAA rhizobactéri le dégage les parois cellulaires de la plante et, en conséquence, facilite une augmentation de l'exsudation des racines qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries rhizosphériques (**Glick, 2012**). Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes. Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en imitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines. Il favorise la survie des bactéries dans la rhizosphère. Les poids des tiges et des racines des plantes de blé sont influencés positivement par l'ajout de l'AIA (**Cherif, 2014**)

2.1.2.1.1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase:

L'ACC est le précurseur direct de l'éthylène. La biosynthèse de l'éthylène se fait par les plantes à partir de la méthionine. La première étape est la synthèse de la S-adenosyl-méthionine, suivie de sa conversion en 1 acide aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC). L'ACC oxydase, anciennement connue sous le nom d'enzyme formant l'éthylène (EFE), a d'abord été caractérisé par une pomme (**Adams et Yang, 1979**). L'éthylène est une phytohormone clé qui a une large gamme d'activités biologiques peut affecter la croissance et le développement des plantes dans un grand nombre de façons différentes, y compris la promotion de l'initiation des racines, l'inhibition de l'allongement des racines, la promotion de la maturation des fruits, la promotion du flétrissement inférieur, la stimulation de la germination des graines, la promotion de l'abscission des feuilles, Activation de la synthèse d'autres hormones végétales (**Glick et al., 2007**) L'éthylène gazeux produit de manière endogène par les plantes a plusieurs effets sur leur développement et agit comme molécule secondaire de signal dans l'induction des défenses de la plante. L'éthylène est impliqué dans beaucoup de processus physiologiques, comme la germination de la graine, la différenciation de tissus, la formation et l'élongation de la racine, le développement latéral des bourgeons, le fleurissement, l'ouverture de la fleur, la sénescence d'organe, la maturation de fruit et l'abscission de la feuille et du fruit. A des concentrations élevées, l'éthylène affecte négativement de nombreuses étapes physiologiques des plantes. Une augmentation de la production d'éthylène agissant comme hormone sensitive stimule la maturation des fruits et le vieillissement des fleurs. (**Cherif, 2014**)

2.1.2.2. Production des cytokines :

Plusieurs plantes stimulant la croissance des bactéries telle que *Azotobacter sp*, *Rhizobium sp*, *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* et *Paenibacillus polymyxa* peuvent produire des cytokines ou des gibbérellines ou les deux pour la promotion de la croissance des plantes (Kang, 2010). Certaines souches de bactéries phytopathogènes peuvent également synthétiser des cytokines. Cependant, il semble que les PGPR produisent des niveaux inférieurs de cytokines par rapport aux phytopathogènes, de sorte que l'effet des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sur la croissance des plantes est stimulant tandis que l'effet des cytokinines des agents pathogènes est inhibiteur (Glick et al., 2007).

2.2. Effet indirect des PGPR sur les plantes :

2.2.1. Productions des antibiotiques :

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de biocontrôle les plus puissants et les plus étudiés chez les PGPR. (Shilev, 2013) exemple d'antibiotiques produits par PGPR : l'acide phénazine-1-carboxylique l'oomycineA, les rhamnolipides (Fernando et al., 2005)

✓ l'acide phénazine-1-carboxylique a été secrété par *Pseudomonas fluorescens* 2-79 Souche, *Pseudomonas fluorescens* 2-79, synthétise l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA), un antibiotique pigmenté qui inhibe *G. graminis* var. *Tritici* et d'autres agents pathogènes racémiques in vitro à moins de (1 g / ml), Les mutants de 2-79 défectueux dans la production de PCA (Phz-) ne parviennent pas à inhiber *G. graminis* var. *Tritici* et sont considérablement réduits dans leur capacité à supprimer le take-all, tandis que les mutants génétiquement restaurés pour la production de PCA (Phz +) regroupent de manière coordonnée l'activité antifongique in vitro et sur le blé. Ces résultats suggèrent fortement que le contrôle de prise en charge par la souche 2-79 est dû en grande partie à la production de PCA dans la rhizosphère de blé. Les efforts visant à définir le rôle des antibiotiques dans le contrôle biologique ont toujours été entravés par le manque de preuves directes que les antibiotiques sont présents dans les sols naturels dans lesquels la suppression de la maladie peut se produire. Les contraintes physiques et biologiques à la production, l'activité et la détection des antibiotiques dans le sol ont été revues, dont la plus fondamentale est probablement l'insuffisance nutritionnelle. Les sols modifiés avec des nutriments organiques ou traités pour augmenter la

disponibilité des nutriments supportent souvent la production d'antibiotiques (**linda et al., 1990**)

✓ L'oomycineA : ce dernier est responsable de l'aptitude de *pseudomonasa* réduire 70% l'infection de la racine par *pythium cotton* et de sa capacité à augmenter de 50% l'émergence des graines de cootton (**Shilev ,2013**)

✓ Les rhamnolipides : *Pseudomonas aeruginosa* produit et sécrète des bio-tensioactifs glycolipides contenant du Rhamnose appelés Rhamnolipides. La production de Rhamnolipides dépend des voies métaboliques centrales, telles que la synthèse des acides gras et les sucres activés par le dTDP, ainsi que sur les enzymes participant à la production de l'alginate d'exopolysaccharide. La synthèse de ces tensioactifs est régulée par un système de régulation génétique très complexe qui contrôle également différents traits associés à la virulence de *P. aeruginosa*. Les Rhamnolipides ont plusieurs applications industrielles et environnementales potentielles, y compris la production de produits chimiques fins, la caractérisation des surfaces et des revêtements de surface, comme additifs pour l'assainissement environnemental et comme agent de contrôle biologique (**Maier et Soberón-Chávez ,2000**).

Ces antibiotiques sont connus pour posséder des activités antivirales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes, cytotoxiques, antitumorales et agissant également sur la croissance de plantes (**Fernando et al., 2005 et Kim, 2012**).

2.2.2. Induction d'un système de résistance :

PGPR peut déclencher chez la plante un phénomène connue sous le nom d'induction de la résistance systémique qui est phénotypiquement similaire à la résistance systémique acquise qui se produit lorsque la plante active ses mécanismes de défense en réponse à une infection par un agent pathogène (**corné et al., 2009**). Les plantes inoculé avec des PGPR peuvent également fournir une résistance systémique contre un large éventail de pathogènes végétaux. Les maladies d'origine fongique, bactérienne et virale et, dans certains cas, même les dommages causés par les insectes et les nématodes peuvent être réduits après l'application de PGPR (**Naznin et al, 2012**) il conférer à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire (**cherif ,2014**)

2.2.2.1. Effet phytoprotectrice Sidérophores :

Les PGPR, notamment du genre *Pseudomonas*, sont connues pour leur faculté de produire des sidérophores dans le milieu. Ce sont des substances chélatrices du fer, avec une grande affinité au fer ferrique (Fe^{3+}). Elles améliorent sa disponibilité à leur profit en cas de carence du sol et rendent difficile son assimilation aux autres populations microbiennes déficientes en cet élément. Ce phénomène est un aspect de compétition qui participe efficacement à l'antagonisme contre les agents phytopathogènes en réduisant leurs effectifs dans le sol. En outre, la plante peut facilement assimiler les complexes de sidérophores et ainsi promouvoir sa croissance. Les sidérophores peuvent fixer aussi d'autres métaux dans le sol tels que le magnésium, le manganèse et le chromium. D'après d'autres études, les PGPR peuvent extraire le fer des sidérophores formés par d'autres microorganismes (**kirdi, 2011**).

3. Formation des biofilm par les PGPR :

Parmi les communautés microbiennes du sol associées aux plantes, les bactéries bénéficiaires de colonisation des racines (rhizobactéries), connues sous le nom de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (**Lugtenberg et Kamilova, 2009**). Ils sont connus comme des groupes prédominants qui exercent des 'effets bénéfiques dans l'amélioration de la croissance des plantes. Ceci y compris par leur différentes activités solubilisation du phosphate, production des antibiotiques ...etc. (**Zehnder et al, 2001**). Les biofilms sont des communautés microbiennes uni ou multi adhérentes aux surfaces biotiques ou abiotiques et / ou en contact intime l'une avec l'autre, enfermées dans une matrice auto-produite de substances polymères extracellulaires (EPS). Des biofilms moins complexes avec un nombre inférieur de cellules sont décrits de manière variable comme des microcolonies, des agrégats ou des grappes de cellules (**Ramey et al, 2004**). La production de biofilm par PGPR reflète leur pouvoir de colonisation du système racinaire et est considéré comme une activité PGPR importante (**Prescott, 2003**). Les cellules bactériennes peuvent présenter deux modes de croissance générale: soit en tant que cellules planctoniques, soit comme une communauté en surface appelées biofilms. Les biofilms sont définis comme des colonies denses de cellules uniques ou multi-espèces de cellules microbiennes adhérant soit à une surface biotique ou abiotique encadrée dans une matrice auto-produite composée de substances polymères extracellulaires (**Davey et al., 2000**). Plusieurs étapes sont impliquées dans la formation du biofilm, par réponse à des indices environnementaux la présence des nutriments les cellules planctoniques se déplacent vers une surface appropriée et se fixe premièrement à une surface selon leur

fimbria et/ou pili par une faible force de Van Der Waals ou liaison hydrogène pour rendre la fixation réversible par le temps l'attachement devient essentiellement irréversible, par la suite d'une accumulation d'interactions faibles et un changement dans l'expression des gènes, c'est-à-dire que lorsque les cellules bactériennes commencent à sécréter EPS. Lorsque de nombreuses cellules bactériennes ont été regroupées dans ce pré-biofilm en croissance en raison de la division cellulaire bactérienne et d'autres microbes se joignant, développent des micro colonnes qui conduisent finalement à la formation de macro colonies (biofilms matures). Enfin, lorsque le biofilm est assez grand, les cellules bactériennes commencent à se détacher du biofilm, ces cellules bactériennes reprenant leur mode de croissance planctonique ou créant leur propre biofilm (Emily, 2015).

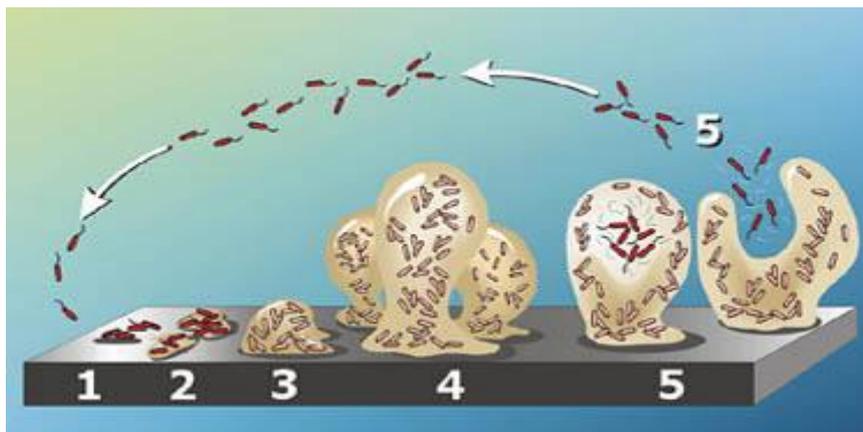


Figure 5 : Le processus du développement de biofilm.

Les étapes du développement de biofilm:

1. adhésion Initial réversible.
2. Attachement Irréversible.
3. Formation des Micro colonie.
4. Formation des Macro colonie.
5. Détachement.

***MATERIEL ET
METHODES***

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de la faculté SNV/STU de l'Université Abou-Bekr Bel kaid-Tlemcen. Il porte sur la caractérisation de la flore bactérienne d'un sol aride dans la région d'Adrar.

1. Echantillonnage :

La partie du sol analysé dans la région du sol d'Adrar est caractérisés par une faible couvert végétale pendant le mois de Décembre 2016 (**Figure6**).Le deuxième sol analysé comporte un sol fruitier (abricot et figuier) et un sol a couvert naturel (l'épinard et la mauve sauvage) dans la région de Tlemcen la technique de prélèvement consiste à enfoncer une spatule stérile dans le sol a une profondeur de 10 à 20 cm à proximité des racines végétal les prélèvements sont placée dans des boites de pétri stérile étiquetés et conservé a l'obscurité jusqu'à l'analyse durant la période du mois de février 2017. (**Figure7**)



Figure 6 : Zone d'échantillonnage à partir du sol désertique .



Figure 7 : Zone d'échantillonnage à partir du sol cultivé

2. Déterminant du pH du sol :

20g de terre séchée de chaque échantillon de sol ont été homogénéisés avec 50ml d'eau distillée .Ce mélange doit être agité 2min au moyen de l'agitateur magnétique. On utilise un pH-mètre ou l'électrode a été insérée directement dans chaque échantillon (**Institut de Génie Rural, 1973**).

3. Isolement des bactéries du sol :**3.1. Préparation des dilutions :**

A l'aide d'une micropipette de 1000µL une série de dilution (10^{-1} a 10^{-7}) a été préparée pour chaque échantillon en prélevant 1g du sol et le plaçant dans 9ml d'eau physiologique dans un tube à essai stérile pour obtenir une dilution de 10^{-1} puis de chaque dilution la même opération est répété jusqu'à obtention de la dilution 10^{-7} .

3.2. Mise en culture :

Ensemencé en surface, 100 µL ont été prélevés puis étalés sur les milieux TSA et gélose nutritive. Les boites de pétri portante les indications nécessaires (dilution, type du milieu de culture, origine de souches, la date) ont été incubées à 30°C ou 55°C pendant 48-72 heures.

4. Conservation des souches :

La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches en tube sur gélose inclinée (**Botton et al., 1990**), puis incubé 24h et après elles sont stockées à 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les possibilités de variations.

5. Identification des souches :**5.1. Caractères cultureux et morphologique :****5.1.1. Aspect des colonies :**

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et la température de l'incubation.

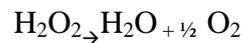
Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

5.1.2. Technique de Coloration de gram :

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de cristal; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95% , pendant 15 à 30 secondes puis est rincé à l'eau distillée. Ensuite le frottis est coloré par la fushine pendant 10 à 30 secondes et après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2007**).

5.2. Caractère biochimique :**5.2.1. Test catalase :**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygéné qui se dégage.



Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène : le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles : le test catalase est négatif (**Delarras, 2007**).

5.2.2. Test oxydase :

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes.

Déposer ,sur une lame porte-objet propre , une goutte d'eau physiologique stérile puis faire une suspension épaisse de bactéries à partir d'une culture jeune sur gélose puis ajouter un disque *Ox*.

Une coloration violet foncé apparait immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase +.

5.2.3. Etude de la mobilité :

L'étude de la mobilité a été réalisée au milieu Mannitol-mobilité. Ce milieu permet l'étude de la dégradation du mannitol qui est un produit de dégradation du mannose. La culture et ensemencer par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit. Incuber 24 h à T° optimale.

5.2.4. Identification par galerie Api Staph :

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

- Préparation de l'inoculum

- A l'aide d'une pipete prélever une colonie de 24h bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne dans 6 ml d'ampoules d'API Staph Medium stérile puis homogénéiser la suspension vortex.

-Inoculation et lecture de la galerie

La galerie est inoculée et lue selon le guide API staph.

5.2.5. Test de température

Les cultures de 10 souches différentes ont été incubées aux températures suivants 25°C, 30°C, 45°C, 55°C sur milieu TSA et GN (**Figure8**).



Figure 8 : Test de température.

6. Etudes des propriétés PGP des souches isolées :

Les propriétés PGP analysés dans cette étude sont :

- le potentiel de formation de biofilm.
- la production de substance inhibitrice (Antagonisme).

6.1. Formation des biofilms dans les microplaques de titration :

La technique de microplaque de titration à 96 puits selon (**Auger et al., 2009**) est utilisée pour étudier la capacité des souches isolée à former le biofilm.

-Technique

En place dans les puits des microplaques de titration en polystyrène stérile, 100µl du BN et 50µl de la suspension bactérienne préparée dans le BN.

La première rangée est laissé vider pour le contrôle du lecteur et le deuxième est rempli par le milieu non ensemencé comme un témoin.

Chacune des plaques est incubée à deux températures spécifiques des souches sélectionnées : 30°C, 45°C Pendant 24h.

-Coloration des biofilm au cristal violet

Après le temps d'incubation, les biofilms formés sur les parois des puits sont mis en évidence par coloration au cristal violet.

- Les microplaques sont d'abord vidées par la micropipette.
- Rinçage à l'eau distillé trois fois pour éliminer les cellules non adhérees.
- Laisser sécher 10 à 15 min.
- Remplir les puits avec 200µl de cristal violet 1%
- Laisser agir 15 min puis rincer à l'EDS 3 fois.
- Séchage des plaques en position renversé.

-Lecture

Première observation se fait à l'œil nu est consisté à observer la présence à l'absorbance de couleur sur les puits et le fond des puits. Puis la lecture consiste à solubiliser les biofilm colorés et à mesurer leur DO.

Mais avant la mesure de la DO au spectrophotomètre munis d'un lecteur de microplaque à 630 nm, les puits sont remplis avec une solution dissolvante constitué d'éthanol et d'acide acétique glacial dilué dans du l'eau distillé. Le protocole de formation des biofilm par la méthode microplaques de titration 96 puits est présenté dans la (**figure 9**).

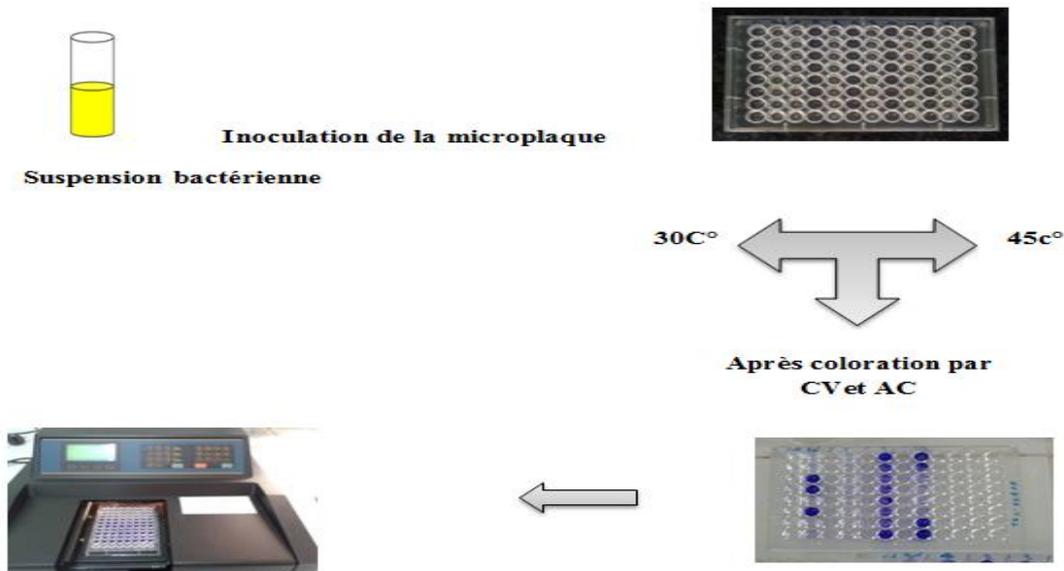


Figure 9:schémas représentant le protocole de formation des biofilms par la méthode de microplaques de titration 96 puits.

6.2. La production de souche inhibitrice (Antagonisme) :

-Test d'antagonisme de la gélose mole

Le test d'antagonisme a été réalisé par la méthode de Flemming en 1985 de la gélose molle. Durant l'isolement 3 souches ont produit des zones claires sur le milieu TSA d'autres bactéries sur milieu GN inhibant la croissance d'autres bactéries.

Ces souches sont codées comme suit et sont utilisées comme des souches inhibitrices de la croissance des souches à tester (**Tableau 2**)

- 1- E8 /GN/30 C° / 10⁻³
- 2- figue /GN/30C° /10⁻⁴
- 3- E10 /GN/ 30C° /10⁻³

Tableau 2 : les souches de référence.

Microorganismes	Code	Origine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	MNHN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IBMC Strasbourg	MNHN
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	MNHN
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	LAPSAB M.RAHMOUN N.

-Test d'antagonisme de la gélose molle (Fleming et al., 1985)

On prépare des prés cultures de 5ml sur bouillon nutritif des différentes souches inhibitrices et des souches à tester

Les 3 souches inhibitricesensemencées par des spots de 50µl sur Muller-Hinton puis incubées à 30°C pendant 24h

Dans des tubes stériles contenant 10µl de gélose molle en surfusion on ajoute 10µl de culture bactérienne et on coule à la surface de la boîte puis on incube à 30°C et à 48°C pour les souches thermophiles

Résultats et discussion

1. Le pH du sol :

Les résultats des mesures de pH effectuée sur les échantillons du sol désertique et du sol cultivé sont résumés dans le (Tableau 3). Dans le cas du sol désertique, les valeurs de pH varient entre 6 et 7.60 ce qui indique que ces sols sont neutres à faible acide, tandis que les sols cultivés semblent avoir un caractère neutre à faiblement alcalins avec des valeurs de pH variant entre 7 et 8.30.

Tableau 3 : La détermination du pH des sols analysés

Le sol	Echantillon	pH
le sol du désert	E10	7,60
	E8	6
	E6	6,5
	E4	7
le sol cultivé	SF	8
	SM	7.6
	SA	6.1
	SE	8.3

SF : sol planté de figue

SA : sol planté de abricot

SM : sol planté de mauve sauvage

SE : sol planté d'épinard

Le pH est un facteur physicochimique important dans la caractérisation des sols. En fonction du pH, les sols sont classés en sol acide, neutre ou alcalin. Les sol cultivés sont généralement caractérisés par des pH neutre, faiblement acide ou faiblement alcalin, avec des valeurs qui varient entre 4 et 9. La plupart des sols de jardin sont neutres, c'est-à-dire aux environs de pH 7 (Anonyme, 2014). Des sols sahariens non cultivés ont un pH alcalin $7,5 < \text{pH} < 8,5$ (Berkal, 2006)

Le pH est également un facteur qui influe sur la nature et la distribution des microorganismes du sol.

1. Résultats de l'identification des souches :

L'analyse des échantillons du sol du désert et du sol cultivé a permis d'obtenir respectivement 70 et 60 isolats sur milieux TSA et GN à 30°C et 55°C.

L'identification des souches isolées a porté sur l'étude des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les caractères cultureux et la morphologie cellulaire des isolats sont présentés dans le **tableau 4,5** et la **figure 10**.

Tableau 4 : La caractérisation des souches isolée du sol désertique est basée sur les critères morphologiques

Souche	Taille (mm)	Forme	Elévation	Consistance	Couleur
E4G31, E6T3, E4G32, E4T3	envahissante	Irrégulier	Plate	Sèche	Blanchâtre et Miel
E10T3	4mm	Régulier	demi bombé	Lisse et Visqueuse	Miel
E8T5, E8G33, E6T52	envahissante	Irrégulier	Plat	Visqueuse, Liss et rugueuse	Miel et Blanchâtre
E8G31	4mm Zone d'inhibition =1mm	Régulier	Plat	Visqueuse, Liss, Inhibitrice	Blanchâtre
E6T51	1,5mm	Régulier	demi-bombé	Visqueuse, Liss	Miel

E4G3 : Echantillon 4/GN/10⁻³/Colonne1

E4G32 : Echantillon 4/GN/10⁻³/Colonne2

E4T3 : Echantillon 8/TSA/10⁻³

E10T3 : Echantillon 10/TSA/10⁻³

E8G31 : Echantillon 8/GN/10⁻³/Colonne1

E6T51 : Echantillon 6/TSA/10⁻⁵/Colonne1

E6T3 : Echantillon 6/TSA/10⁻³

E6T52 : Echantillon 6/TSA/10⁻⁵/Colonne2

E8G33 : Echantillon 8/GN/10⁻³/Colonne3

E8T5 : Echantillon 8/TSA/10⁻⁵

Tableau 5 : La caractérisation des souches isolées du sol cultivé est basée sur les critères morphologiques

Souche	Taille (mm)	Forme	Élévation	Consistance	Couleur
FS1	5mm	régulier	Plat	Sèche	Blanc
F S2	1.5mm	régulier	Plat Inhibitrice (zone 0.5mm)	Sèche	Blanc
F S3	9mm	Régulier	Plat	Sèche	Blanc gris claires
A S5	Envahissante	irrégulier	Plat, sporulant	Sèche	Miel
E S9	Envahissante	irrégulier	Bombé	visqueuse lisse	Miel
E S8 , S6, MS S4 , S7	Envahissante	irrégulier	Plat	Sèche	Miel
MS S10	Envahissante	irrégulier	Rugueuse	Sèche	Jaune claire

FS1 : Figue souche 1
 A S5 : Abricot souche 5
 FS2 : Figue souche 2
 S6 : Epinard souche 6
 FS3 : Figue souche 3

MS S7 : La mauve sauvage souche 7
 MS S4 : La mauve sauvage souche 4
 MS S10: La mauve sauvage souche 10E
 E S9 : Epinard souche 9
 E S8 : Epinard souche 8

Les aspects des colonies sur les milieux TSA et GN varient entre les souches isolées. Le type de colonies dominant est caractérisé par des aspects lisses réguliers et crémeux (figure 10 A et D). Des colonies sèches, rugueuses, irrégulières et envahissantes sont également présentes dans la (figure 10 B et E) des colonies envahissantes entourées d'un halo clair, probablement une zone d'inhibition ont été trouvées chez deux souches isolées du sol désertique et une souche du sol cultivé (figure 10 C et F)

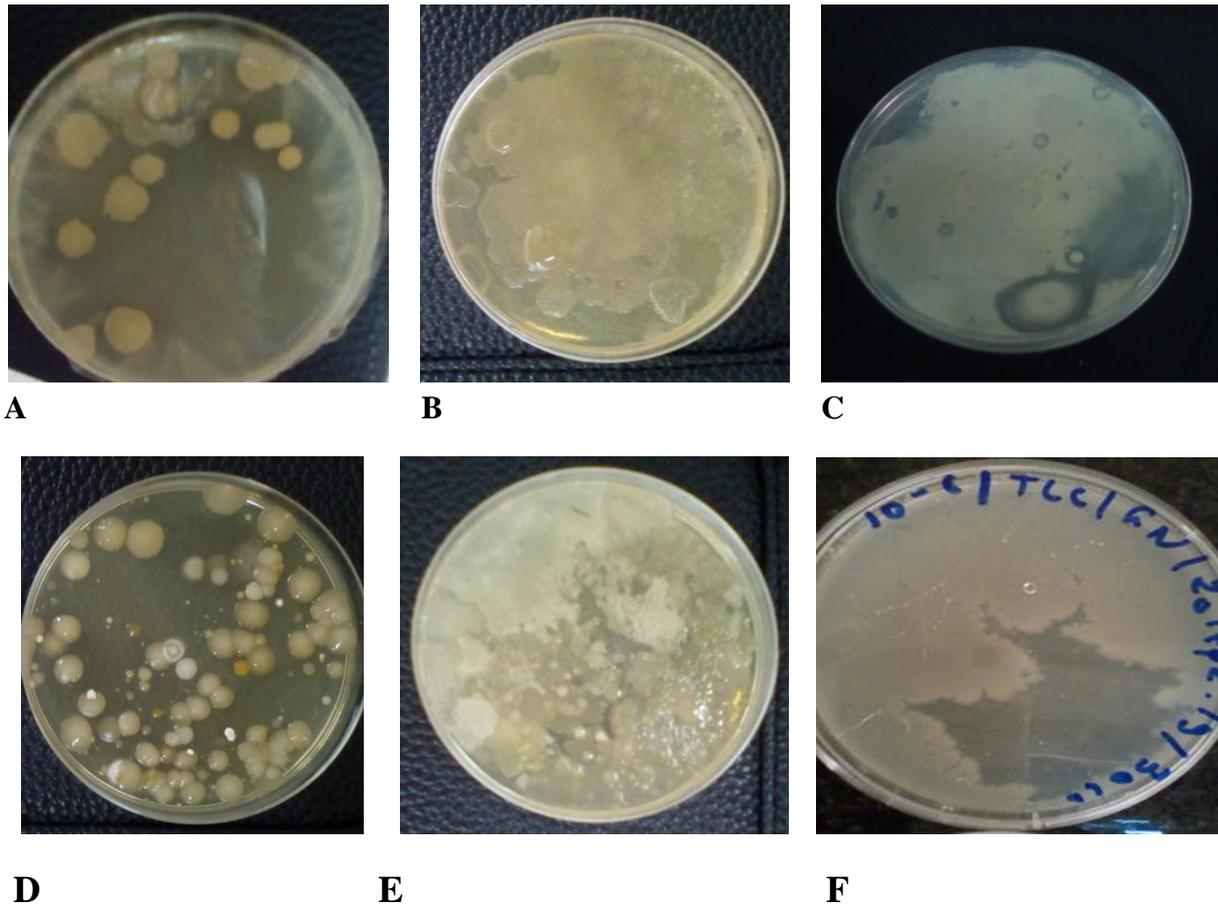


Figure10 : Aspects des colonies du sol désertique et du sol cultivé au milieu gélosé.

2.2. Identification des souches :

2.2.1. Identification phénotypique des souches isolées

D'après les tableaux 6 et 7, les souches isolées des deux types de sol se répartissent en bacilles Gram positif et négatif et coques à Gram positif, aérobie à aéroanaérobie facultatifs. Par ailleurs toutes les souches identifiées sont oxydase + mais certaines sont catalase + alors que d'autres sont catalase négatives. Ces caractères d'identification ont permis l'orientation vers les genres *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ; Ainsi que vers les familles des *vibrionaceae*, selon les tableaux d'identification publiés dans les sites web (liste des références bibliographiques).

Tableau 7 : Identification phénotypique des souches isolées du sol cultivé.

Souche	Gram	Morphologie cellulaire	Mannitol mobilité	Cat	OX	Genre
F S1 et F S2	+	Bacille	AS /Mobile /Mannitol ⁺	+	+	<i>Listeria</i>
F S3	+	Bacille	AAF /Mobile /Mannitol ⁺	+	+	<i>Listeria</i>
A S5	+	Bacille	AAF /Mobile/Mannitol ⁺	+	-	<i>Bacillus</i>
E S9	+	Cocci en chaînette	AAF /immobile /Mannitol ⁺	+	+	<i>Staphylococcus Haemolyticus</i>
E S8, MS S4	-	Bacille	AAF /mobile /Mannitol ⁺	+	-	<i>Vibrionaceae</i>
E S6	+	Bacille	AS / Mobile /Mannitol ⁺	+	-	<i>Bacillus</i>
MS S10	+	Bacille	AAF /immobile/ Mannitol ⁻	-	-	<i>Erysipelothrix</i>
MS S7	+	Cocci	AS/immobile/Mannitol ⁺	+	+	<i>Staphylococcus Xylosus</i>

Tableau6 : identification phénotypique des souches isolées du sol désertique.

Souche	Gram	Morphologie cellulaire	Mannitol mobilité	Cat	OX	Genre
E4G31, E4G32	+	Coque	AAF /Mannitol ⁺ /Mobile	+	+	<i>Staphylococcus</i>
E6T3, E8T5, E4T3, E6T52	-	Bacille	AAF/Mann itol ⁺ /Mobil e	+	+	<i>Pseudomonas</i>
E10T3	-	Bacille	AAF/Mann itol ⁻ /Immobile	+	+	<i>Vibrionaceae</i>
E8G31, E6T51	+	Bacille	AAF/Mann itol ⁺ /Mobil e	+	+	<i>Listeria</i>
E8G33	-	Bacille	AS/Mannit ol ⁺ /Mobile	+	+	<i>Pseudomonas</i> et apparentés

- *Staphylococcus xylosus* est une bactérie à Gram positif, en forme de coque, non mobiles, sont à catalase positive et aéro-anaérobies facultatives (Emilie, 2007). Elle caractérisé par un grand potentiel de biofilm.
- c'est deux espèce de *Staphylococcus Haemolyticus* cocci à Gram positive, anaérobies Facultative, Catalase positive, immobile il forme un biofilm, staphilococcus (Yannick et al., 2013) (Stella, 2006)
- Listéria petit bacille, Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile. Aéro-anaérobie facultatif, catalase positive. Leur effet PGPR se traduit par induction de système de résistance, et elle peut former un biofilm (Stefan et al., 2006)
- Bacillus gros bacilles Gram positif, catalase positif, Aérobie stricte ou Aéroanaérobie, certain sont mobiles et autres sont immobiles. Leur effet PGP est caractérisé par la production acide indole acétique et production d'ammoniaque (Josef et al., 2007), et solubilisation de phosphate (Canbolat et al., 2006),et siderophores, activité antifongique (Dey et al., 2004)
- *Vibrionaceae* sont des bacilles, Gram-négatif, mobiles, anaérobies facultatifs (Christophe, 1998) caractérisé par une activité anti fongique (Kannahi et Dhivya.)
- *Erysipelothrix* bacille gram positif, immobile, aéro- anaerobie facultatif, oxydase catalase

- *Campylobacter* bacille à gram négatif, mobile, catalase+, oxydase +, microaérophile (Anonyme, 2012)
- *Pseudomonas* production acide idole acétique (Joseph et al., 2007), production d'amoniaque, l'activité antifongique, sidérophore, solubilisation de phosphate (Rajkumar et al., 2006).

2.2.2. Résultats de l'identification par le système Api Staph :

Les résultats de l'identification par galerie API Staph sont présentés dans le tableau 8 et le figure 11. D'après ces résultats, on constate qu'un grand nombre de caractères négatifs ne permet pas l'identification au genre *Staphylococcus*. En effet la souche *Micrococcus spp* qui présente 17 caractères négatifs a été identifiée au genre *Micrococcus* par le logiciel API Staph version 2009. Les autres biotypes montrant 9, 10 ou 13 caractères positifs ont été identifiés aux espèces *Staphylococcus Xylosus* à deux biotypes et *Staphylococcus haemolyticus* à un seul biotype respectivement.

Staphylococcus existe dans le sol et peuvent former un biofilm (Nail et al., 2007). Comme rôle pgpr il produit des sidérophores (sayyad et al., 2013).

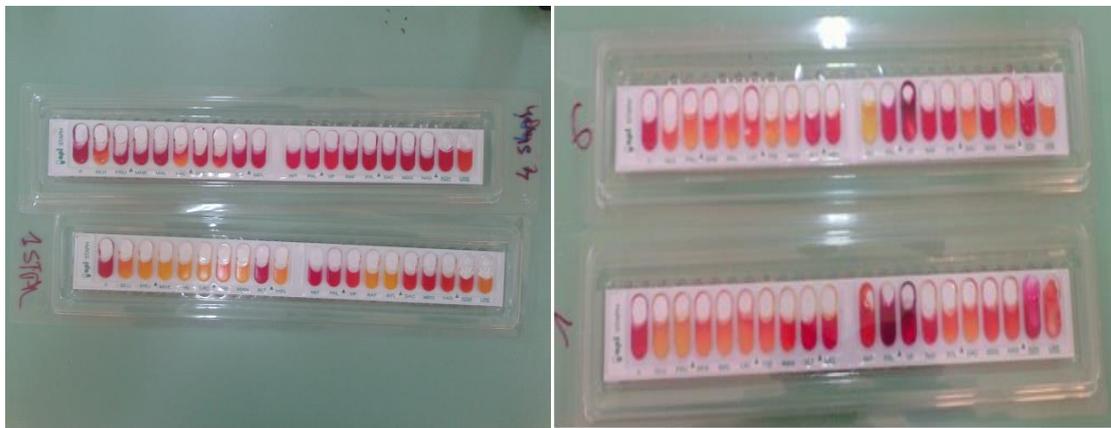


Figure 11 : Galerie Api staph des souches désertique et cultivé.

Tableau8: les résultats de l'identification par la galerie API staph

SOUCHES	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	BIOTYPE	TAXONS
S1	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	0.497	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
S2	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	0.477	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
S3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	0.835	<i>Staphylococcus Xylosus</i>
S4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	0.803	<i>Micrococcus spp</i>

2.2.3. Effet de la température sur la croissance des souches:

Concernant le test de température, les 20 souches testées ont pu se développer à toutes les températures testées : 20, 30, 45, et 55°C.

Compylobacter : peut résister dans des différentes températures sont 10°C /18°C / 20°C /36°C /80°C (**Claude ,2012**)

Vibrionacea : peut résister dans les températures suivantes de 30°C à 37°C

Staphylococcus : T minimal est 10°C / T optimal est de 30à 37°C /T maximal 45°C (**site web**)

Bacillus : y comprise de 4 et 7°C jusqu'à 45°C (**site web**)

Pseudomonas : se développer dans des températures allant de 4°C à +45°C et leur optimum est 37°C (**Boudouda ,2015**)

2. Détermination du potentiel PGPR des souches :

Les caractères PGP étudiés sont le potentiel de formation du biofilm et l'antagonisme par la production de substances inhibitrices.

3.1. Evaluation de la formation de biofilm :

La formation de biofilm dans les microplaques par la technique au cristal violet, utilisant les microplaques de titration à 96 puits, est analysée par simple observation à l'œil nu. La coloration observée sur les parois et/ou le fond des puits est proportionnelle à la masse du biofilm formé. Alors que les parois des puits sont faiblement colorées, des anneaux fortement colorés sont formés à l'interface du milieu avec l'air (**figure 12**).

Le milieu de culture influence la formation de biofilm par les souches étudiées n'ont pas pu former de biofilms sur milieu TSA que sur milieu GN ils ont donné une bonne formation de biofilm



Figure12 : Formation des biofilm dans la microplaque de titration

-Potentielle de formation du biofilme :

Les biofilms ainsi formés par l'adhésion des bactéries sessiles sont colorés avec du Cristal Violet (CV) à 0,1%. En fonction de la lecture des densités optiques (DO) de la phase biofilm, les bactéries sont classées comme suit : non formatrices du biofilm, formation modérée, fortement formatrice du biofilm (Mathur et al, 2006 ; Afreenich et al., 2011 ; Bellifa, 2014). La technique de cristal violet de quantification est parmi les méthodes indirectes d'estimation de la production de biofilm sur différents types de support (Djordjevic et al., 2002). La coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé, et sa solubilisation permet une quantification de celui-ci (Musk et al., 2005).

D'après (D'Auger et al., 2009) une DO de 0,5 est la valeur seuil d'estimation du potentiel de formation du biofilm chez *Bacillus cereus*. Si on considère cette échelle, chez les bacilles thermophiles, il est possible de distinguer 4 classes :

- Classe 1 : $DO < 0,5$: Faiblement productrice du biofilm.
- Classe 2 : $0,5 < DO < 1,5$: Moyennement productrice du biofilm.
- Classe 3 : $1,5 < DO < 2,5$: Fortement productrice de biofilm.
- Classe 4 : $DO < 2,5$: Hyper productrice.

Les résultats de l'évalent de la formation de biofilme des souche testé sont représent dans les figur(13,14,15,16)

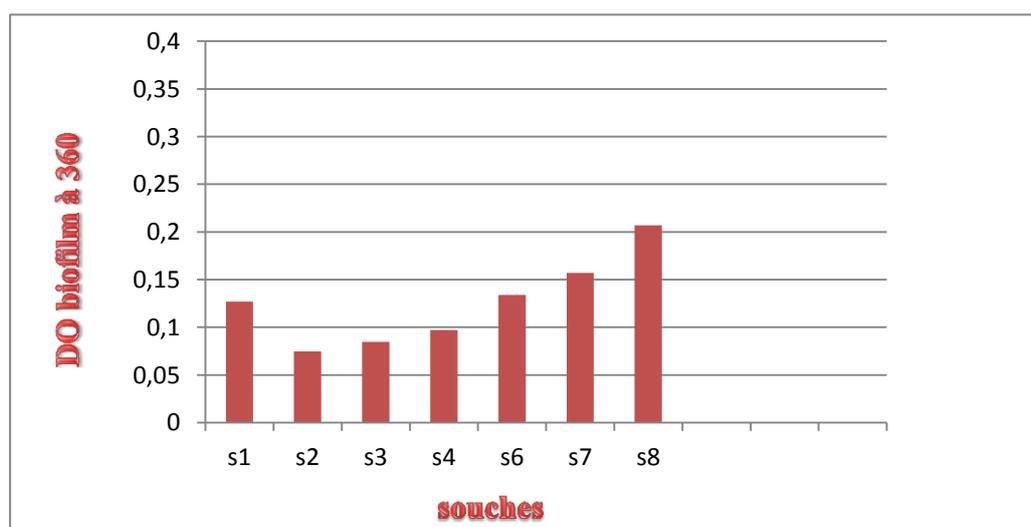


Figure13 : Formation de biofilm par des différentes souches du sol désertique à 30 °C

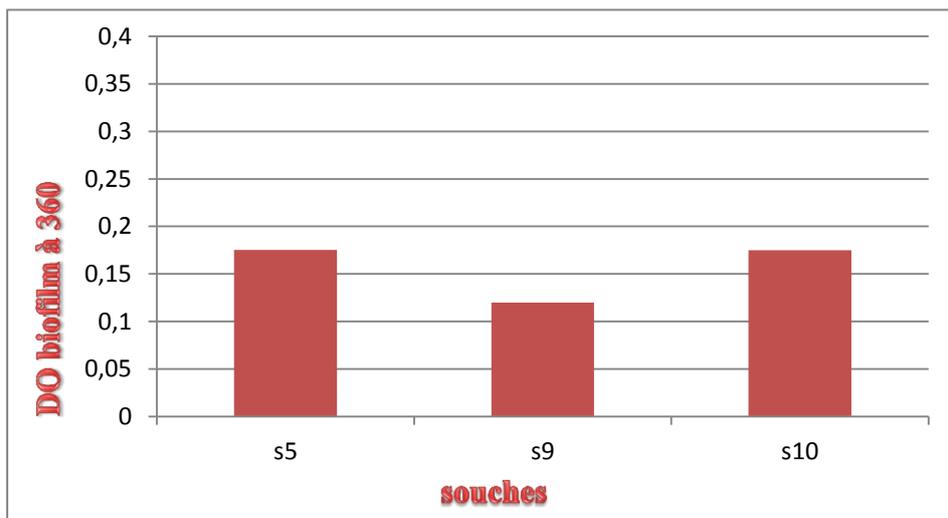


Figure14 : Formation de biofilm par des différentes souches du sol désertique à 45° C

S₁= E4G31 S₂= E6T3 S₇= E8G31 S₈= E8G33 S₉= E6T51
 S₁₀= E6T52 S₅= E8T5 S₆= E4T3 S₃= E10T3 S₄= E4G32

Pour estimer le taux de formation de biofilm par ces souches à deux températures 30C ° et 45C° sur le milieu BN est obtenue par la mesure de la DO à 630 au lecteur de microplaque. Selon les résultats obtenue et présenté dans les figures (13 et 14). A 30°C et à 45°C le seuil est 0.5 nm.

A 45°C la DO est inférieures à 0.5 les souches ont faiblement productrice de biofilm

A 30 °C la DO est comprises inférieures à 0.5 les souches sont faiblement productrice de biofilm

A 30 °C la DO est entre 0.5 et 1.5 hyper productrice de biofilm

A 45 °C la DO est entre 0.5 et 1.5 hyper productrice de biofilm

A 30 °C la DO est entre 1.5 et 2.5 moyennement productrice de biofilm

A 45 °C la DO est entre 1.5 et 2.5 moyennement productrice de biofilm

A 30 °C la DO <2.5 faiblement productrice de biofilm

A 45 °C la DO < 2.5 faiblement productrice de biofilm

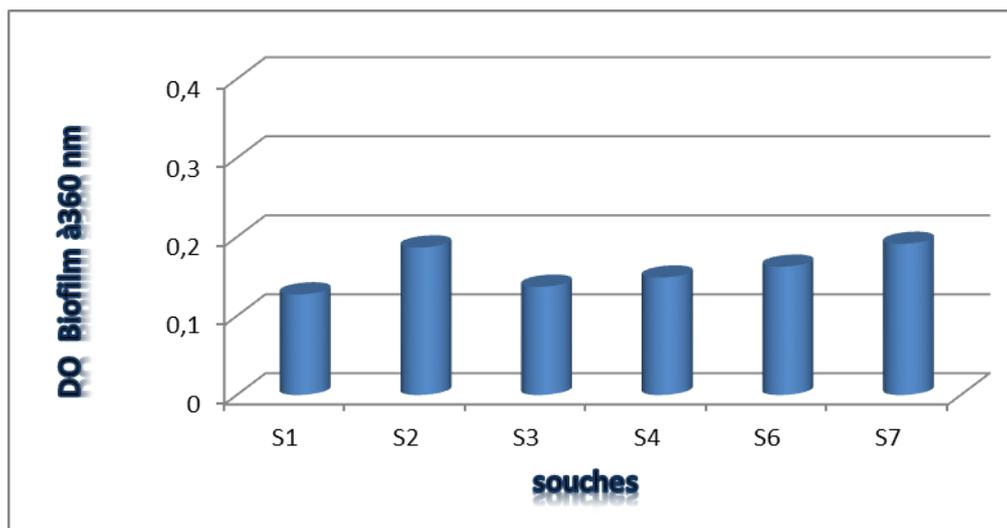


Figure15 : formation de biofilm par des différentes souches à 30°C sol cultivé

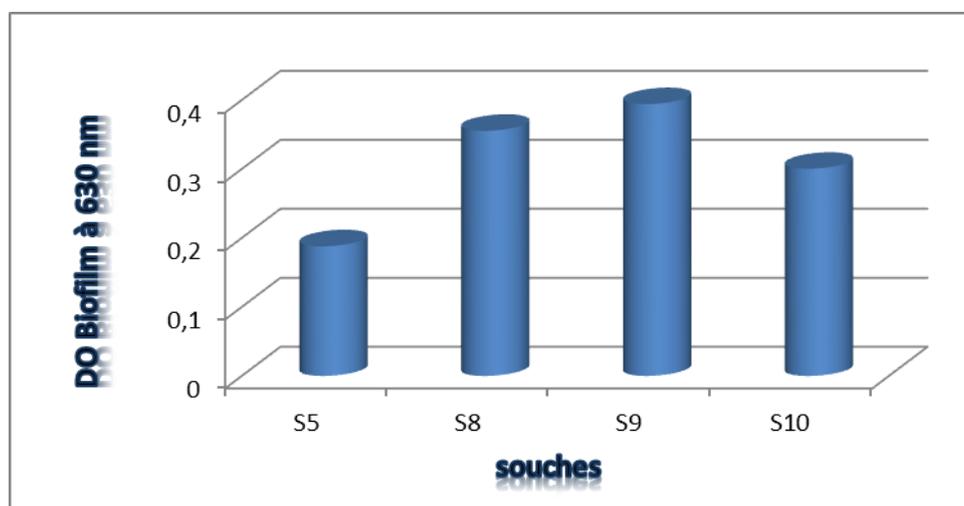


Figure16 : formation de biofilm par des différentes souches à 45°C sol cultivé

FS1	:	Figue souche 1	A S5	:	Abricot souche 5
FS2	:	Figue souche 2	E S6	:	Epinard souche 6
FS3	:	Figue souche 3	E S8	:	Epinard souche 8
E S9	:	Epinard souche 9	MSS10	:	La mauve sauvage souche 10
MSS4	:	La mauve sauvage souche 4	MS S7	:	La mauve sauvage souche 7

A 45 °C la DO est inférieures à 0.5 les souches ont moyennement productrice du biofilm.

A 30 °C la DO est comprises inférieures à 0.5 les souches sont faiblement productrice de biofilm

A 30 °C la DO est entre 0.5 et 1.5 hyper productrice de biofilm

A 45 °C la DO est entre 0.5 et 1.5 hyper productrice de biofilm

A 30 °C la DO est entre 1.5 et 2.5 moyennement productrice de biofilm

A 45 °C la DO est entre 1.5 et 2.5 moyennement productrice de biofilm

A 30 °C la DO <2.5 faiblement productrice de biofilm

A 45 °C la DO < 2.5 faiblement productrice de biofilm

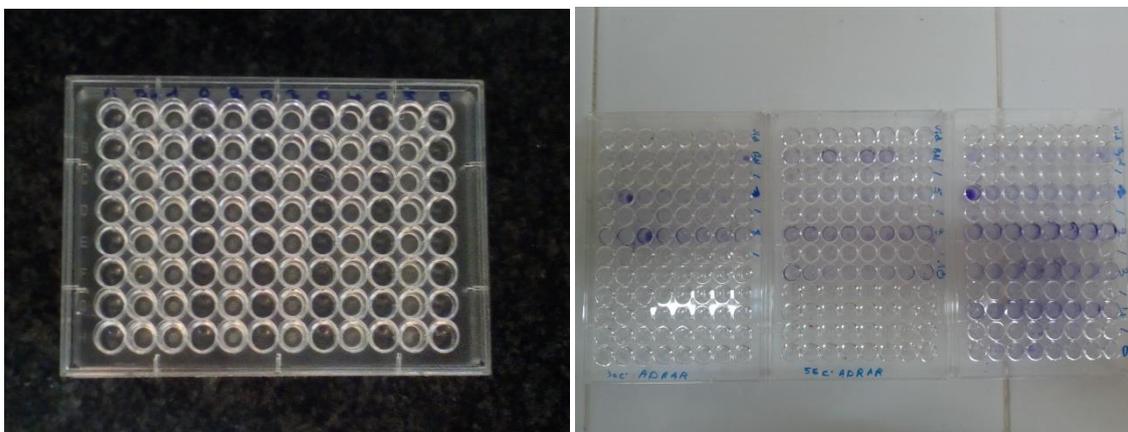


Figure 17: Résultats de biofilms après la incubation de 24h coloration avec le cristal violet

3.2. Antagonisme :

Le test de l'antagonisme tel que montre par la figure 19 une seule activité inhibitrice a été observée par la souche I₂ à également de la souche de référence *Staphylococcus aureus*.

Les autres souches testées ne montrent aucun effet négatif sur la croissance des souches cibles qu'elle soient celles qui ont été isolées les souches de référence.

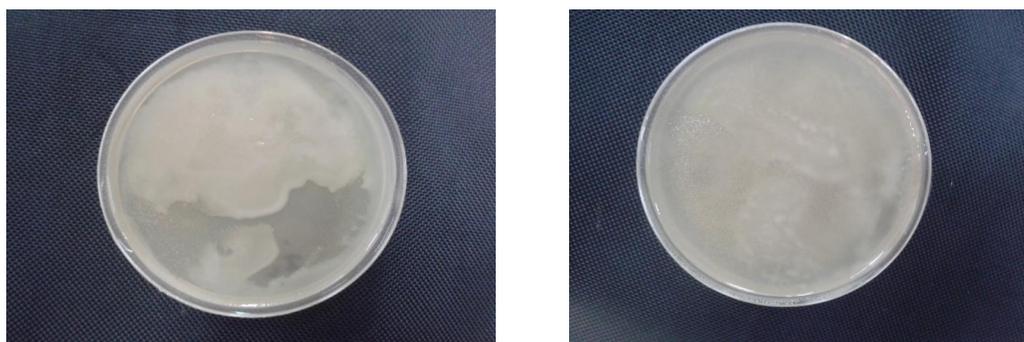


Figure 18: Résultats de l'activité inhibitrice de la souche I₂

Neeraja et al (2010); on montre que l'activité antagoniste a été résulté de l'activité de l'ensemble des enzymes tel que chitinases, glucanases, pro-teases, et lipases

La lutte biologique par l'utilisation des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale ou PGPR est un outil prometteur pour l'amélioration de la production végétale et la gestion

intégrée des phanérogames parasites des cultures (**Kirdi, 2011**). D'après ces résultats, 101 souches rhizobactériennes ont été isolées d'échantillons de sol prélevés dans les régions de Zeralda, Fouka et Berar de la wilaya de Tipaza, dont 12 souches inhibitrices de la croissance et 25 souches stimulatrices de la croissance végétale (ou PGPR). Ce dernier caractère c'est traduit par un effet sur le taux de germination et la longueur des racines des graines germées de la fève, pois chiche, petit pois, blé, orge, luzerne et tomate.

Conclusion

Conclusion :

D'après nos résultats on constate que les vingt souches isolées et identifiées sont des bacilles à Gram positif et négatif et des cocci à Gram positif, capable de croître dans des températures de 20°C à 55°C. Quatre souches ont été identifiées par la galerie API Staph aux genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*.

Deux activités PGP ont été étudiées chez les souches isolées : formation de biofilm et l'antagonisme.

Une détermination par la technique au cristal violet de formation des biofilms des vingt souches a montré des potentiels relativement modérés ($0,07 < DO < 0,38$).

L'antagonisme qui a été réalisée par trois souches inhibitrices est testé sur 8 souches de références dont une seule parmi ces germes inhibiteurs qui a une inhibition intéressante vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherche il serait intéressant d'approfondir les investigations sur les souches les plus performantes après leur identification à fin de:

- Déterminer leurs mécanismes d'actions directes (production des phytohormones, assimilation et solubilisation des sels minéraux, induction de la résistance systémique) ou indirectes (compétition, production des sidérophores, Antibiose ; Production de composés volatiles...) impliqués dans leur potentiel stimulateur de la croissance végétale ou antagoniste à l'égard d'*Orobanch ecrenata* et *Cuscuta campestris* ainsi que d'autres bioagresseurs des cultures
- identifier les métabolites actifs à effet inhibiteur.
- connaître leur potentiel à promouvoir la tolérance des plantes cultivées aux différents stress abiotiques
- comprendre et modéliser les interactions entre les souches performantes et les communautés microbiennes rhizosphériques notamment celles des bactéries symbiotiques des légumineuses

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Abeles F. B., Morgan P. W, and Saltveit M. E Jr, 1992. Ethylene in Plant Biology, Academic Press, New York, NY, USA, 2nd edition.

Adams, D. O., and Yang, F, 1979. Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 170-174.

Ahemad M, Kibret M ,2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University - Science 26: 1-20.

ANOUA, B., Jaillard, B., RUIZ, J., Bénet, J. C., et Cousin, B. 1997. Couplage entre transfert de matière et réactions chimiques dans un sol. Partie 2: Application à la modélisation des transferts de matière dans la rhizosphère. Entropie, 33(207), 13-24.

Anton Hartmann, Michael Rothballer et Michael Schmid, 2008. « Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research », Plant and Soil, vol. 312, n° 1-2, novembre, p. 7

Arora NK, Tewari S, Singh R ,2013. Multifaceted Plant-Associated Microbes and Their Mechanisms Diminish the Concept of Direct and Indirect PGPRs. In: Arora NK (ed.) Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances. Springer, 411-449

Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P,1990. Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.

Bram V. P et Dominique V D S, 2014. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene! 11 nov.5: 640.

Cherif Hafsa ,2014. Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Université Ferhat Abbas Sétif 1

Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., and Lappin-Scott, H. M, 1995. Microbial biofilms. Annu. Rev. Microbiol. 49:711-45.

Curl EA ,1982. The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. Plant Dis 66, 624-630

Delarras C ,2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.

Dobbeleare.S.,Croonenborghs,A.,Thys,A.,Ptacek,D.,Okon,Y.,Vanderleyden,J.,2002.Ef
fects of inoculation with wild type *Azospirillum brasilens* and *A.irakense* strains on
development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize.*Biology and fertility of*
*Soils*36.284-297.

Dommergues Y,1978. Mycorrhizes et fixation d'azote. O.R.S.T.O.M. avril.

Dommergues, Y. Mangenot, F,1970. ecologie microbienne du sol .Masson et Cie,
2013.Microbacterium avec l'uranium. Th doctorat : Microbiologie : Université
d'AixMarseille,. paris, pp9- 72(796).

Emily claudia ricci,2015.investingating the role of pseudomonas sp. And bacillus sp
.biofilms as plant growth promoting inoculants.McGill university,motereal.Quebec.Canada

Foster RC, Rovira AD ,1978. The ultrastructure of the rhizosphere of *Trifolium*
subterraneum L. In: *Microbial ecology* (MW Loutit, JAR Miles, eds) Springer-Verlag,
Berlin, 278-290

Filearchide.cnews.ru/img/reviews/2010/11/14/mushroom_f3ce1.pg

Gibson, F., and Magrath, D. J,1969. *Biochim. Biophys. Acta* 192, 175–187

Giordano, W., Hirsch, A.M., 2004. The expression of MaEXP1, a *Melilotus alba*
expansin gene, is upregulated during the sweet clover-Sinorhizobium meliloti interaction.
MPMI 17, 613–622.

Glick B.R.,2012.Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applicationsHindawi
Publishing Corporation, Scientifica

Glick BR, Todorovic B, Czarny J, Cheng Z, Duan J, et al,2007. Promotionof plant
growth by bacterial ACC deaminase. *Crit Rev Plant Sci* 26: 227-242.

GobranG.R, WenzelW.W, LombiE, 2001. *Trace Elements in the Rhizosphere.*CRC Press
Cité dans *Microbial Health of the Rhizosphere* (Researcher: Nikol Heckathorn; Writer:
Laura Reinhold ; Programmer: Tiffany White

**Govind Gupta, Shailendra Singh Parihar, Narendra Kumar Ahirwar, Sunil Kumar
Snehi and Vinod Singh ,2015.**Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current
and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture,
MicrobBiochemTechnol, 7:2

[http//www.symbiotech . over . blog.com](http://www.symbiotech . over . blog.com) Solution biologique pour le sol et la plant.

- Institut de Génie Rural,1973.** Travaux pratiques Guide de laboratoire. Suisse, 50 pages.
- Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA ,2010.** Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. Arch Agron Soil Sci 56:73-98
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., 2009.** Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ. Chem. Lett. 7, 1–19.
- Kim J, D.C,1994.**Rees Nitrogenase and biological nitrogen fixation Biochemistry, 33 (), pp. 389–397
- kirdi billal ,2011.**Rôle des PGPR « Plant GrowthPromotingRhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites.Mémoire Magister en Sciences Agronomiques,Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach –Alger)
- Krafczyk, I., Trolldenier, G., et Beringer, H. 1984.** Soluble root exudates of maize: influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. Soil Biology and Biochemistry, 16(4), 315-322.
- Kuffner M, Puschenreiter M, Wieshammer G, Gorfer M, Sessitsch A ,2008.**Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. Plant Soil 304: 35- 44
- Kumar P, Dubey RC ,2012.**Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biocontrol of Phytopathogens and Yield Enhancement of Phaseolus vulgaris. J CurrPersApplMicrobiol 1: 6-38
- Larpent J. P. et Sanglier J. J, 1989.**Biotechnologie des antibiotiques. Masson. Paris. 130 pages (31-61).
- LemanceauP, 1992.** Effets b'en'efiques de rhizobact'eries sur les plantes : exemple des Pseudomonas spp fluorescents. Agronomie, EDP Sciences, 12 (6), pp.413-437.
- Linda S. Thomashow, David M. Weller, Robert F. Bonsall, and Leland S. Pierson,1990.** Production of the Antibiotic Phenazine-1-Carboxylic Acid by Fluorescent Pseudomonas Species in the Rhizosphere of Wheat. U.S. Department of Agriculture, Washington State University. 56(4)pp 908–912.
- Lombi, E, 2001.***Trace Elements in the Rhizosphere.* CRC Press. Cité dans *Microbial Health of the Rhizosphere*
- Lugtenberg B, Kamilova F,2009.** Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 63:541–556

Malek F ,2015.interaction microbienne cours assure aux Master II microbiologie et Magistère Maitrise de la qualaté et du développement microbien. Université de Tlemcen. P :17

Masson et Cie, Noumeur, S,2008. Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le microbiote tellurique de la région de Hamla (Batna). Th doctorat : Biologie : Université Mentouri Constantineparis, pp9- 72(796).

McKenzie, R.H., Roberts, T.L., 1990. Soil and fertilizers phosphorus update. In: Proceedings of Alberta Soil Science Workshop Proceedings, Feb. 20–22, Edmonton, Alberta, pp. 84–104.

Mench M ,1985 . Influence des exsudats racinaires solubles sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs (*Zea mays* L). Thèse de Dr del'INPL, Univ Nancy, 109 p

MuneesAhemad,MulugetaKibret , 2013 .Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective, Journal of King Saud University – Science, January Volume 26, Issue 1, Page 1–20

Naznin HA, Kimura M, Miyazawa M, Hyakumachi M,2012. Analysis of volatileorganic compounds emitted by plant growth promoting fungus phoma sp. GS8- 3 for growth promotion effects on tobacco. Microbe Environ 28: 42-49.

Neilands, J.B., 1995. Siderophores structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem. 270, 26723–26726.

Normanly, J., and Bartel, B,1999. Redundancy as a way of life-IAA metabolism. Curr. Opin. PlantBiol., 2, 207-213

Parmar P, Sindhu SS ,2013. Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. J Microbiol Res 3: 25-31.

Peiters C.M.J., A. leon-Reyes s. ven der Ent and S.C.M. van Wees ,2009. networking by small- molecule hormones in plant immunity nature chemical biology , vol 5 ,n 5,pp.308-316,

Ramey BE, Matthyse AG, Fuqua C ,2004. The FNR-type transcriptional regulator SinR controls maturation of *Agrobacterium tumefaciens* biofilms. Mol Microbiol 52:1495–1511

Rogers J.R., Bennett, P.C. and Choi, W.J., 1998, Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. American Mineralogy, 83, 1532-1540.

Salma Taktek ,2015. Dissolution biologique des phosphates : Interaction bactéries – mycorhizes. Thèse de doctorat . université LAVAL québec canada

Références bibliographiques

Schroth MN, Hancock JG ,1981. Selected topics in biological control. Annu Rev Microbiol 34, 453-476
Schroth MN, Hancock JG ,1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. Science 216, 1376-1381

Schroth MN, Hildenbrand DC ,1964 . Influence of plant exudates on root-infecting fungi. Annu Rev Phytopathol 2, 101-132

Shilev S ,2013. Soil Rhizobacteria Regulating the Uptake of Nutrients and Undesirable Elements by Plants. Chappitre5 plant microbe symbiosis fundamentals and advance naveenkumararora editor

Yang, C.H., Crowley, D.E., 2000. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. Applied and Environmental Microbiology 63, 345-351.

Zehnder GW, Murphy IF, Sikora EJ, Kloepper JW ,2001. Application to rhizobacteria for induced resistance. Eur J Plant Pathol 107:39–50

Site d'identification des souches isolées

<http://biolabs.tmc.edu/Micro%20Web/Shaemolyticus.pdf>

<https://www.pasteur.fr/fr/file/3252/download?token=nuSFUB9S> ,2011

<http://prelevement.reunilab.fr/manuelprev/upload/CAMPYLOBACTER.pdf>

<http://anne.decoster.free.fr/btelechar/bpoly/Erysip05.pdf>)

<http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Gram+GenreBacillus.pdf>

(http://www.quartiersdurablescitoyens.be/wp-content/uploads/2014/10/fc38_sol_jardin-2.pdf , 2013).

(2012. Biomni – précis de biopathologie analyses médicales spécialisées.

Annexes

Annexe 01 : les milieux de cultures

1. TSA (Gélose Trypticase de soja)

Trypticase-----	17 g
Soytone-----	3 g
Chlorure de sodium-----	5 g
Agar-----	1 5 g
Eau distillée-----	1000ML
Ph -----	7,2

2. Milieu Mannitol-mobilité

Hydrolysatrypsique de caséine-----	10,0 g
Mannitol -----	7,5 g
Rouge de phénol -----	0,04 g
Nitrate de potassium-----	1,0 g
Agar-----	3,5 g
pH-----	7,6

3. Milieu gélose nutritive

Beef extrait -----	1.0g/l
Least extrait-----	2.0g/l
Peptone-----	5.0 g/l
Sodium chloride -----	5.0g/l
Agar-----	15.0g/l
pH-----	6.8±0.2
T-----	25°C

Suspendez 28g dans 1L d'eau distillée, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclave à 121°C pendant 15 min.

4. Milieu Muller Hinton :

Infusion de viande de bœuf -----	300,0 ml
Peptone de caséine-----	17,5 g
Amidon de maïs-----	1,5 g
Agar-----	17,0 g
pH-----	7,4

5. Eau physiologique :

Na Cl -----	9g
Eau distillé-----	1000ml

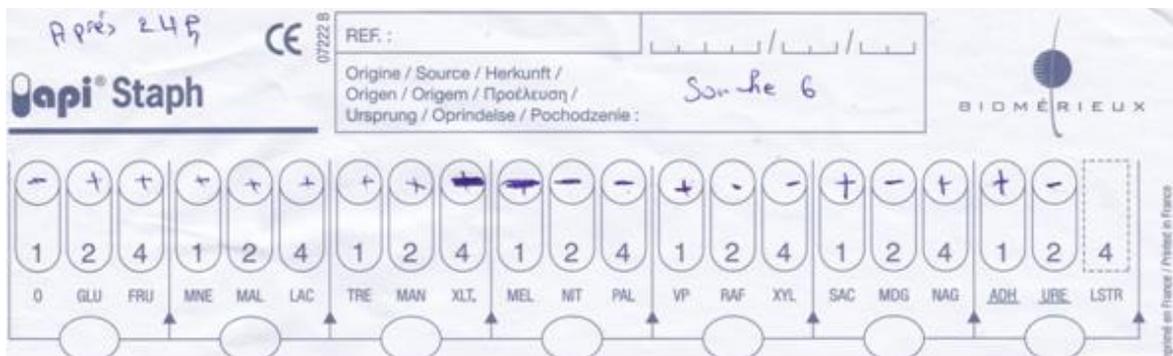
6. Cristèle violé :

Cristèle violé -----	9g
Eau distillé-----	1000ml

Annexe 02 : la lecture des résultats des galerie Api

API 20 Staph v4.1													Proba	typicité	Incompa	Test sur proba	Test sur typicité	BUG : pb si dans le cl										
résultats																												
1	Staphylococcus xylosus												0,835	-0,37	0	Excellente Id	mauvaise typicité											
2	Staphylococcus lentus												0,161	-0,61	3	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
3	Staphylococcus cohnii ssp cohnii												0,002	-0,90	3	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
4	Staphylococcus sciuri												0,001	-0,90	3	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
5	Staphylococcus aureus												0,001	-0,96	2	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
API 20 Staph v4.1		GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MOG	NAG	ADH	URE	LSTR	classement	P(taxon/ profil)	P(taxon/ profil)	P(plus typique)	T	taxons	
profil		+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-							#####		
Staphylococcus aureus		100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0	5	#####	0,1%	#####	-0,96	2	Staphylococcus aureus

API 20 Staph v4.1													Proba	typicité	Incompa	Test sur proba	Test sur typicité	BUG : pb si dans le cl										
résultats																												
1	Micrococcus spp												0,803	-0,09	1	Excellente Id	mauvaise typicité											
2	Kocuria varians/rosea												0,188	-0,15	0	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
3	Staphylococcus auricularis												0,007	-0,33	1	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
4	Staphylococcus capitis												0,001	-0,39	1	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
5	Staphylococcus haemolyticus												0,000	-0,88	1	mauvaise identifi	mauvaise typicité											
API 20 Staph v4.1		GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MOG	NAG	ADH	URE	LSTR	classement	P(taxon/ profil)	P(taxon/ profil)	P(plus typique)	T	taxons	
profil		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-						#####		
Staphylococcus aureus		100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0	17	#####	0,0%	#####	-1,82	1	Staphylococcus aureus



Apr 13 24h

CE 07222 B

REF: _____

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie : *Souche 1*

BIDMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-			
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4			
O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση : *Staphylococcus xylosus*



ملخص

الهدف من هذا العمل هو توصيف النباتات PGPR جزء من التربة شبه القاحلة زراعة والأراضي القاحلة المزروعة لا.

عشرون سلالات معزولة و حددت من عصيات إيجابية الجرام ومكورات سلبية وإيجابي الجرام، قادرة على النمو في درجات الحرارة من 20 درجة مئوية إلى 55 درجة مئوية. وقد تم تحديد أربع سلالات من المكورات العنقودية API العنقوديات جنسا و *Micrococcus.PGP* الخصائص التي تم تحليلها في هذه الدراسة هي: إمكانية تشكيل بيوفيلم وإنتاج المواد المثبطة (العداء). ودراسة تشكيل بيوفيلم من عشرين يتم سلالات باستخدام صفيحة معايرة دقيقة وعزم هذا الأخير عن طريق إضافة البنفسجي وضوح الشمس. تم إجراء العداء من قبل ثلاث سلالات المثبطة تم اختباره على 8 سلالات إشارة منها واحدة فقط من هذه الجراثيم المانع والذي يحتوي على تثبيط مثيرة للاهتمام وجها لوجه المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* . كلمات البحث: PGPR، بيوفيلم، العداء، معزولة، حدد، يتميز.

Résumé

L'objectif de ce travail est la caractérisation de la flore PGPR la partie d'un sol semi-aride cultivé et un sol aride no cultivé.

Vingt souches isolées et identifiées sont des bacilles à Gram positif et négatif et des cocci à Gram positif, capable de croître dans des températures de 20°C à 55°C. Quatre souches ont été identifiées par la galerie API Staph aux genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*. Les propriétés PGP analysés dans cette étude sont : le potentiel de formation de biofilm et la production de substance inhibitrice (Antagonisme). L'étude de formation des biofilms des vingt souches par l'usage des microplaques de titration et la détermination de ce dernier se fait par l'addition de cristal violet. L'antagonisme qui a été réalisée par trois souches inhibitrices est testé sur 8 souches de références dont une seul parmi ces germes inhibiteur qui a une inhibition intéressante vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : PGPR, biofilm, antagonisme, isolée, identifiée, caractérisé.

Abstrat

The objective of this work is to characterize the PGPR flora part of a cultivated semi-arid soil and a non-cultivated arid soil.

Twenty strains isolated and identified are Gram positive and negative bacilli and Gram positive cocci capable of growing in temperatures of 20 ° C to 55 ° C. Four strains were identified by API Staph Gallery in the genus *Staphylococcus* and *Micrococcus*. The PGP properties analyzed in this study are: biofilm formation potential and inhibitory substance production (Antagonism). The biofilm formation study of the twenty Strains by the use of the titration microplates and the determination of the latter is done by the addition of crystal violet. The antagonism which was carried out by three inhibitory strains is tested on 8 reference strains of which only one of these inhibitory germs has an interesting inhibition against *Staphylococcus aureus*.

Key words: PGPR, biofilm, antagonism, isolated, identifies, characterized.