

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعد دحلب البليدة 1

Université Saad Dhaleb - Blida 1

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيوتكنولوجيا

Département de Biotechnologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie Microbienne

Etude bibliographique sur les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales

Présenté par :

BOUHDJEUR Rihab

REDOUANE Hana

Membres de jury :

Président : BOUCHENAK F. M.C.A. USDB 1

Examineur : YALA A. Docteur USDB 1

Promotrice : BENKORTEBY H. M.A.A. USDB 1

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

• Avant tout nous remercions ALLAH le tout puissant, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la patience pour réaliser ce travail.

*• Nous tenons à exprimer notre gratitude, notre profond respect et notre remerciement aux membres de jury : Notre enseignante **Dr.Bouchenak F**, qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de président de jury.*

Dr.YALA A qui a acceptée de faire partie de ce jury et examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.

*• Nos vifs remerciements à notre promotrice **Mme.Benkorteby H**, qui a accepté la responsabilité de superviser ce travail, pour son aide, ses conseils, sa disponibilité, ces précieux encouragements, sa patience et sa confiance. Nous lui témoignons, notre gratitude et notre reconnaissance.*

*• On tient à exprimer notre grande considération et nos vifs remerciements à nous enseignants : **Pr. Krimi, Pr Benchabane, Mme Benchabane, Mme Ammade, Mme Taffifat.** Ainsi que le personnel du département Biotechnologie trouve ici nos sincères remerciements.*

Enfin on remercie tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, directement ou indirectement à réaliser ce travail.

Rihab et Hana

Dédicace

*Du profond de mon cœur je dédie ce mémoire avec grand
amour, sincérité et fierté à :*

*Mes chers parents, sources de tendresse de bonheur pour
leur patience et leur soutien*

Ma deuxième mère ma tante Djazia

Mon cher frère Ikbal

*Mon cher frère Mossab et sa femme Chaima, qui m'ont
toujours encouragé*

Ma grande mère pour son douaa

Mes oncles et tantes, mes cousins et cousines

*A toutes mes amies surtout : Farah, Wahiba et Hana, qui
m'ont toujours entouré et soutenu.*

*Enfin à mes collègues de promotion de
biotechnologie microbienne 2021*

À tous ceux qui me connaissent.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé poursuivre dans cette voie.

A mon cher frère Ahmed

A mes sœurs Yasmine et Nedjla

A mes chers grands parents

A mes oncles, mes tantes et leur enfants

A toutes mes amies surtout : Wahiba , Rihab, Fariha

*Enfin à mes collègues de promotion de
biotechnologie microbienne*

À tous ceux qui me connaissent.

Hana

Résumé

Les céréales occupent une place primordiale dans l'agriculture, leur production demeure déficiente et la demande reste en constante croissance. Elle est consécutive de l'utilisation abusive des pesticides et engrais chimiques. Ces derniers affectent et diminuent considérablement le rendement.

La toxicité par les pesticides et les engrais chimiques est d'intensité variable. D'où l'intérêt de s'orienter vers de nouvelles alternatives tel que les micro-organismes bénéfiques dans la rhizosphère qui sont efficaces, à savoir les champignons mycorhiziens à arbuscule et les bactéries amélioratrices de la croissance.

La présente étude bibliographique reporte les différents avantages de ces microorganismes pour la rhizosphère. Elle contribue aussi à connaître les agents bénéfiques de la rhizosphère des céréales et leurs effets sur la croissance, la résistance aux pathogènes et l'augmentation du rendement.

Une étude expérimentale a été choisie pour mettre en évidence certains effets bénéfiques de bactéries PGPR, isolées à partir du sol, sur un certain nombre de variétés de blé dur en Algérie. L'étude a permis d'isoler un certain nombre d'isolats de bactéries PGPR, exprimant une activité antifongique à l'égard d'agents de fusariose et leur capacité à stimuler la croissance de variétés de blé dur évaluée *in vivo*. Ces isolats ont des comportements phytostimulants et phytoprotecteurs.

Mots clés : Céréales, microorganismes bénéfiques, rhizosphère.

Abstract

Cereals occupy a central place in agriculture, their production remains deficient and demand continues to grow. It is consistent with the misuse of chemical pesticides and fertilizers. These affect and significantly reduce performance.

The toxicity of chemical pesticides and fertilizers varies. Hence the interest in moving towards new alternatives such as beneficial micro-organisms in the rhizosphere that are effective, namely arbuscular mycorrhizal fungi and growth-enhancing bacteria.

This bibliographic study reports the various benefits of these microorganisms for the rhizosphere. It also helps to know the beneficial agents of the rhizosphere of cereals and their effects on growth, resistance to pathogens and yield increase.

An experimental study was chosen to identify some beneficial effects of PGPR bacteria, isolated from the soil, on a number of durum wheat varieties in Algeria. The study isolated a number of isolates of PGPR bacteria, expressing antifungal activity against fusarium blight agents and their ability to stimulate the growth of durum wheat varieties evaluated *in vivo*. These isolates exhibit phytostimulant and phytoprotective behaviours.

Keywords: cereals, beneficial microorganisms, rhizosphere.

ملخص

تحتل الحبوب مكاناً مركزياً في الزراعة، ولا يزال إنتاجها ناقصاً ولا يزال الطلب عليها كثيراً. وهو ناتج عن سوء استخدام المواد الكيميائية والأسمدة. وهذا الأخير يؤثر على المردود ويقلل منه إلى حد كبير.

تشكل المواد الكيميائية والأسمدة تسماً متفاوت الشدة على البيئة، ماجعل الاهتمام بالانتقال نحو بدائل جديدة مثل الكائنات المجهرية المفيدة التي تكون فعالة في منطقة المحيط الجذري النباتي، مثل الفطريات الميكوريزية الشجرية و البكتيريا المعززة للنمو، من ابرز الأهداف في البحوث الحديثة نحو تطوير زراعة مستدامة مراعية لبيئة نظيفة.

توضح الدراسة المرجعية الحالية، الفوائد المختلفة التي تتمتع بها هذه الكائنات الدقيقة المفيدة لمنطقة المحيط الجذري النباتي. بالاحص عند الحبوب، وآثارها على النمو ومقاومة مسببات الأمراض وزيادة الغلة .

قمنا باختبار دراسة تجريبية لتحديد بعض الآثار المفيدة لكائنات البكتيريا المعززة للنمو (PGPR) ، المعزولة من التربة، على عدد من أنواع القمح الصلب في الجزائر و التي تتمثل في تعزيز مقاومة نبات القمح ضد مرض الذبول الفيزارايوزي .

سمحت هذه الدراسة بتبيان نشاط مضاد ضد عوامل مرض الذبول الفيزارايوزي تمارسه البكتيريا المعززة للنمو (PGPR)، كما أظهرت قدرتها على تحفيز نمو أصناف القمح الصلب. عبرت العزلات المستخرجة من التربة عن سلوكيات التحفيز النباتي و الحماية ضد مرض الذبول الفيزارايوزي لفائدة انواع القمح المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الحبوب، الكائنات الحية الدقيقة المفيدة، منطقة المحيط الجذري النباتي.

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale..... 01

Chapitre I Synthèse bibliographique

I. les céréales 03

1. Généralités sur les céréales 03

2. Les céréales les plus importantes 03

2.1 Le blé 04

2.1.1 blé tendre 04

2.1.2 blé dur 04

2.2 L'orge 05

3. Origine et répartition géographique des céréales..... 05

3.1 Origine..... 05

3.2. Répartition géographique..... 06

a) Au niveau mondial..... 06

b) Au niveau Algérien 06

4. Importance économique des céréales.....	07
4.1 Importance économique des céréales dans le monde	07
4.2 Importance économique des céréales en Algérie.....	08
5. les maladies des céréales.....	09
5.1 Les maladies bactériennes.....	09
5.2 Les maladies fongiques	09
5.3 Les maladies virales	11
II. les Microorganismes bénéfiques à la rhizosphère en général....	12
1. Généralités sur la rhizosphère	12
1.1. Activité de la rhizosphère.....	13
1.1.1 Activités liées aux racines des plantes	13
1.1.2 Activités liées aux microorganismes.....	14
1.2. Les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère	15
1.2.1 Les champignons bénéfiques.....	15
1.2.2 les bactéries bénéfiques	16
2.La lutte biologique en agriculture avec les microorganismes.....	17
II. Les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales	18
1. Les champignons mycorhiziens arbusculaires	18
1.1 La protection contre les pathogènes	19
1.2 L'absorption d'éléments nutritifs	20
2. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).....	21

a) le genre <i>Azospirillum</i>	22
b) le genre <i>Pseudomonas</i>	23
c) le genre <i>Bacillus</i>	23

Chapitre II matériels et méthodes

1-Introduction.....	25
1-isolement et identification des bactéries PGPR.....	26
2-Effet antagoniste des PGPR.....	26
3- Stimulation de la croissance du blé	27

Chapitre III résultats et discussion

1-isolement et identification des PGPR.....	28
2-Effet antagoniste des PGPR.....	29
3-Stimulation de la croissance du blé	30
Conclusion générale	32

Références bibliographiques

Annexe

Liste des tableaux

N° de Tableau	Titre	Page
1	les principales bactéries phytopathogènes affectant les cultures des céréales.	10
2	Les maladies et les agents fongiques spécifiques aux céréales.	10
3	principaux virus décrits sur les céréales.	11
4	Identification des isolats bactériens	28

Liste des figure

N° °de figure	Titre	page
1	les céréales les plus importants, a) <i>Triticum aestivum</i> ,b) <i>Triticum durum</i> c) <i>Hordeum vulgare</i>	05
2	carte géographique représente les producteurs de céréales 2018	06
3	carte géographique représente la production des céréales enAlgérie2017.	07
4	Production nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015.	09
5	Représentation schématique des zones de la rhizosphère.	13
6	Représentation schématique des mécanismes d'action directe et indirecte employés par les PGPR.	17
7	Impact des mycorhizes sur l'absorption des éléments minéraux des plantes.	20
8	Modes d'action des rhizobactéries bénéfiques, qui conduisent à des effets de phytostimulation ou de phytoprotection du blé.	22
9	Indice d'inhibition isolé contre deux <i>Fusarium</i> .	29
10	Effet de l'inoculation sur la hauteur de la tige des variétés.	30
11	Effet de l'inoculation sur la longueur des racines des variétés.	31

Liste des abréviations

Abrj	
An	année
APS	Algérie Presse Service
CMA	champignons mycorhiziens à arbuscules
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
h	Heure
ha	hectares
hab	habitant
INPV	Institut National de la Protection des Végétaux.
MADR	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
NCBI	National centre for biotechnology information
PDA	Potato dextrose agar
PGPR	Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
PVK	Pikovskaya
SAU	Surface agricole utile
Sec	Seconde

Introduction générale

La filière céréalière constitue l'une des principales stratégies de la production agricole. Les céréales (blé, orge, maïs, riz...etc.) sont une ressource alimentaire majeure à la fois pour la consommation humaine et pour l'alimentation du bétail. Elles occupent une place importante dans l'économie à l'échelle mondiale et particulièrement nationale (Djermoun, 2009). L'Algérie par sa situation géographique au centre de la méditerranée, possède une végétation riche et diversifiée. Le blé est l'une des récoltes les plus importantes, Plusieurs hectares sont employés pour sa plantation. Le blé dur (*Triticum durum Desf*) est la première céréale cultivée, elle occupe environ 2 millions d'hectares (Susana et al., 2008). Cependant la production nationale des céréales reste faible, irrégulière et ne répondant pas aux besoins de la population. L'Algérie est considérée comme l'un des importants pays importateurs des céréales à cause de plusieurs menaces qui affectent les rendements et la production partielle ou totale (Hassani et al., 2008).

La croissance des céréales peut être altérée par de nombreuses maladies et à différents stades de leur cycle de développement. Ces altérations causées par des agents fongiques, bactériens et viraux affectent leur production et provoquent des baisses de rendements appréciables. Cependant, les pesticides et les engrais chimiques sont conçus d'une part pour lutter contre ces ravageurs et améliorer la productivité des cultures. Ces produits chimiques sont efficaces, faciles à utiliser, peu coûteux et donc extrêmement populaires (Damalas, 2009). D'autre part, une étude démontre que l'utilisation d'engrais chimiques est responsable d'une pollution massive des sols et peut augmenter leur acidité, ce qui modifie la stabilité des sols (Barak et al., 1997). Ils peuvent aussi affecter la santé publique par leurs différentes voies de pénétration dans le corps humain, à savoir ingestion, inhalation et contact (Nesheim et al., 2014). L'Organisation mondiale de la santé estime que 200 000 personnes meurent chaque année dans le monde, suite à l'empoisonnement par les pesticides (WHO, 1990).

Dans cette optique, un intérêt particulier est de s'orienter vers de nouvelles alternatives biologiques qui sont efficaces, à large spectre d'action et peu toxiques tel que les microorganismes. Ces derniers sont connus depuis fort longtemps pour leur utilisation dans le domaine de lutte biologique et leur valorisation prend de plus en plus de l'ampleur. Choudhary et al. (2009) considèrent que le contrôle biologique des phytopathogènes ciblés et l'amélioration de la production des céréales en diminuant le risque de contamination de l'environnement, par l'introduction de

micro-organismes bénéfiques dans la rhizosphère qui peut être une solution de rechange ou complémentaire à l'utilisation des produits chimiques. Parmi ces microorganismes, les champignons mycorhiziens à arbuscule (CMA) et les bactéries amélioratrices de la croissance appelées PGPR (Plants Growth- Promoting Rhizobacteria) (Smith et *al.*, 2003).

L'objectif de notre projet de fin d'étude, et vu la situation sanitaire qui nous ne nous a pas permis d'effectuer une expérimentation au laboratoire et au terrain, est de réaliser un document bibliographique qui reporte l'importance des microorganismes bénéfiques à la rhizosphère et surtout celle lie aux céréales vu l'impact économique de ces cultures en Algérie.

- 1- La partie bibliographique qui parle des céréales, leur importance et les microorganismes bénéfiques, leur rhizosphère avec les avantages qu'ils apportent.
- 2- Une étude expérimentale est réalisée sur un type de microorganismes bénéfiques dans le but d'augmenter la production des céréales qui s'intitule : **l'effet d'inoculation des PGPR sur les variétés de croissance de Blé dur**. Cette étude est réalisée par : **Sebihi F. Z, Saudi M, Derouiche F, Bendjemana K., Benguedouar A, Benhizia Y, et Sanchez J.** en 2020.
- 3- Et une conclusion qui reporte les points importants à retenir et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I). Les céréales

1. Généralités sur les céréales

Les céréales (le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs, le riz, le millet, le sorgho) sont des espèces monocotylédones généralement cultivées pour leur grain (Mouille, 1971). Ils appartiennent à la famille des Graminées (Poacées) qui divisent en deux sous familles : Festucoïdées et Panicoïdées (Mouille, 1971 ; Guignard et Dupont, 2004).

Les céréales sont constituent un élément fondamental dans les traditions culinaires algériennes (Hamou *et al.*, 2009). La filière des céréales englobe des activités de production et de transformation en semoulerie, en boulangerie dans l'industrie agroalimentaire.

Elles occupent à l'échelle mondiale, une place primordiale dans les programmes de recherche agricole, cependant sont considérés comme une principale source de la nutrition humaine et animal (Salma *et al.*, 2005).

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie, elles couvrent près de 80% de la surface agricole utile (SAU), aussi occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (MADR, 2005).

Les productions céréalières demeurent toujours irrégulières et les rendements obtenus à travers les années ont connu peu d'évolution positive (MADR, 2006), causées par nombreuses maladies qui attaquent différents stades de leur cycle de développement. Parmi les moyens de lutte biologique contre ces maladies est l'utilisation des micro-organismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales comme une solution alternative ou complémentaire à des produits chimiques. Ces microorganismes (rhizobactère PGPR et les champignons endomycorhiziens) jouent un rôle important comme des inoculants pour l'induction de la résistance, le biocontrôle, la biofertilisation et la phytostimulation des cultures céréalières (Choudhary *et al.*, 2009).

2. Les céréales les plus importantes

Les céréales sont aujourd'hui la base de nombreux produits qui constituent notre alimentation quotidienne, sont classés en trois groupes :

- **Premier groupe** : le blé, l'orge, le seigle, l'avoine
- **Un deuxième grand groupe** est formé par le maïs
- **Un troisième grand groupe** est ordonné autour du riz (Alais et *al.*, 2003)

2.1. Le blé

L'ensemble des espèces de blé appartiennent au genre *Triticum* et de la famille Graminées (Feillet, 2000). C'est une des premières céréales cultivées dans le monde. D'après Soltner (2005) cette plante annuelle au cycle végétatif de 250 à 280 jours.

Il se compose de :

- la tige rectiligne creuse est cloisonnée par des nœuds pleins et renflés : ce genre de tige a reçu le nom de chaume.
- Les feuilles qui prennent naissance au niveau des nœuds sont disposées en deux rangées opposées autour de la tige.
- L'épi est composé de petits épis ou épillets. Chaque épillet est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes.
- La fleur est verdâtre et dépourvue de corolle : il n'y a pas de pétales colorés.

Les deux principales espèces actuellement cultivées sont le *Triticum aestivum* et *Triticum durum*.

2.1.1. Blé tendre (*Triticum aestivum*) (Figure1) : C'est une espèce riche en amidon et destiné à l'industrie de la meunerie cela permet d'obtenir une farine de bonne qualité (Fredot, 2012). Les principaux produits fabriqués à base de blé tendre : pain, biscottes, biscuits (Jean-Pierre et Ruth, 2018).

2.1.2. Blé dur (*Triticum durum*) (Figure 1) : cultivé dans des zones plus chaudes et plus sèches. Cette espèce est riche en amidon et en gluten avec des grains plus durs, translucides, difficiles à réduire en farine, ce qui pourrait apparaître comme un défaut pour sa qualité principale. Ces grains, que l'on dit corné, sont recherchés pour confectionner les semoules et les pâtes alimentaires (Jean-Pierre et Ruth, 2018).

2.2. L'orge

L'orge (*Hordeum vulgare*) (Figure1), est une monocotylédone de la famille des Graminées « Poaceae » (Soltner, 2005).

La distribution très large va de pair avec une diversification morphologique et adaptation très étendue. C'est une plante cultivée sur sols calcaires aux labours profonds (Zohary, 1973). D'après Soltner (2005) l'orge a un cycle végétatif court 130 à 150 jours. Elle est utilisée pour l'alimentation animale, et la fabrication de la bière (Akar et *al.*, 2004).



Figure 1: les céréales les plus importants, a)*Triticum aestivum*, b)*Triticum durum* c)*Hordeum vulgare*
(source:aujardin.info)

3. Origine et répartition géographique des céréales

3.1 Origine

La culture des céréales est très ancienne, Le riz, le millet, le sorgho et le blé étaient cultivés 2700 ans avant notre ère en Chine, les Égyptiens de l'ancienne Égypte connaissait le blé et le sorgho. Les céréales ont d'autre part joué un rôle capital dans le développement de l'humanité, la plupart des civilisations se sont développées autour d'une culture céréalière :

- les civilisations asiatiques, autour de la culture du riz.
- les civilisations précolombiennes, autour du maïs.

- les civilisations babyloniennes et égyptiennes, autour du blé (Mouille, 1971).

En Algérie, les travaux de Laumont s'appuyant sur l'archéologie, l'histoire et la phylogénie indiquent que les céréales ont dû être cultivées depuis fort longtemps, ce qui a permis aux agriculteurs d'en faire un usage alimentaire traditionnel (Benbelaid, 1991).

3.2. Répartition géographique

a. Au niveau mondial : En 2019/2020, 709 millions d'hectares de céréales sont cultivés dans le monde, soit 51 % des terres arables, 14 % de la surface agricole mondiale et 5 % des terres émergées du monde, et 2,7 milliards de tonnes de céréales ont été produites. Les premier pays producteurs de céréales: La Chine, suivie de l'Inde, l'union européenne (EU), Russie, la France et Canada (Figure 2).

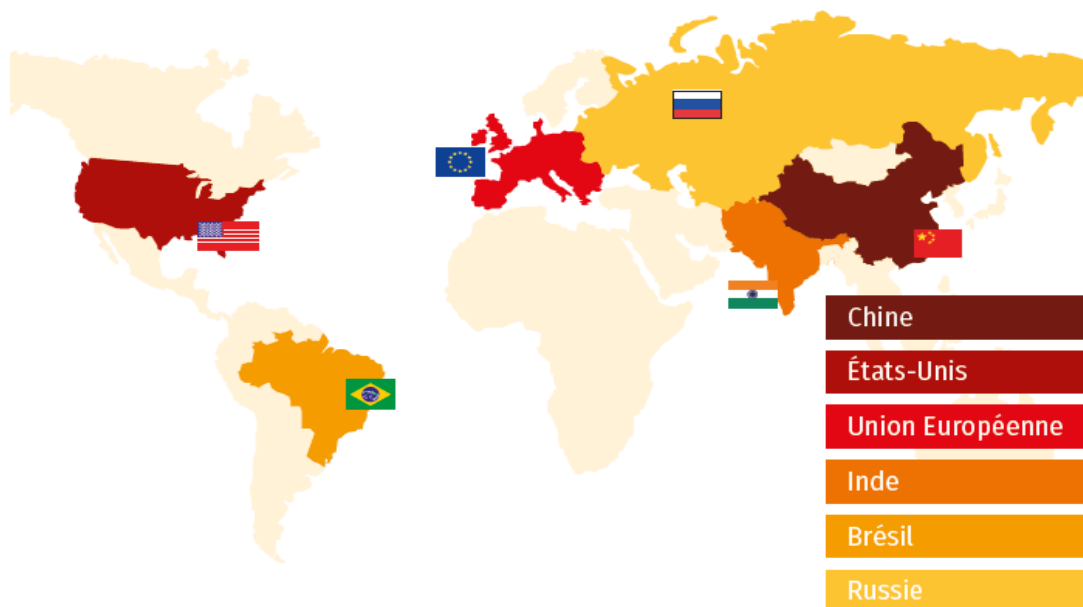


Figure 2 : carte géographique représente les producteurs de céréales 2018 (Passion Céréales, 2018).

b. Au niveau Algérien : durant les deux périodes 2000-2009 et 2010-2017, la superficie des céréales occupe en moyenne annuelle 40% de la Superficie Agricole Utile (SAU) (MADR, 2017).

La superficie enssemencée en céréales durant la décennie 2000-2009 est évaluée à 3 200 930 ha, desquelles, le blé dur et l'orge occupent la majeure partie de cette superficie avec 74% de la sole céréalière totale (MADR, 2017).

Durant la période 2010-2017, cette superficie a atteint en moyenne 3 385 560 ha, en évolution de 6% par rapport à la période précédente (2000-2009) (MADR, 2017).

Les wilayas pionnières en matière de production des céréales en 2017 sont : la wilaya de Tiaret, suivie de Tlemcen et la wilaya de Bouira (Figure 3) (APS, 2018).

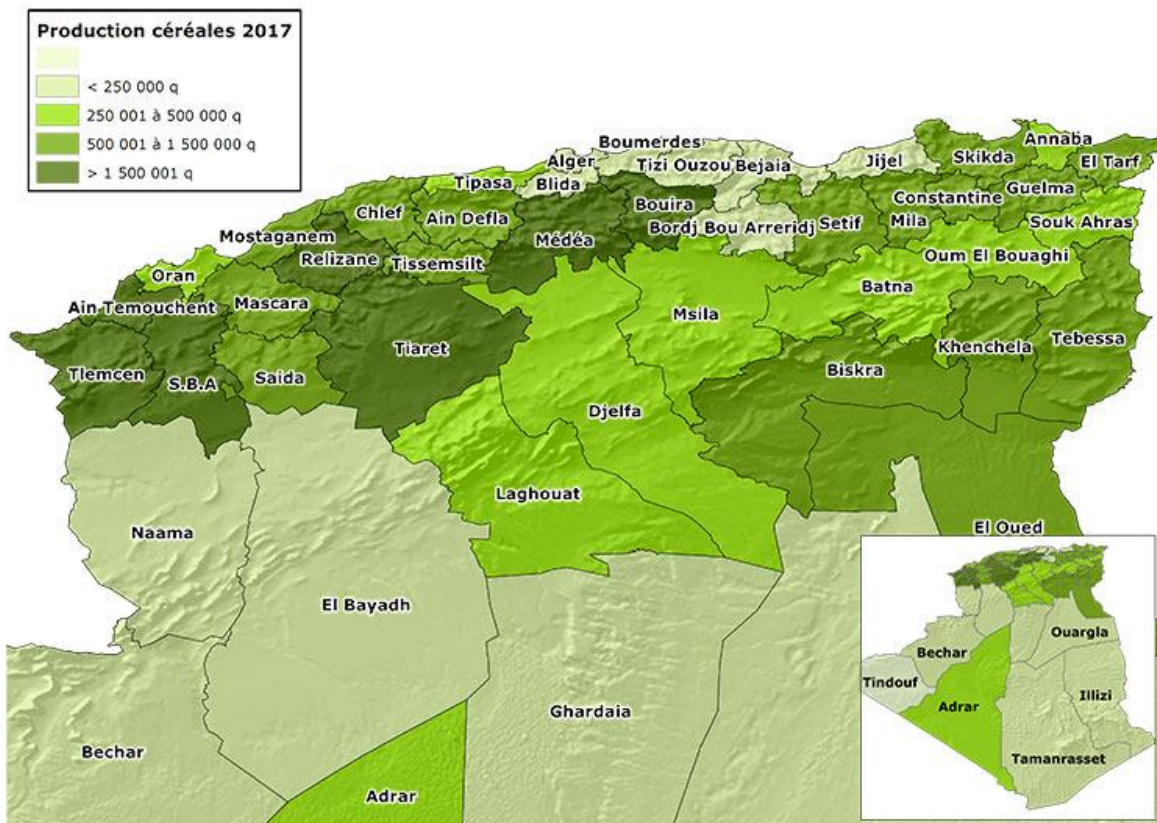


Figure 3 : carte géographique représente la production des céréales en Algérie 2017 (MADR, 2017).

4. Importance économique des céréales

4.1. Importance économique des céréales dans le monde

Les estimations de la FAO concernant la production céréalière mondiale en 2019 se maintiennent à 2,72 milliards de tonnes, de plus que le faible niveau enregistré en 2018. En revanche, les prévisions relatives à l'utilisation mondiale de céréales en 2019-2020 ont été réduites de 24,7 millions de tonnes (FAO, 2020).

Concernant l'utilisation mondiale des céréales en 2020-2021 ont été relevées de 11,0 millions de tonnes par rapport au mois dernier et s'établissent à présent à 2 777 millions de tonnes, soit une hausse de 2,4 %t par rapport au niveau de 2019-2020 (FAO, 2021).

Les prévisions de la FAO concernant les échanges mondiaux de céréales en 2020-2021 ont été légèrement relevés depuis le mois dernier et portées à 466 millions de tonnes, soit une progression de 5,8 % par rapport à 2019-2020(FAO ,2021).

Les stocks mondiaux de céréales à la clôture des campagnes de 2021 devraient reculer de 1,7 % par rapport à leurs niveaux d'ouverture et s'établir à 808 millions de tonnes, après une baisse de 3,3 millions de tonnes par rapport aux prévisions du mois dernier (FAO, 2021).

4.2. Importance économique des céréales en Algérie

Le total de la production nationale des céréales est de 3,6 millions de tonnes, soit 2 Millions de tonnes de blé dur, 1 million de tonnes d'orge et 6361849 tonnes de blé Tendre. Selon le bilan de la campagne céréalière 2014 /2015(Figure 4), quinze (15) wilayas ont enregistré une production dépassant la barre d'1 million de quintaux, les wilayas de Tiaret et Ain Temouchent se classent successivement première et deuxième avec près de 3,5 millions pour la première wilaya et près de 2,5 millions pour la seconde. La wilaya de Constantine a enregistré 1083100 quintaux de blé dur, 412 780 quintaux de blé tendre et 99790 quintaux d'orge. La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg/ hab/an (Chehat, 2007).

Les productions céréalières en Algérie demeurent toujours irrégulières et semblent être étroitement liées à un certain nombre de facteurs dont l'un des principaux est d'ordre phytosanitaire. Aussi l'importance des pertes provoquées par l'action des parasites sur les céréales est extrêmement difficile à apprécier. Les réductions de rendement causées par les maladies et ennemis naturels des céréales et les conditions climatiques comme la hausse de la température, l'augmentation du CO2 dans l'atmosphère, la diminution des précipitations, La sécheresse et en particulier le déficit hydrique. Tous ces facteurs affectent le secteur agricole et le secteur économique.

L'importance économique appréciée à travers trois principaux paramètres : la production, la consommation et les importations.

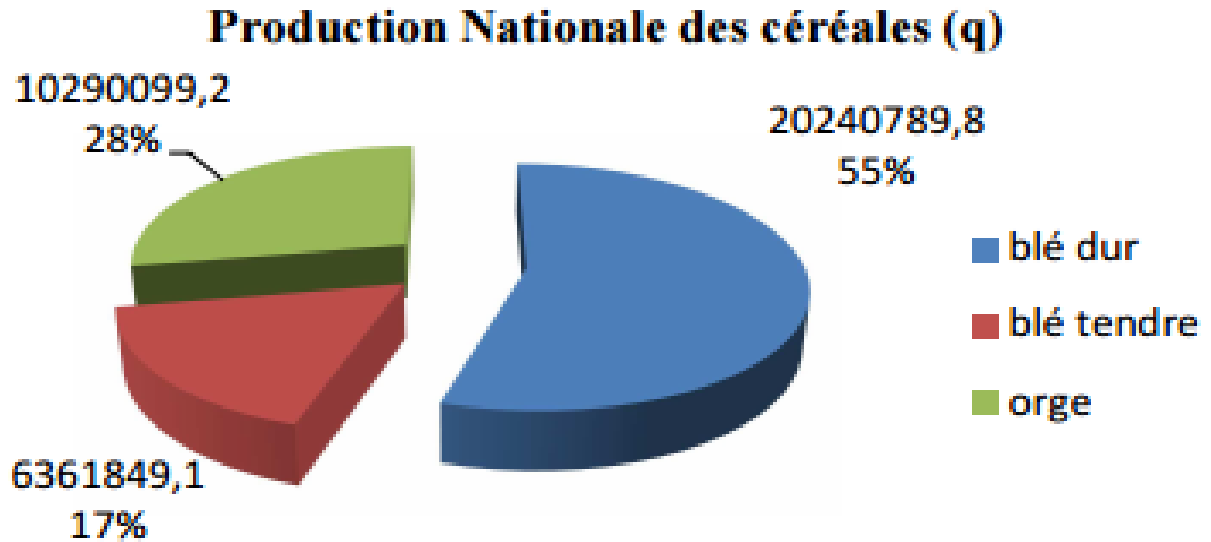


Figure 4 : Production nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015 (MADR, 2015).

5. les maladies des céréales

5.1. Les maladies bactériennes

Ce sont des pathogènes très courants sur les cultures, dans les matières organiques en décomposition et dans le sol (Tab1) (Laffont, 1985).

5.2. Les maladies fongiques

Les champignons sont des micro-organismes. La plupart d'entre elles existent sous forme de mycélium. La plupart des champignons pathogènes sont des saprophytes facultatifs capables de croître sur cultures ou sur tissus de plantes mortes ; d'autres sont des parasites obligatoires qui existent seulement en association intime avec des plantes vivantes (Weise, 1987 ; Nasraoui, 2006).

La plupart des maladies (environ 80 %) des plantes cultivées, sont dues aux champignons microscopiques, (Geigy *et al.*, 1985 ; Lepoivre, 2003 ; Nasraoui, 2006).

Tableau 1: quelques bactéries phytopathogènes affectant les cultures des céréales(INA, 2015)

Maladies	Symptômes	Agent causal
Maladies à <i>Pseudomonas</i>	Nécrose bactérienne des céréales	<i>Pseudomonas syringae pv .syringae</i> <i>Pseudomonas syringae pv .strafaciens</i>
	Pourriture basale des glumes	<i>Pseudomonas syringae pv. atrofaciens</i>
Maladies à <i>Xanthomonas</i>	Rayure bactérienne	<i>Xanthomonas campestris pv. translucens</i>

Tableau 2. Certaines maladies et les agents fongiques spécifiques aux céréales (Mallek, 2017).

Maladies	Agent causal
Le Rhizoctone	- Agent du rhizoctone sur blé, orge et avoine : <i>Rhizoctone solani</i> KUHN
Les Charbons	-Agent du charbon couvert de l'orge : <i>Ustilago hordei</i> (PERS) LAGERM
L'Oïdium	- Le blanc : <i>Erysiphe graminis</i>

5.3. Les maladies virales

Les céréales sont sujettes aux viroses, depuis fort longtemps mais l'incidence économique de ces maladies a pris de l'importance ces dernières années, surtout pour celles qui se transmettent par des vecteurs (Tabl 3) (Cornuet, 1987).

Tableau 3. Principaux virus décrits sur céréales (Mallek, 2017).

Maladie	Nom du Virus	Plantes Hôtes	Vecteurs
Mosaïque nanisant ou jaunisse nanisant de l'orge	BYDV/VJNO	Orge, Blé, Avoine, Seigle, Mais	<i>R.padi</i> , <i>S.avenae</i> , <i>M.dirhodum</i> (Pucerons)
Marbrure chlorotique des céréales	CCMV	Céréales	<i>Cicadulina bipunetella</i> (Cicadelle)
Mosaïque striée d'orge	BSMV	Orge, Blé	Pollen, Ovule

Tout au long de cycle de vie, les céréales et les agents pathogènes interagissent avec une grande variété d'organismes ; ces interactions peuvent affecter la santé des plantes d'une manière positive et/ou négative (Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et *al.*, 2005). Les maladies des céréales sont causées par les microorganismes pathogènes en altérant la plante à différente partie. Cela va diminuer leur immunité et déséquilibrer leur rendement. Les intrants chimiques sont efficaces sur le rendement des cultures et le développement d'agriculture intensive, mais leur utilisation abusive néfaste sur l'environnement et la santé humaine.

La diversité des populations microbienne rhizosphérique plus précisément les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère est une proposition alternative et/ ou complémenter à l'utilisation des produits chimiques. Ces microorganismes bénéfiques confèrent une lutte biologique des maladies dont une résistance à un large spectre d'agent pathogènes, avec un impact minimal sur la croissance et le rendement des cultures des céréales (Van Hulten et *al.*, 2006).

II. les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère en général

1- Généralité sur la rhizosphère

Hiltner en 1904 à définir le terme de « rhizosphère » (rhiza = racine, sphair = ce qui est autour) et qui correspond au volume de sol influencé par l'activité racinaire (Hinsinger et *al.*, 2009). La rhizosphère est définie aujourd'hui comme étant le lieu d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes, cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire (Kennedy et Luna, 2004). Les microorganismes qui se trouvent dans la rhizosphère sont des bactéries, des champignons, des protozoaires, des virus et des algues (Paul et Clark, 1996). Parmi les plus bénéfiques : les rhizobactéries PGPR et les champignons mycorhiziens.

Selon Barea et *al.*, (2005) il existe trois composantes distinctes reconnues dans la rhizosphère (Figure 5) :

- 1. La rhizosphère** : qui est la zone du sol influencée par les racines grâce à la libération de substrats qui affectent l'activité microbienne.
- 2. La rhizoplan** : qui est la surface de la racine, y compris les particules du sol adhérant fortement.
- 3. La racine elle-même (endorhizosphère)** : est une partie du système racinaire, parce que certains micro-organismes endophytes sont capables de coloniser les tissus racinaires internes (Bowen et Rovira, 1991).

Les composantes physico-chimiques et biologiques de la rhizosphère diffèrent nettement de celles d'un sol cultivé et non cultivé (Morgan *et al.*, 2005 ; Cregut, 2009). Ainsi, les racines, par leur activité modifient directement ou indirectement les propriétés physico-chimiques mais aussi biologiques du sol environnant. Les différents mécanismes de ces interactions complexes sont souvent résumés sous le terme « d'effet rhizosphérique » (Lemanceau et *al.*, 1998).

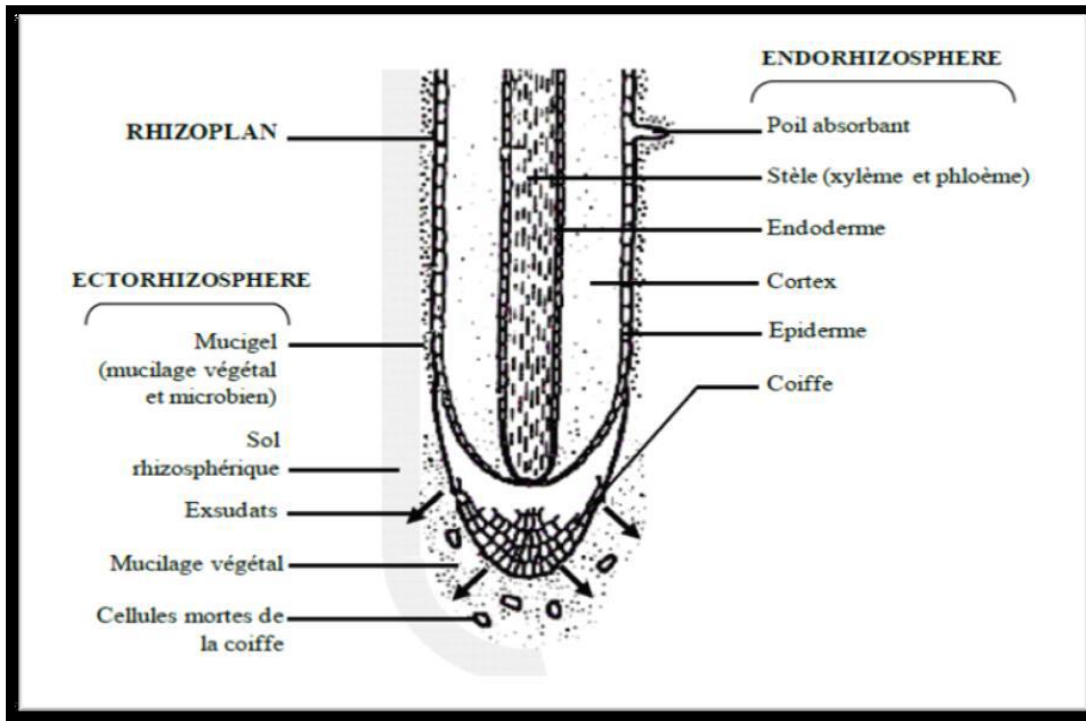


Figure 5 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepnay, 2015).

1.1. Activité de la rhizosphère

1.1.1. Activités liées aux racines des plantes

Des phénomènes écologiques particuliers se produisent au niveau de la rhizosphère. En effet, les racines libèrent beaucoup de matières organiques sous forme de mucilage, des exsudats et plus de 40% des produits de photosynthèse passent au niveau du système racinaire (Soufiane, 1989). L'exsudation ; ce terme souvent employé abusivement comme synonyme de rhizodéposition. Elle désigne en fait la diffusion passive hors des cellules de composés solubles de faible poids moléculaires, par exemple des sucres ou des acides aminés, qui sont rapidement métabolisés par les microorganismes (Davet, 1996 ; Anouar, 2012).

Dans le cas des rhizobactéries, les exsudats racinaires représentent un élément clé dans les échanges entre la plante et les PGPR, dont la densité et la diversité microbienne au tour des racines est en liaison directe avec la nature et la quantité des exsudats racinaires, cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante (Lemanceau, 1992).

1.1.2. Activités liées aux microorganismes

La rhizosphère est constituée d'un ensemble de microorganismes, elle comprend des bactéries, des champignons, des protozoaires et des virus. Ces microorganismes jouent un rôle primordial dans les cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote et d'autres éléments, leur distribution est hétérogène et dépend des facteurs nutritionnels et des facteurs physico-chimiques (Prescott *al.* 2003).

De nombreuses symbioses et synergies sont observées entre plantes, bactéries et champignons du sol (Hinsinger *et al.*, 1996). Les interactions entre les bactéries et les plantes sont dynamiques et complexes, elles peuvent être classées en trois catégories :

-Neutre : qui n'a aucun effet visible sur la croissance et la physiologie de la plante (Beattie, 2006).

- Négatif : qui influence sur la croissance et la physiologie de la plante tel que les phytopathogènes (Beattie, 2006).

-Positif : qui stimulent la croissance des plantes par la production d'hormones et d'autres éléments favorisant directement la croissance de la plante ou indirectement par la production de substances capables de supprimer ou ralentir la croissance et le développement des agents phytopathogènes (Whipps, 2001 ; Beattie, 2006).

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs. La concentration bactérienne dans la rhizosphère est de 10 à 1000 fois supérieure à celle du sol. Pour maintenir leurs effets bénéfiques dans la rhizosphère, les bactéries doivent être performantes et compétitives pour l'espace et les nutriments vis-à-vis de la microflore native (Goudaa *et al.*, 2018). Les mycètes sont également présents dans le sol. Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols (Noumeur, 2008).

La répartition des bactéries dans la rhizosphère selon les compartiments de la plante qu'ils occupent, on distingue :

- ❖ Les bactéries vivant dans le sol près des racines (rhizosphère), utilisant des métabolites libérés par les racines comme sources de carbone et d'azote pour leur croissance.
- ❖ Bactéries colonisant la rhizoplan (surface radulaire).
- ❖ Les bactéries qui résident dans les tissus des racines, qui habitent les espaces entre les cellules corticales (endophytes).
- ❖ Des bactéries vivant à l'intérieur des cellules dans les structures profondes spécialisées (les nodules : bactéries fixatrices d'azote) (Gray et Smith, 2005).

1.3. Les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère :

La rhizosphère est colonisée naturellement par des bactéries bénéfiques telles que les rhizobactéries et des champignons bénéfiques comme les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) qui améliorent le développement des végétaux (Lugtenberg *et al.*, 2013).

Près de 5% des rhizobactéries favorisent la croissance des plantes et les protègent contre les agents pathogènes (Suslow, 1982 ; Beauchamp, 1993). Ainsi que les CMA intervient dans l'amélioration des rendements des plantes, l'augmentation de l'absorption des éléments nutritifs (Sahraoui *et al.*, 2013).

2.1. Champignons bénéfiques

Les champignons sont l'une des composantes majeures de l'ensemble des organismes vivants des sols. Parmi ces champignons qu'ils sont bénéfiques aux rhizosphères sont des mycorhizes, qui entretiennent des relations très intimes avec la plante. Ils apportent à la plante des éléments nutritifs, essentiellement le phosphore, utiles à sa croissance, et d'autre part ils renforcent ses défenses naturelles vis-à-vis de stress d'origine biotique ou abiotique.

Les associations symbiotiques plante-champignon étant les plus répandues dans les écosystèmes terrestres (Smith et Read, 2008). Cette association mutualiste est caractérisée par un échange bidirectionnel généralement bénéfique pour la plante photosynthétique que pour le champignon (Jakobsen, 1999). Parmi ces interactions, les plus fréquentes sont celles qui intéressent plus de 90%

des plantes terrestres (Sanders et *al.*, 1996), qui font intervenir un groupe de champignons de la classe des Glomeromycètes : ce sont les Champignons Mycorhiziens à Arbuscules. Ils constituent le principal groupe de champignons mycorhiziens car ils sont capables de coloniser la majorité des familles de plantes, Particulièrement les plantes à valeurs économiques importantes (Demars et Broener, 1995).

On distingue d'autres types des champignons mycorhiziens :

- Les ectendomycorhizes: présentent à la fois les caractères structurales des ectomycorhizes et des endomycorhizes, par la présence du manteau mycélien et le développement d'hyphes inter et intracellulaires
- les ectomycorhizes: sont des champignons qui se développent essentiellement autour de la racine, sans jamais entrer à l'intérieur de ces dernières.(Mosse, 1973 ;Smith et Read, 2008) .

2.2. Les bactéries bénéfiques

Plusieurs chercheurs ont identifiés des bactéries du sol possédant des propriétés bénéfiques pour les plantes tant pour leur croissance que pour leur santé. Ils ont regroupés ces bactéries sous le nom de PGPR (Plant-Growth-Promoting-Rhizobacteria). Les PGPR sont retrouvés dans la rhizosphère, à la surface des racines ou encore en association avec les racines dû à la richesse des nutriments disponibles (Ahmad., 2008).

Les PGPR peuvent influencer la croissance des plantes de façon directe ou indirecte (Figure 6). Les mécanismes impliqués directement sont la sécrétion d'hormones (auxines, gibberellines, cytokinines, Acide indole acétique(AIA)...etc.) ou en facilitant l'absorption de nutriments (fixation d'azote, solubilisation de phosphate ou de potassium et synthèse de sidérophores). Indirectement, les PGPR vont aider la croissance des plantes via la sécrétion d'antibiotiques ou d'enzymes limitant les phytopathogènes (Glick et *al.*,2007).

Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées comme étant PGPR, notamment des bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium*, qu'ils sont la

capacité de fixer l'azote et de produire et améliorer l'absorption d'autres éléments nutritifs importants à la plante (Hayat *et al.*, 2010). *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Acidovorax*, *Caulobacter*, et *Sphingomonas*, ces genres sont connus pour être fortement tolérants aux métaux (Mengoni *et al.*, 2001 ; Abou-Shanab *et al.*, 2003, 2007 ., Oline, 2006 ., Pal *et al.*, 2007 ; Rajkumar et Freitas, 2008 ., Turgay *et al.*, 2011).

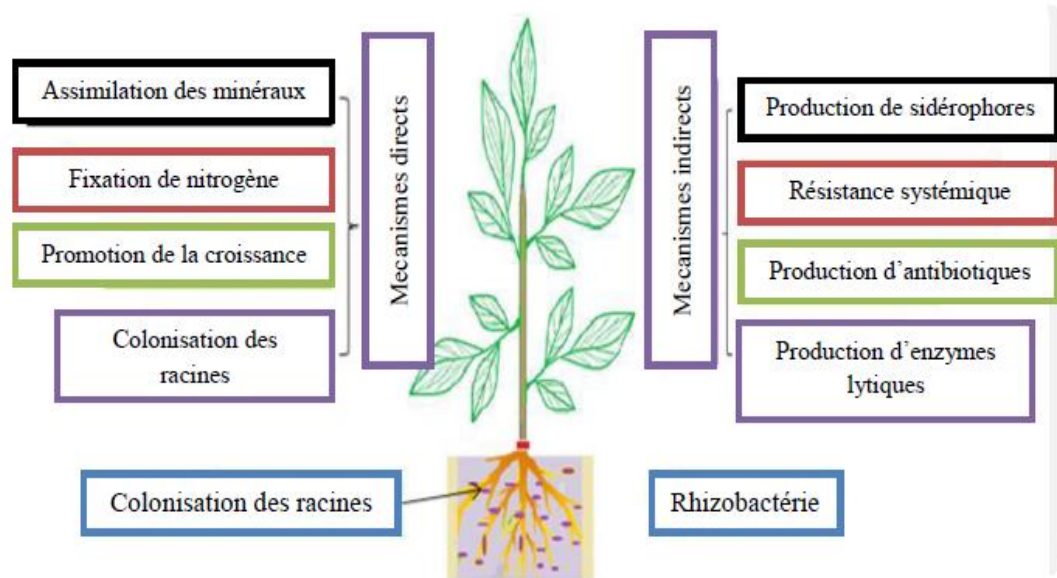


Figure 6 : Représentation schématique des mécanismes d'action directe et indirecte employés par les PGPR (Ngoma *et al.*, 2012).

2. La lutte biologique en agriculture avec les microorganismes

L'agriculture est affectée par des stress biotiques et abiotiques, qui diminuent le rendement et engendrent un revenu faible.

Les produits agricoles doivent être obtenus sans utilisation de produits chimiques de synthèse. Pour répondre à cette exigence, la lutte biologique par l'intervention des microorganismes qui semblent une meilleure méthode alternative proposée pour assurer une protection phytosanitaire performante, et l'amélioration de rendement agricole par la réduction ou suppression des espèces considérées comme nuisibles (des pathogènes) (Choudhary *et al.*, 2009).

Plusieurs microorganismes bénéfiques ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008), entre autres les bactéries PGPR et les champignons mycorhiziens. Ils ont la possibilité de stimuler les défenses des plantes, ce qui provoque une résistance systémique chez elles, produisent des composés stimulant leur croissance, accélèrent l'émergence des graines et induisent une floraison précoce. Ils peuvent apporter plusieurs avantages aux plantes, leurs effets significatifs ont été observés sur diverses cultures agricoles, y compris les céréales et d'autres espèces de plantes importantes.

III) les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales

Les nouveaux procédés biotechnologiques de reproduction ou de multiplication des céréales par la méthode d'inoculation des plantes par les microorganismes bénéfiques tels que les champignons endomycorhiziens et les PGPR. Ces microorganismes permettent à la plante de mieux croître (biostimulation) et/ou se défendre contre les agents pathogènes (biocontrôle).

1. Les champignons mycorhiziens arbusculaires « endomycorhizes »

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre des champignons du sol et les racines des plantes. Le principal fondement physiologique de cette symbiose est un partage bidirectionnel d'éléments nutritifs. La plante fournit au champignon des composés carbonés produits par la photosynthèse et en retour, le champignon approvisionne la plante en éléments minéraux et en eau provenant du substrat (Hodge *et al.*, 2010 ; Hopkins, 2003 ; Smith et Read, 2008).

Les champignons les plus abondants dans les sols cultivés et au niveau de la rhizosphère des céréales sont les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA). Ils constituent 5 à 50 % de la biomasse microbienne des sols (Olsson *et al.*, 1999).

Les endo-mycorhizogènes sont des champignons appartenant au groupe des Glomeromycètes. Ils sont capables de coloniser les racines de très nombreuses espèces végétales, comme les céréales. Ces champignons sont incapables de se développer dans le sol, en absence des racines d'une plante-hôte. Le tube germinatif, provenant de la germination de la spore fongique, adhère à la racine puis y pénètre pour former un réseau d'hyphes intracellulaires qui forment ce que l'on appelle des arbuscules. Ces arbuscules, où la membrane plasmique de la cellule végétale est au contact de la membrane du champignon, constituent une grande surface d'échanges entre la racine et le champignon. A partir de la racine mycorhisée, le champignon développe dans le sol un dense réseau d'hyphes, qui contribuent à augmenter considérablement le volume de sol exploré par les racines de

la plante. Ce ne sont pas uniquement des éléments minéraux mais aussi des ressources hydriques qui sont mis à la disposition de la plante via ce réseau. C'est pourquoi les champignons mycorrhizogènes contribuent à aider la culture céréales à résister à des stress abiotiques et biotiques. Ils peuvent aussi jouer un rôle protecteur face aux bio-agresseurs racinaires (Brito *et al.*, 2008) car les changements architecturaux et biochimiques au niveau des racines peuvent repousser les attaques de pathogènes (Lewandowski *et al.*, 2013). La plante sera aussi plus tolérante à de nombreux stress car le champignon forme en quelque sorte une première barrière qui protège les racines. Aussi pourra mieux résister aux conditions de sécheresse et être tolérantes aux variations de températures, pH, salinités (Ben Khaled *et al.*, 2003) ou encore aux métaux toxiques (Brito *et al.*, 2008).

Les champignons mycorrhiziens confèrent plusieurs avantages à la plante, Parmi les : la protection contre les pathogènes et l'absorption des éléments nutritifs.

1.1. La protection contre les pathogènes

La colonisation des racines par des champignons mycorrhiziens à arbuscule peut conduire à la protection des plantes contre une large gamme de pathogènes racinaires (Hayek, 2012), principalement contre les champignons et les nématodes qui attaquent les racines des plantes (Dalpé, 2005 ; Helgason et Fitter, 2005 ; Dalpé, 2006 ; Fortin *et al.*, 2008), c'est le cas chez les plantes céréalières. La symbiose peut réduire l'incidence et la gravité des maladies causées par différents agents pathogènes des racines (Dehne et Schönbeck, 1979 ; Dehne, 1982 ; Benhamou *et al.*, 1994 ; Cordier *et al.*, 1998 ; Yao *et al.*, 2003 ; Li *et al.*, 2006).

Le développement de mycorhizes à arbuscule réduit constamment le développement des maladies causées aux racines par un nombre important d'agents pathogènes présents dans la rhizosphère. Les effets les plus fréquemment rapportés concernent la réduction de :

- L'incidence et/ou de la gravité de la pourriture des racines ou du flétrissement causé par des champignons pathogènes tels que *Rhizoctonia*, *Fusarium* ou *Verticillium* .
- La pourriture des racines causée par des Omycètes comme les *Phytophthora*, *Pythium* ou *Aphanomyces*.
- Les effets néfastes causés par les nématodes parasites comme *Pratylenchus* ou *Meloidogyne*.

La mycorhization entraîne la plante dans un état actif d'immunisation qui lui permet d'être plus efficace dans ses réponses aux attaques des pathogènes (Ismail et Hijri, 2012 ; Jung *et al.*, 2012). Finalement, il a aussi été montré que certains champignons mycorrhiziens, comme *Glomus*

irregulare, peuvent contrôler la croissance des champignons pathogènes et réduire leur production de mycotoxine (Ismail *et al.*, 2013).

1.2. L'absorption d'éléments nutritifs

Les mycorhizes contribuent à l'absorption des éléments nutritifs par les plantes, particulièrement du phosphore, qui est un élément nutritif indispensable à la croissance des plantes. Il s'agit donc d'un avantage nutritif très significatif pour le développement des végétaux.

Les mycorhizes permettent à la plante de bénéficier d'une meilleure absorption du phosphore grâce au réseau d'hyphes du champignon qui colonisent le sol et qui offrent une plus grande surface d'absorption avec le substrat (Hopkins, 2003 ; Finlay, 2004 ; Helgason et Fitter, 2005 ; Plenchette *et al.*, 2005). Certains hyphes peuvent se développer à plus de 10 centimètres de la surface de la racine. Cette taille est près de 100 fois supérieure à celle des poils absorbants des racines (Grant *et al.*, 2005). Le réseau d'hyphes s'étend donc au-delà de la zone d'appauvrissement de phosphore biodisponible qui se forme rapidement autour des racines (Figure7), ce qui permet à la plante d'accéder à un plus grand réservoir de phosphore (Helgason et Fitter, 2005 ; Plenchette *et al.*, 2005 ; Smith et Smith, 2012 ; Zimmerman *et al.*, 2009).

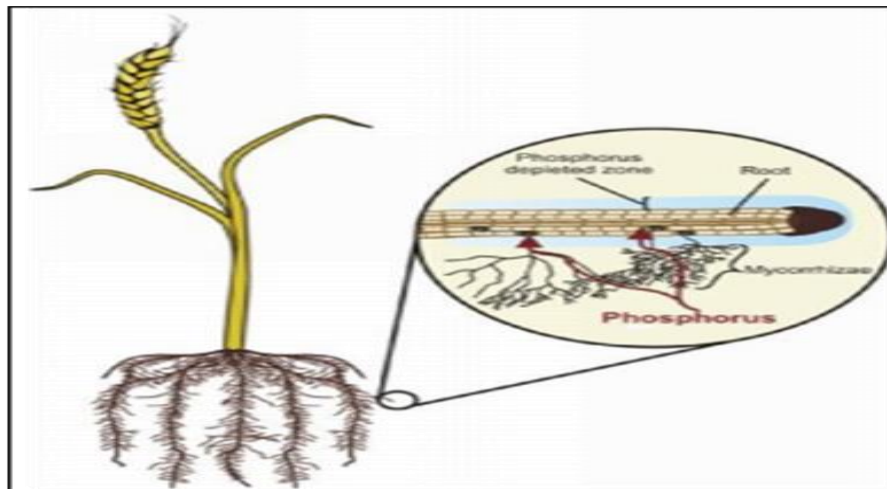


Figure 7 : Impact des mycorhizes sur l'absorption des éléments minéraux des plantes (Roy-Bolduc et Hijri, 2010)

Les mycorhizes permettent aussi d'améliorer la solubilisation du phosphore dans le sol. En effet, les champignons mycorhiziens interagissent avec les microorganismes de la rhizosphère et favorisent le développement de bactéries qui sécrètent des acides organiques chargés de solubiliser le phosphore (Barea *et al.*, 2002). Dans des sols de pH neutre ou calcaire, les champignons mycorhiziens peuvent acidifier le sol grâce aux acides organiques, favorisant ainsi la solubilisation du phosphore. Dans un sol acide, les champignons mycorhiziens peuvent excréter des agents chélateurs qui libèrent le phosphore des molécules de fer et d'aluminium du sol. Aussi, certaines études affirment que les champignons mycorhiziens peuvent produire des phosphatases, des enzymes permettant de mobiliser le nutriment à partir de sources biologiques (Grant *et al.*, 2005).

D'un point de vue écologique, la symbiose a plusieurs avantages car en conséquence de ce qui est dit précédemment, peut réduire les apports d'engrais (estimé à 30 %), de produits phytosanitaires et limiter l'érosion.

2. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)

Les rhizobactéries PGPR représentent de 2 à 5% de la totalité des rhizobactéries et exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes (Antoun et Kloepper, 2001), la fixation de l'azote moléculaire (N^2), la dissolution ou la chélation de diverses substances nutritives minérales et la solubilisation du phosphore insoluble (P) (Gupta *et al.*, 2000 ; Podile et Kishore, 2006). Ce sont aussi des microorganismes ayant la faculté de produire ou de changer la concentration des régulateurs de croissance tels que les cytokinines, et l'éthylène ainsi que la production d'auxine qui modifie la croissance racinaire, la production d'exo-polysaccharides qui diminue l'effet des stress chimiques ou hydriques ect, peuvent aussi concerner des échanges de signaux moléculaires (Berge, 2011). Khakipour *et al.*, (2008) considèrent que la lutte biologique contre des maladies des plantes particulièrement qui touchent les céréales par l'intervention de ces microorganismes, qu'ils sont capables de produire des hormones (Cattelan *et al.*, 1999).

A titre d'exemple, dans une variété de blé, les rhizobactéries PGPR présentent différents mécanismes d'action sur la plante (Figure 8). Certaines de ces bactéries au niveau de la rhizosphère de blé ont des effets phytobénéfiques directs (Venieraki *et al.*, 2011), *via* la réduction de l'azote atmosphérique N_2 en ammoniac NH_3 . Cette fixation de l'azote s'effectue à l'état libre (Behl *et*

al., 2012). L'inoculation de ces microorganismes peut permettre d'augmenter le rendement du blé (Behl *et al.*, 2012 ; Neiverth *et al.*, 2014). Leur diversité et leur activité varient selon le cultivar (Manske *et al.*, 2000 ; Venieraki *et al.*, 2011). Des effets positifs des PGPR sur la disponibilité du phosphore dans la rhizosphère sont également connus (Vacheron *et al.*, 2013).

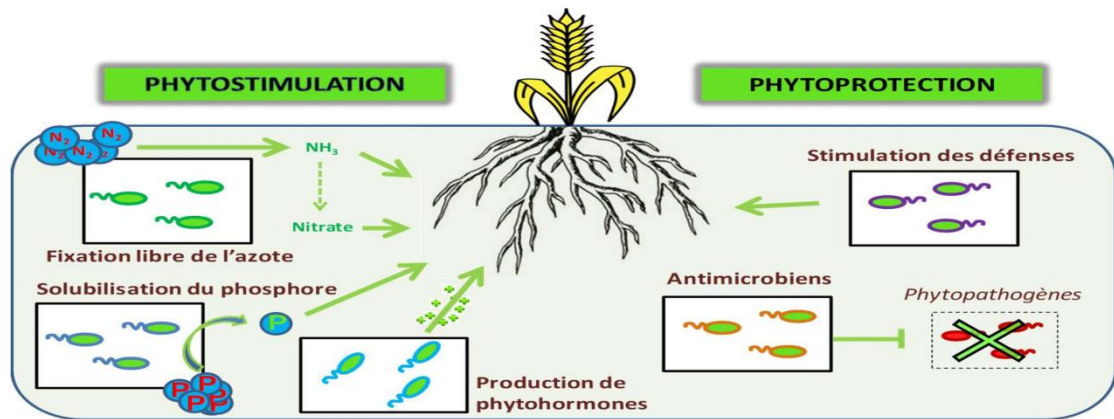


Figure 8 : Modes d'action des rhizobactéries bénéfiques, qui conduisent à des effets de phytostimulation ou de phytoprotection du blé (Vacheron *et al.*, 2013).

Les bactéries appartenant au genre *Azospirillum*, *Bacillus* et *Pseudomonas* sont les PGPR prédominantes dans la rhizosphère des céréales (Podile, 2010).

a. Le genre *Azospirillum*

Azospirillum est une bactérie mobile, à Gram négative, de genre de bactérie qui colonise les racines des Poacées, notamment des cultures importantes comme le blé, le maïs, le riz et d'autres plantes. Cette bactérie a la capacité de stimuler la croissance des racines en forme de tige de 1mm de diamètre (Mostajeran *et al.*, 2007). Elles peuvent établir une symbiose associative avec les céréales (Bashan *et al.*, 2004).

Elle est capable de fixer l'azote et convertir l'azote atmosphérique en ammoniacque grâce à l'action de la nitrogénase. De plus la production des hormones de croissance, l'acide indole-3 acétique, l'acide gibbérellique, les cytokinines ainsi que des vitamines qui favorisent l'augmentation de la surface et de la matière sèche des racines, entraînant une augmentation de l'absorption de l'eau et des minéraux. Ce qui favorise la croissance et le rendement des cultures (Hamaoui *et al.*, 2001 ; Andrew *et al.*, 2012).

L'un des principales espèces d'*Azospirillum* étudiées *Azospirillum brasilense*. Chez le blé suite aux effets de stimulation bactérienne du développement du système racinaire l'amélioration et l'acquisition de l'eau et des nutriments minéraux (Creus *et al.*, 2004 ; Behl *et al.*, 2012). *Azospirillum brasilense* produit via la voie de transduction de l'auxine oxyde nitrique, qui stimule la ramification du système racinaire (élongation des poils racinaires) (Combes-Meynet *et al.*, 2011 ; Vacheron *et al.*, 2013, 2017).

b. Le genre *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries aérobies à Gram négative, les plus étudiées (les *Pseudomonas fluorescences*), elles sont classées comme étant les meilleur candidats PGPR (Saharan et Nohra, 2011). Elles sont également en mesure de coloniser les racines des racines de diverse plantes cultivés, y compris les graminées (les céréales) (Schloter *et al.*, 1997 ; Yanni *et al.*, 2001 ; Alikhani *et al.*, 2006).

Les *Pseudomonas spp. Fluorescents* sont des phytostimulateurs de la croissance de nombreuses plantes parmi eux blé, orge, maïs... (Kloepper et Schroth, 1978 ; Latour *et al.*, 1996 ; Benchabane, 2005). Elles sont utilisées comme agents de biocontrôle d'un grand nombre de microorganismes pathogènes "phytoprotectrices", peuvent inhiber les phytopathogènes par la production d'antibiotiques (Raaijmakers *et al.*, 2002). Parmi les antibiotiques, le plus étudié est le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) (Haas et Défago 2005 ; Weller *et al.*, 2007). Elles ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase, ou le phosphore inorganique par la libération d'acides organiques (Lugtenbe *et al.*, 2013). Les acides libérés par cette bactérie agissent comme de bons chélateurs des ions Ca^{2+} bivalents qui suivent la libération de phosphates à partir de composés insolubles (Rodriguez et Fraga, 1999 ; Patel *et al.*, 2015).

Au cours des dernières années, les pucerons noir russes du blé issu de Russie sont devenus une menace sérieuse pour la production de blé au Pakistan, les agriculteurs font l'appelle à l'utilisation des PGPR précisément les souches '*Pseudomonas*' pour réduire la population des pucerons. Ces bactéries sont également utilisées comme biofertilisants inoculants, ils ont des effets directs et indirects sur la résistance des insectes ravageurs et la suppression des agents pathogènes par la production de sidérophores et de métabolites antimicrobiens.

C. Le genre *Bacillus*

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à Gram positive. Il s'agit d'une bactérie sporulée, elles colonisent le système racinaire des plantes (EPA, 2003). C'est le genre le plus abondant dans la rhizosphère. L'activité PGPR de certaines de cette bactérie a été connue depuis plusieurs années (Probanza *et al.*, 2002). Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique (Nagórska *et al.*, 2007) et capables de solubiliser le phosphate, produire les sidérophores et l'AIA, (Charest *et al.*, 2005). Cette phytohormone fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes. Les poids des tiges et des racines des plantes de blé sont influencés positivement par l'ajout de l'AIA (Narula *et al.*, 2006).

B. amyloliquefaciens et *B. subtilis* sont décrits comme producteurs d'une grande variété d'antibiotiques antibactériens et antifongiques, y compris la subtiline, la bacillisine et l'émicobacilline (Leclere *et al.*, 2005 ; Chang *et al.*, 2007). *Bacillus* possède une grande activité dans le contrôle biologique de maladies liées aux céréales. Le champignon toxigène *Fusarium* est l'un des genres significatifs associés au maïs. Certains PGPR tels que *Bacillus amyloliquefaciens* ont pu protéger le maïs contre *Fusarium verticillioides* lorsqu'ils étaient appliqués sous forme d'enrobages de semences (Pereira *et al.*, 2011). Fait intéressant, certaines espèces de PGPR semblent favoriser la croissance des plantes en agissant à la fois comme biofertilisants et comme agents de lutte biologique. Par exemple, des souches de *B. cepacia* ont été observées avec des caractéristiques de lutte biologique contre *Fusarium spp.* Simultanément, ils peuvent également stimuler la croissance du maïs dans des conditions pauvres en fer via la production de sidérophores (Bevivino *et al.*, 1998).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Introduction

Vu la situation sanitaire liée aux préventions continues contre le Covid-19, les opportunités de faire des expérimentations sont réduites surtout aux niveaux d'instituts externes. A cet effet, et pour concrétiser un peu l'aspect bibliographique de notre thème, nous avons opté pour une recherche expérimentale où nous avons visé surtout le protocole utilisé pour :

- Isoler et purifier les souches PGPR de genre *Enterobacter*, *Enterobacter asburiae*, *Paenibacillus glucanolyticus* et *Serratia sp.*
- Tester l'activité antifongique des bactéries PGPR sur deux isolats *Fusarium* : *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminiarum*.
- Stimuler la rhizosphère des variétés de blé dur.

Cette recherche a été tirée de l'article intitulé « **L'effet d'inoculation des PGPR sur les variétés de croissance de Blé dur** » réalisé par : **Sebihi F.Z, Saoudi M, Derouiche F, Bendjemana K., Benguedouar A, Benhizia Y, et Sanchez J** en 2020 (Annexe).

Pour les besoins de notre travail bibliographique, nous avons sélectionné quelques essais qui visent :

- L'effet des microorganismes étudiés, qui sont les bactéries PGPR, isolés d'une rhizosphère de blé d'une région de l'est d'Algérie, dans la wilaya de Constantine,
- L'évaluation du potentiel des PGPR sur cinq variétés de blé dur : effet protecteur (par action antagoniste) et stimulateur de la croissance.

1- Isolement des bactéries PGPR

Les isollements ont été effectués à partir du sol de la rhizosphère d'une culture de blé dur dans la région de Constantine.

L'isolement des onze bactéries rhizosphériques a été obtenu par le procédé suspension-dilution. Les isolats ont été isolés à partir de 1g de sol en suspension dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Une série de dilutions a été réalisée, et à partir de ces suspensions, 0,1ml de chaque dilution a été distribuée sur le milieu de culture Gélose Plat (PCA) contenant : Glucose 1g/l, Tryptone 5g/l, extrait de levure 2,5g/l et Agar 12g/l avec un pH $7,0 \pm 0,2$. Les isolats purifiés ont été retenus dans la gélose nutritionnelle à glycérol ajouté (50 %) à -20°C .

Par la suite, ils ont fait l'identification des bactéries PGPR avec analyse moléculaire pour chercher leur genre.

2- Effet antagoniste des PGPR

Ce test est effectué pour vérifier l'existence d'une éventuelle action inhibitrice des isolats bactériennes vis-a- vis deux isolats phytopathogènes *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminiarum* (Sebihi *et al.*, 2016). Le teste est réalisé sur le milieu de culture solide (PDA) selon la méthode décrite par Vincent *et al.*, (1991). Les isolats PGPR sélectionnés sont étalés sur une moitié d'une boite pétri gélosé, alors qu'un disque fongique de 4 mm provenant d'une culture de 5 jours est placé dans la direction opposée sur l'autre moitié. Après une incubation de 7 jours à 28°C , les résultats sont rapportés en ce qui concerne la croissance du mycélium dans les boîtes témoins (Hariprasad *et al.*, 2009).

La réduction du diamètre des colonies mycéliennes des champignons pathogènes en présence des isolats comparés au témoin non inoculé indique la présence d'une activée antagoniste.

Le pourcentage d'inhibition par le pathogène est calculé selon la formule suivante :

$$I = [(T-C)/T] \times 100$$

I : pourcentage d'inhibition fongique testé (%).

T : Diamètre moyen du mycélium dans le boîtier de contrôle (mm).

C : Diamètre moyen du mycélium dans les boîtes inoculées par des bactéries (mm).

3- Stimulation de la croissance du blé :

Des isolats ont été testés pour stimuler la croissance des variétés de blé dur par l'action des onze isolats bactériens, les variétés WAHA, SIMETO, GTE, HIDHAB et CIRTA ont été utilisées. A cet effet, les graines de chaque variété sont stérilisées à la surface, puis placées dans des boîtes de Pétri pour germer.

-Le sol a été stérilisé conformément au protocole de Chao *et al.*, (1986), puis divisé en pots en plastique préalablement désinfectés par l'éthanol.

-Les isolats bactériens sont cultivés sur du bouillon nutritif pendant 24 heures.

-Trois graines germées ont été semées en pot, puis inoculées par 2 ml de la suspension bactérienne pour chaque graine.

-Les témoins ont été traités avec de l'eau distillée stérile.

-Les plants de blé ont été mis en culture pendant 45 jours dans phytotron (une chambre de croissance) avec des températures quotidiennes/nocturnes moyennes (jour /t nuit) de 26 °C et de 16 °C respectivement, et une photopériode de 16 heures. Les paramètres mesurés sont la hauteur de la plante et la longueur des racines de chaque plante.

Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III Résultats et discussion

1- L'isolement et identification des bactéries PGPR

L'identification bactériologique et moléculaire des onze isolats bactériens PGPR isolés de la rhizosphère du blé ont montré leur appartenance aux genres *Enterobacter* sp, *Enterobacter asburiae*, *Paenibacillus* sp et *Serratia* sp, avec une similitude moléculaire de 98 à 99% avec les souches de référence (Tabl 4).

Tableau4 : Identification des isolats bactériens

Isolats	Taxon	Similitude %	Souches de référence
E1	<i>Enterobacter</i> sp	99%	<i>Enterobacter</i> sp. PR5
E2	<i>Enterobacter</i> sp	99%	<i>Enterobacter</i> sp. PR5
E3	<i>Enterobacter</i> sp	99%	<i>Enterobacter</i> sp. B-8
E4	<i>Enterobacter asburiae</i>	98%	<i>E. asburiae</i> strain M-T-MRS_71
E5	<i>Enterobacter</i> sp	98%	<i>Enterobacter</i> sp. WXBRN3
E6	<i>Enterobacter</i> sp	98%	<i>Enterobacter</i> sp. CTSP4
E7	<i>Enterobacter asburiae</i>	98%	<i>Enterobacter</i> sp. WXBRN3
E8	<i>Enterobacter</i> sp	98%	<i>E. asburiae</i> strain R2-143
E9	<i>Enterobacter</i> sp	99%	<i>Enterobacter</i> sp. WXBRN3
Pg1	<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	98%	<i>P. glucanolyticus</i> strain NBRC15330
S1	<i>Serratia</i> sp	99%	<i>Serratia</i> sp. OM17

Les bactéries à Gram négative, de forme coccobacille, anaérobies facultatif avec des flagellesappartient au genre *Enterobacter*. les bactéries a Gram positif de forme bâtonnet , anaérobies facultatif avec endospores (jaune vif pour une densité élevée) sont de genre *Paenibacillus* .Les bacteries

Serratia sont des bâtonnets Gram négatif, aérobies facultatives, possèdent des flagelles et un pigment rouge à rose (Grimont et Grimont, 1992; VanHoudt et al., 2007).

À partir de ces résultats nous avons mis en évidence trois genres bactériens qui peuvent appartenir aux types des bactéries PGPR.

2- Effet antagoniste des PGPR

L'activité inhibitrice des isolats a été sur le milieu PDA envers de deux agents pathogènes du blé, *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum* à fournir des résultats suivantes (Figure 9) :

Tous les isolats ont eu un pouvoir inhibiteur dans *Fusarium pseudograminearum*, avec un indice d'inhibition atteignant la gamme de [11,56-45,33], donc l'indice d'inhibition maximal de *Fusarium pseudograminearum* a été observé dans l'isolat E5, l'indice minimal observé dans l'isolat E1. Les isolats n'avaient pas la même puissance d'inhibition de *Fusarium culmorum*. Un indice d'inhibition maximal de 31,37 % a été observé pour l'isolat E7. Les isolats E3 et E4 presque n'ont aucune puissance inhibitrice contre *Fusarium culmorum*.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'inhibition directe de la croissance des agents pathogènes ce qu'on appelle l'effet antagoniste, par l'utilisation des PGPR dans ce cas *Fusarium culmorum* et *Fusarium pseudograminearum*. Cela indique que la présence des PGPR dans la rhizosphère a un effet bénéfique car elles peuvent constituer un moyen de défense pour la plante, ce qui va la protéger.

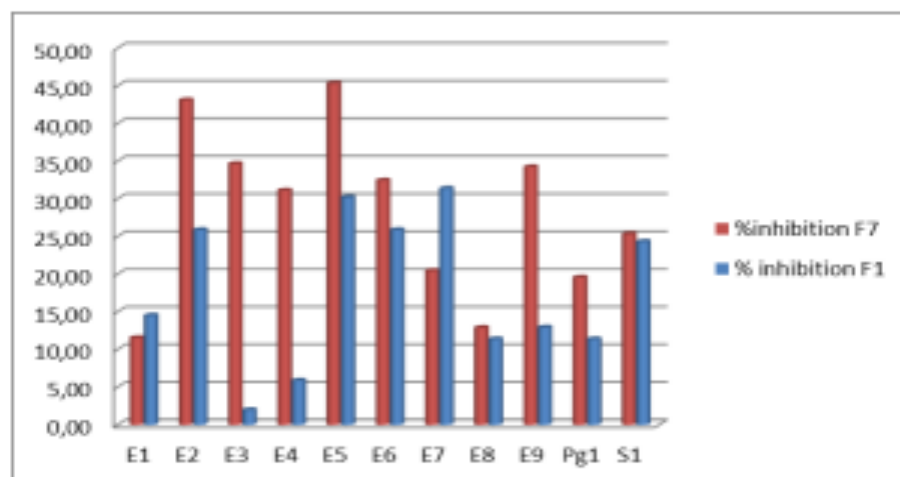


Figure 9 : Indice d'inhibition isolé contre deux *Fusarium*

3- Stimulation de la croissance du blé :

Le test de l'inoculation stimulation de la croissance des pousses de blé de différentes variétés (par rapport aux témoins) ont montré les résultats suivants sur la hauteur de la plante et la longueur de la racine (figures 10 et 11).

- Pour le SIMETO : les 11 isolats testés ont montré un stimulus de croissance, et les isolats S1, E9, E8, E1, E4, E6 et E7 ont promu une meilleure augmentation de la hauteur de la plante ainsi que de la longueur leurs racines.
- Pour la variété CIRTA : S1, Pg1, E1, E3 et E4 isolats ont amélioré le développement de la hauteur des plantes et de leur racine.
- Pour la variété HIDHAB : E1, E2, E6, E5 et E4 a montré une excellente croissance des semis.
- Pour la variété GTE : les E1, E4, S1 et E7 es isolats ont également le bon développement de la plante.
- Enfin pour la variété WAHA : E2, E5, E9, E4, E7 et E8 a également prouvé l'évolution évidente du plant de blé.

Les résultats nous ont montrés une amélioration considérable des différents paramètres de croissance tels que la longueur de la tige et la longueur des racines (par rapport au témoin neutre), et différence substantielle de croissance entre les variétés de blé dur. Le genre *Enterobacter* donne les résultats d'évolution très claire sur la variété WAHA.

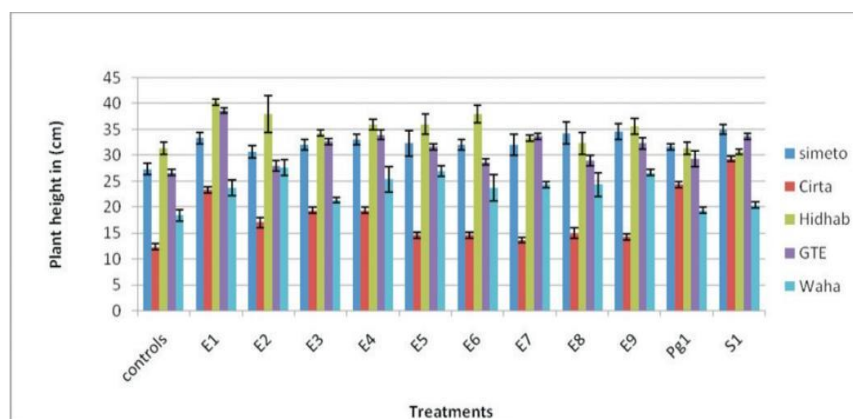


Figure 10 : Effet de l'inoculation sur la hauteur de la tige des variétés.

Chapitre III Résultats et discussion

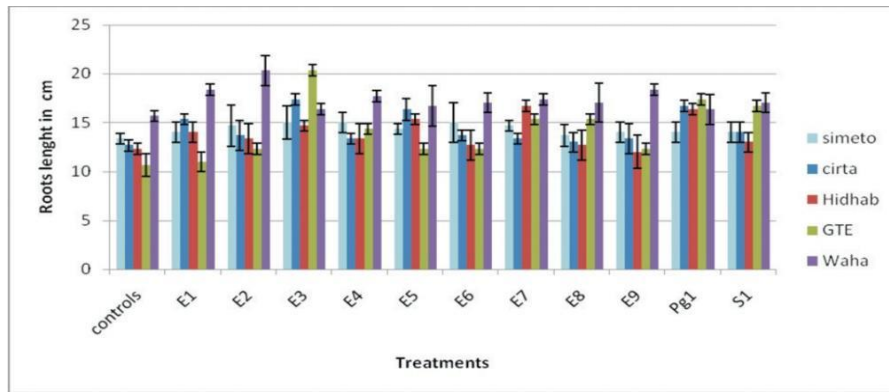


Figure 11 : Effet de l'inoculation sur la longueur des racines des variétés.

Donc les résultats correspondent aux données de la PGPR, L'inoculation de plantes cultivées avec certaines souches de PGPR à un stade précoce de leur développement, améliore la production de biomasse par des effets directs sur la croissance des racines et sur l'air (Saharan et Nehra, 2011).

Finalement, les activités hétérogènes de promotion de la croissance des isolats, comme la production de métabolites antifongiques, d'antibiotiques, d'enzymes, de production des phytohormones, de production de HCN et de production de sidérophores sont des mécanismes utilisés par les agents de lutte biologique pour contribuer à stimuler la croissance des variétés de blé.

Conclusion générale

Afin d'assurer une meilleure production des céréales, l'utilisation de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère intervient comme alternative aux substances chimiques dans le contrôle biologique. Ces microorganismes naturellement présents dans les sols cultivés ont la capacité d'être utile pour améliorer les cultures des céréales et augmenter leur production.

Les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales y a compris : les rhizobactéries PGPR et les champignons mycorhiziens à arbuscule CMA. Ils ont un potentiel de phytoprotection et phytostimulation.

Cette étude bibliographique montre que les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales les plus utilisés pour la culture des céréales sont les bactéries PGPR. Les travaux de ces dernières années ont visé l'acquisition des connaissances relatives aux PGPR et à la plante.

Le travail expérimental, choisi pour matérialiser notre recherche bibliographique, a permis de mettre en évidence, en premier lieu, les types bactériens PGPR bénéfiques pour la rhizosphère du blé et en second lieu, certains avantages des bactéries PGPR du genre *Enterobacter* sp, *Enterobacter asburiae*, *Paenibacillus glucanolyticus* et *Serratia* sp, existantes dans la rhizosphère.

Les avantages apportés par les bactériens PGPR bénéfiques mis en évidence dans cette étude sont :

- L'existence d'une activité antifongique exercée par les bactéries PGPR contre *Fusarium culmorum* *Fusarium pseudograminearum*, agent fusariens causant les fusarioses du blé.
- Une activité phytostimulante et phytoprotectrice, apportée par les bactéries PGPR, appliquées sur des graines de blé, qui a amélioré considérablement les paramètres de croissance morphologiques des cinq variétés de blé testés.

Au terme de ce travail, il est à retenir que les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales, entre autres les bactéries PGPR, montrent bien leur utilité en agriculture céréalière, en terme de lutte biologique et de biofertilisants, réduisant ainsi les effets néfastes des produits chimiques couramment utilisés. Ces microorganismes, sont considérés ainsi importants pour la résolution des contraintes liées à l'agriculture moderne et la rendant écologiquement saine.

A cet effet, il serait intéressant de développer des études biologiques et biotechnologiques sur ces microorganismes pour pourvoir en tirer profit de leur fonctionnement naturel.

Nous espérons aussi, à travers notre travail bibliographique, pouvoir indiquer que les microorganismes bénéfiques à la rhizosphère des céréales peuvent constituer une source importante et intéressante pour une alternative vers des programmes intégrés de lutte biologique et d'amélioration des rendements, dans une agriculture moderne, durable écologiquement saine et protégeant les systèmes d'équilibre biologiques de l'environnement.

Références bibliographiques

(A)

- **Abou-Shanab R. A. I., Van Berkum P. et Angle J. S. (2007).** Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*, 68(2): 360-367.
- **Abou-Shanab R. A., Angle J. S., Delorme T. A., Chaney R. L., Van Berkum P. et Moawad H.A. (2003).** Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New Phytologist*, 158(1): 219-224.
- **Ahmad F., Ahmad I. et Khan M. S. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
- **Akar T. M., Avci et Dusunceli F. 2004.** Barley Post-harvest operations. Available at: <<http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch31/ch31.htm>> Retrieved May 5, 2012.
- **Alais C., Linden G. et Miclo L. (2003).** Biochimie alimentaire. 5ème édition. *Dunod, Paris*. Pp 131.
- **Algerie Presse Service. (2017).** Céréales : La production nationale [en ligne] Disponible sur <<https://www.aps.dz/economie/76925-cereales-la-production-nationale-a-plus-34-7-millions-de-quintaux-en-2017>>.
- **Alikhani H.A., Saleh-Rastin N. et Antoun H. (2006).** Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. *Plant and Soil* 287: 35–41.
- **Andrew M., Cripps M.G. et Edwards G.R. (2012).** The potential of beneficial microorganisms in agricultural systems. *Ann. Appl. Biol.* 160, 1-5.
- **Anouar L. (2012).** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Mémoire de master. Université Mentouri, Constantine. p.5.
- **Antoun H. et Kloepper J. (2001).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). In: *Encyclopedia of Genetics*. Elsevier, p. 1477-1480.

(B)

- **Barak P., Jobe B. O., Krueger A. R., Peterson L. A. et Laird, D. A. (1997).** Effects of long-term soil acidification due to nitrogen fertilizer inputs in Wisconsin. *Plant and soil*, 197(1): 61-69.

- **Barea J. M., Azcón R. et Azcón-Aguilar C. (2002).** Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1):343-351.
- **Barea J. M., Pozo M. J., Azcon R. et Azcon-Aguilar C. (2005).** Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417): 1761-1778.
- **Barea J. M., Pozo M. J., Azcon R. et Azcon-Aguilar C. (2005).** Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417), 1761-1778.
- **Bashan Y., Holguin G. et De-Bashan L. E. (2004).** Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, 50(8) : 521-577.
- **Beattie G. A. (2006).** Plant Associated Bacteria: Survey, Molecular Phylogeny Genomics and Recent Advances. In *Plant-Associated Bacteria*, Gnanamanickam S.S. (Ed.). Springer, Dordrecht, Netherlands, pp 1-56.
- **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*, 74(1) :19-27.
- **Behl R. K., Ruppel S., Kothe E. et Narula N. (2012).** Wheat x Azotobacter x VA Mycorrhiza interactions towards plant nutrition and growth—a review. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 81(2): 95-109.
- **Ben Khaled L., Gómez A.M., Ouarraqi E.M. et Oihabi A. (2003).** Réponses physiologiques et biochimiques du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) à la double association Mycorrhizes-Rhizobium sous une contrainte saline. *Agronomie* 23,571–580.
- **Benbelaid R. (1991).** Contribution à l'étude des agents de pourritures Racinaires des céréales. Thèse. Ing. Agri. Ina., El Harrach. 44 pp.
- **Benbelaid R. (1991).** Contribution à l'étude des agents de pourritures Racinaires des céréales. Thèse. Ing. Agri. Ina., El Harrach. 44 pp.
- **Benchabane M. (2005).** Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas spp. fluorescents*. Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger, Algérie, 235 p.
- **Benhamou N., Lafontaine P. J. et Nicole M. (1994).** Induction of systemic resistance to Fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology*, 84(12) : 1432-1444.

- **Berge O. (2011).** Écologie des populations bactériennes associées aux eucaryotes photosynthétiques : de la rhizosphère à la phycosphère. INRA-PACA. Unité de Pathologie Végétale UR407, 83p.
- **Bevivino A., Sarrocco S., Dalmastrì C., Tabacchioni S., Cantale C. et Chiarini L. (1998).** Characterization of a free-living maize-rhizosphere population of Burkholderiacepacia: effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize. *FEMS Microbiology Ecology*, 27(3): 225-237.
- **Bowen G. D., Rovira A. D. (1991).** Microbial colonization of plant roots. Annual Review of *Phytopathology*, 14, 121-144.
- **Brito I., Goss M.J., Carvalho M., Tuinen D. et Antunes P.M. (2008).** Agronomic Management of Indigenous Mycorrhizas. In Mycorrhiza. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 375–402.

(6)

- **Cattelan A. J., Hartel P. G. et Fuhrmann J. J. (1999).** Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6): 1670-1680.
- **Chang C. W., Hwang Y. H., Cheng W. Y., et Chang C. P. (2007).** Effects of chlorination and heat disinfection on long-term starved *Legionella pneumophila* in warm water. *Journal of applied microbiology*, 102(6): 1636-1644.
- **Chao W. L., Nelson E. B., Harman G. E. et Hoch H. C. (1986).** Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. *Phytopathology*, 76(1) : 60-65.
- **Charest M. H., Beauchamp C. J. et Antoun H. (2005).** Effects of the humic substances of de-inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS microbiology ecology*, 52(2) : 219-227.
- **Chehat F. (2007).** Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril.
- **Choudhary D.K., Prakash A., Wray V. et Johri B.N. (2009).** Insights of the fluorescent pseudomonads in plant growth regulation. *Current Science*, 97 (2):170-179.
- **Clarke J.M., McCaig T.N., DePauw R.M., Knox R.E., Ames N.P., Clarke F.R., Fernandez M.R., Marchylo B.A. et Dexter J.E. (2005).** « Commander DurumWheat » Can. J. Plant Sci. Revue *canadienne de phytotechnie*, 85 : 901–904.

- **Combes-Meynet E., Pothier J. F., Moëgne-Loccoz Y. et Prigent-Combaret C. (2011).** The Pseudomonas secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol is a signal inducing rhizoplane expression of Azospirillum genes involved in plant-growth promotion. *Molecular plant-microbe interactions*, 24(2) :271-284.
- **Corbaz R. (1990).** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. PPUR presses polytechniques et universitaire romandes (première édition). Lausanne. Suisse, 286p.
- **Cordier C., Pozo M. J., Barea J. M., Gianinazzi, S. et Gianinazzi-Pearson V. (1998).** Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular plant-microbe interactions*, 11(10) :1017-1028.
- **Cornuet P. (1987).** *Eléments de virologie végétale*. INRA, 145 rue de l'Université, 75007 Paris. 206p.
- **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.
- **Creus C. M., Sueldo R. J. et Barassi C. A. (2004).** Water relations and yield in Azospirillum-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany*, 82(2) : 273-281.

(D)

- **Dalpé Y. (2006).** Mycorhizes et bénéfices marginaux. Québecvert, p.8-9.
- **Dalpé Y. (2005).** Les mycorhizes: un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, 86(1) : 53-59.
- **Damalas, C. A. (2009).** Understanding benefits and risks of pesticide use. *Scientific Research and Essays*, 4(10) : 945-949.
- **Davet P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale, éditions INRA. p.52-57.
- **Demars B.D. et Broener R.E.J. (1995).** A simple method for observing VAM with suggestions for designing class activities. *J. of Biological Education*, 29 (3) : 209-214
- **Dehne H. W. et Schönbeck F. (1979).** Untersuchungen zum Einfluss der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. *Journal of Phytopathology*, 95, 105-110.
- **Dehne H. W. (1982).** Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, 72, 1115-1119.

- **Djermoun A. (2009).** La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Nature & Technology*, (1) :45–53.

(E)

- **EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2003).** *Bacillus substilis* TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision Document . <<http://www.epa.gov>>.
- **Errakhi R. (2008).** Contribution d'Actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc. 160p.

(F)

- **F.A.O. (2020).** Statistical database of the food and Agriculture Organization of the United Nations. (Consulté le 04/02/20121) <<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>>.
- **F.A.O. (2020).** Statistical database of the food and Agriculture Organization of the United Nations. (Consulté le 15/06/2020) <<http://www.fao.org>>.
- **Feillet P. (2000).** Le grain de blé : Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 154p.
- **Finlay R. D. (2004).** Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*, 18(2): 91-96.
- **Fischer Sonia E., Edgardo C., Jofre´., Paula V., Cordero ., Francisco J. Gutierrez ., Man˜ero ., Gladys B. et Mori (2009).** Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plantpathogenic fungi. Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU, Boadilla de Monte, Madrid, Espana.
- **Fortin J. A., Plenchette C. et Piché Y. (2008).** Les Mycorrhizes: la nouvelle révolution verte. *Québec, Éditions multimondes*, 138p.
- **Fredot E. (2012).** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 613p.

(G)

- **Geigy C. et Nathan A. (1985).** Maladies des céréales et du Mais. Edition. Agri-Nathan. France. 96 pp.
- **Glick B. R. (1995).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*, 41(2): 109-117.
- **Glick B. R. et Stearns J. C. (2011).** Making phytoremediation work better: maximizing a plant's growth potential in the midst of adversity. *International journal of phytoremediation*, 13(1): 4-16.

- **Glick B. R., Todorovic B., Czarny J., Cheng Z., Duan J. et McConkey B. (2007).** Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6): 227-242.
 - **Glick B.R. (2012).** Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications; Hindawi Publishing Corporation, *Scientifica*: Waterloo, Canada.
 - **Gouda S., Kerry R. G., Das G., Paramithiotis S., Shin H. S. et Patra J. K. (2018).** Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological research*, 206, 131-140.
 - **Grant C., Bittman S., Montreal M., Plenchette C. et Morel C. (2005).** Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1): 3-14.
 - **Gray E. J. et Smith D. L. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil biology and biochemistry*, 37(3): 395-412.
 - **Grimont F. et Grimont, P. A. D. (1992).** The genus *Serratia*. *The Prokaryotes*, 3, 2822–2848.
 - **Guignard J.L. et Dupont F. (2004).** Botanique Systématique moléculaire. 13 Ed révisée Masson Paris. Pp 116-117.
 - **Gupta A., M. Gopal et Tilak K.V. (2000).** Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian J ExpBiol* 38,856–862.
- (7f)
- **Haas D. et Défago G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by *fluorescent pseudomonads*. *Nature reviews microbiology*, 3(4):307-319.
 - **Hamaoui B., Abbadi J., Burdman S., Rashid A., Sarig S. et Okon Y. (2001).** Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie*, 21(6-7) : 553-560.
 - **Hamou M., Labdi M. et Hamdi S. (2009).** Problématique de la céréaliculture et perspectives de développement. Actes de l’atelier régional sur la recherche scientifique et le développement de l’agriculture, Mostaganem, pp 8-15.
 - **Hariprasad P., Navya H.M., Chandranayaka S. et Niranjana S.R.(2009).** Advantage of using PSIRB over PSRB and IRB to improve plant health of tomato. *Biological Control Journal*. 50 ,307- 316.

- **Hassani A., Dellal A., Belkhodja M. et Kaid-Harche M. (2008).** Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *European journal of scientific research*, 23(1): 61-69.
- **Hayat R., Ali S., Amara U., Khalid R. et Ahmed I. (2010).** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of microbiology*, 60(4): 579-598.
- **Hayek S. (2012).** Mycorrhiza-induced resistance against *Thielaviopsis basicola* in the ornamental crop *Petunia hybrida*. Doctoral dissertation, Université de Bourgogne Dijon, France. 135 pages.
- **Helgason T. et Fitter A. (2005).** The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist*, 19(3): 96-101.
- **Hinsinger L., Jaillard B. et Arvieu J.C. (1996).** Le sol, un patrimoine menacé. *Le point scientifique*. INRA, Département de Science du Sol, Paris.
- **Hinsinger P., Bengough A. G., Vetterlein D. et Young, I. M. (2009).** Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and soil*, 321(1): 117-152.
- **Hodge A., Helgason T. et Fitter A. H. (2010).** Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungalecology*, 3(4) : 267-273.
- **Hopkins W.G. (2003).** Physiologie végétale. Deuxième édition, Bruxelles, De boeck Université, 352p.

(9)

- **INPV. (2015).** Problématique de la fusariose des céréales en Algérie Identification des espèces et leurs répartitions dans les zones potentiellement céréalières. *Bulletin d'information phytosanitaire* **33**, p 3.
- **Ismail Y. et Hijri M. (2012).** Arbuscular mycorrhisation with *Glomus irregulare* induces expression of potato PR homologues genes in response to infection by *Fusarium sambucinum*. *Functional Plant Biology*, 39(3):236-245.
- **Ismail, Y., McCormick, S. et Hijri, M. (2013).** *The arbuscular mycorrhizal fungus, Glomus irregular, controls the mycotoxin production of Fusarium sambucinum in pathogenesis of potato.* Yaacov Okon edition, Federation of European Microbiological Societies, 6p.348. (collection FEMS Microbiology Letters).

(10)

- **Jakobsen I. (1999).** Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. In *Mycorrhiza* (pp. 305-332).

- **Jean-Pierre, B. et Ruth, S. (2018).** blé dur et tendre pp.62-65. Blés de pays et autres céréales à paille. Ed. Ulmer, 24 rue Mogador Paris, 248 p.
- **Joffin J. N. et Leyral G. (2006).** Microbiologie technique - Tome 1, Dictionnaire des techniques, 4ème Ed., Collection Biologie Technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux. 368 p.
- **Jung S. C., Martinez-Medina A., Lopez-Raez J. A. et Pozo M. J. (2012).** Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of chemical ecology*, 38(6):651-664.

(K)

- **Kennedy A.C. et de Luna L.Z. (2004).** Rhizospher. In: D. Hillel, C. Rosenzweig, D. Powlson, K. Scow, M. Singer, D. Sparks (eds.), *Encyclopedia of soil in the environment*. Vol 03. Columbia University, USA. pp 399-409.
- **Khakipour N., Khavazi K., Mojallali H., Pazira E. et Asadirahmani H. (2008).** Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4(6):687- 692.
- **Kloepper J.W. et Schroth M.N. (1978).** Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogen Bacteria*. INRA, Gilbert-Clarey, Tours, France, 2, 879-882.

(L)

- **Laffont J. (1985).** Les maladies des céréales et du maïs. *Agri-Nahan*. Pp 4-51.
- **Latour X., Corberand T., Laguerre G., Allard F. et Lemanceau P. (1996).** The composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7): 2449-2456.
- **Leclère V., Béchet M., Adam A., Guez J. S., Wathelet B., Ongena M., Thonart P., Gancel F., Chollet-Imbert M. et Jacques P. (2005).** Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Applied and environmental microbiology*, 71(8): 4577-4584.
- **Lemanceau P et Heulin T. 1998.** La rhizosphère. In : stengel P., Ed, *Sol interface fragile*, 93- 105. INRA.
- **Lemanceau P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: exemple des *Pseudomonas spp fluorescents*, 414, 413-437.
- **Lepinay C. (2015).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfiques, dans un contexte de variation environnementale, Université de Bourgogne, 2013, 263p.

- **Lepoivre P. (2003).** Phytopathologie. Edition De Boeck Université, Belgique, 427 p.
- **Lewandowski T. J., Dunfield K. E. et Antunes P. M. (2013).** Isolate identity determines plant tolerance to pathogen attack in assembled mycorrhizal communities. *PLoS One*, 8(4), e61329.
- **Liu J. J. et Ekramoddoullah A. K. (2006).**The family 10 of plant pathogenesis-related proteins: their structure, regulation, and function in response to biotic and abiotic stresses. *Physiological and molecular plant pathology*, 68(1-3): 3-13.
- **Lugtenberg B., Malfanova N., Kamilova F. et Berg G., 2013.**Plant growth promotion by microbes, In *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, F.J. de Bruijn (ed.), Chapter 53, Vol 2, pp.: 559-573. Wiley-Blackwell Publisher, 1328 p.

(M)

- **MADR. (2005).** Données statistiques du Ministère de l'agriculture. Bureau des statistiques
- **MADR. (2006).** Données statistiques du Ministère de l'agriculture. Bureau des statistiques.
- **MADR. (2017).** Données statistiques du Ministère de l'agriculture. Bureau des statistiques.
- **MADR. (2015).** Données statistiques du Ministère de l'agriculture. Bureau des statistiques.
- **Mallek H. (2017).** Contribution à l'étude de la mycoflore associée aux grains de blé dans la wilaya de Bouira. Mémoire de Master, univ. d'Akli Mohand Oulhadj de Bouira, 57p.
- **Manske G. G. B., Behl R. K., Luttger A. B. et Vlek P. L. G. (2000).** Enhancement of mycorrhizal infection, nutrient efficiency and plant growth by *Azotobacter* in wheat: Evidence of varietal effects. In Narula, N. (ed), *Azotobacter in Sustainable Agriculture*. CBS Publishers, New Delhi, India. pp 136-47.
- **Mengoni A., Barzanti R., Gonnelli C., Gabbrielli R. et Bazzicalupo M. (2001).**Characterization of nickel-resistant bacteria isolated from serpentine soil. *Environmental Microbiology*, 3(11): 691-698.
- **Morgan J. A. W., Bending G. D. et White P. J. (2005).** Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417) : 1729-1739.
- **Mosse B. (1973).** Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of phytopathology*, 11(1): 171-196.

- **Mostajeran A., Amooaghaie R. et Emtiazi G. (2007).**The participation of the cell wall hydrolytic enzymes in the initial colonization of *Azospirillum brasilense* on wheat roots. *Plant and soil*, 291(1-2) : 239-248.
 - **Mouille C. (1971).** Les céréales Tome 2. La maison rustique, paris :1-12-13-14-15- 16- 17- 18-21-22-23-45-46-47 p.
 - **Mujoo R., N.G.P.K.etDazzo F.B. (2001).**The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii with rice roots. *Aust. J. Plant Physiol*28: 845– 870.
 - **Munees A., Mulugeta K. (2014).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. 28 Febr. 2013 1018–3647, 1–20.
- (N)
- **Nagórska K., Bikowski M. et Obuchowski M. (2007).**Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3): 495-508.
 - **Nakkeeran S., Fernando W.G.D.et Siddiqui Z.A. (2005).**Plant growth promotinrhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In Siddiqui Z.A. (ed.) *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer.Dordrecht. The Netherlands, 313p.
 - **Narula N.,Deubel A., Gans W., Behl R. K. et Merbach W. P. S. E. (2006).** Paranodules and colonization of wheat roots by phytohormone producing bacteria in soil. *Plant Soil and Environment*, 52(3): 119-129.
 - **Nasraoui B. (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées. Centre de Publication Universitaire, Tunis, 456p.
 - **Neiverth A., Delai S., Garcia D. M., Saatkamp K., de Souza E. M., de Oliveira Pedrosa F., Guimarães V. F., dos Santos M. F., Vendruscolo E. C. G. et da Costa A. C. T. (2014).**Performance of different wheat genotypes inoculated with the plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. *European journal of soil biology*, 64,15.
 - **Nesheim O.N., Fishel F.M. et Mossler M. (2014).** «Toxicity of Pesticides PI- 13», University of Florida (UF), Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), USA.
 - **Ngoma L., Babalola O. O. et Ahmad F. (2012).**Ecophysiology of plant growth promoting bacteria. *Scientific Research and Essays*, 7(47) : 4003-4013.

- **Noumeur S. (2008).** Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le microbiote tellurique de la région de Hamla (Batna). Th doctorat : Biologie : Université Mentouri Constantine.

(O)

- **Oline D. K. (2006).** Phylogenetic comparisons of bacterial communities from serpentine and nonserpentine soils. *Applied and environmental microbiology*, 72(11) :6965-6971.
- **Olsson P. A., Thingstrup I., Jakobsen I. et Bååth E. (1999).** Estimation of the biomass of arbuscularmycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology and biochemistry*, 31(13) : 1879-1887.

(P)

- **Pal A., Wauters G. et Paul A. K. (2007).** Nickel tolerance and accumulation by bacteria from rhizosphere of nickel hyperaccumulators in serpentine soil ecosystem of Andaman, India. *Plant and Soil*, 293(1) : 37-48.
- **Passion céréales.** Les céréales en chiffres [en ligne]. Disponible sur : <<https://www.passioncereales.fr/la-filiere/les-differentes-cereales>>. (2018).
- **Paul E.A. et Clark F.E. (1996).** Soil Microbiology and Biochemistry, 2nd Edition. Academic Press, New York.
- **Plenchette C., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M. et Fortin J.A. (2005).** Managing arbuscularmycorrhizal fungi in cropping systems. *Canadian Journal of Plant Science*, vol.65, p.31-40.
- **Podile A. R et Kishore K. (2006).** Plant growth-promoting rhizobacteria. In Plant-associated bacteria. Gnanamanickam S.S. (ed), Springer, Dordrecht, Netherlands, pp195-231.
- **Prescott L. M., Harley J. P. et Klein D. A. (2003).** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2ème édition. p.1164.
- **Probanza A. et Lucas Garcia J. A. (2002).** Pinus pineal seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR Bacillus. *Applied Soil Ecology*, 20(2): 75- 84.

(R)

- **Raaijmakers J. M., Vlami M. et De Souza J. T. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van leeuwenhoek*, 81(1): 537-547.
- **Rajkumar M. et Freitas H. (2008).** Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 71(5): 834-842.

- **Rodríguez H. et Fraga R. (1999).** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5): 319-339.
 - **Roy-Bolduc A. et Hijiri M. ,2010.** The Use of Mycorrhizea to Enhance Phosphorus Uptake: A way out the phosphorus Crisis. *Journal of biofertilizers and biopesticides*, vol.2, n°1, p. doi:10.4172/2155-6202.1000104.
- (5)
- **Saharan B. S. et Nehra V. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21(1): 30.
 - **Sahraoui A. L. (2013).** La Mycorhize à arbuscules: quels bénéfices pour l'homme et son environnement dans on contexte de développement durable?. *Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie*, 26, 06-19.
 - **Sanders I. R., Clapp J. P. et Wiemken A. (1996).** The genetic diversity of arbuscularmycorrhizal fungi in natural ecosystems—a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 133(1): 123-134.
 - **Schloter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H., Becke H., Höflich G. et Hartmann A. (1997).** Root colonization of different plants by plant-growth-promoting *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(5): 2038-2046.
 - **Sebihi F. Z., Benguedouar A., Benhizia Y., Sanchez, J., et Gallego, E. (2016).** Evaluation of multi-trait plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* isolated from Constantine Wheat rhizosphere soil (Algeria) and screening there antifungal activity against two species of *Fusarium*. *Advances in Environmental Biology*, 10(5): 102-115.
 - **Sebihi F.Z ., Saoudi M.1 ., Derouiche F ., Bendjemana K, Benguedouar A.1., Benhizia Y.1 et Sanchez J. (2020).** Effct of PGPR inoculation on durum whet growth varieties.. *Asian J. of Microbiol. Biotech. Env. Sc*, Vol. 22 (4): 676-684.
 - **Sessitsch A., Kuffner M., Kidd P., Vangronsveld J., Wenzel W. W., Fallmann K. et Puschenreiter M. (2013).** The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 60, 182-194.
 - **Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. et Zid E.D. (2005).** Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (INRAT). Univ. Elmanar. Tunisie. P62.

- **Smith et Read D.J. (2008).***Mycorrhizal Symbiosis*. Troisième édition, New York, Academic Press, 800p.
 - **Smith S. E. et Smith F. A. (2012).** Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia*, 104(1) :1-13.
 - **Smith S. E., Smith F. A. et Jakobsen I. (2003).** Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant physiology*, 133(1): 16-20.
 - **Soltner D. (2005).** *Les Grandes Productions Végétales céréales- plantes sarclées- prairies*. 20ème Ed : Collection Sciences et Techniques Agricoles. pp 458-464.
 - **Soufiane B. (1989).** Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes [en ligne]. <URL <http://docplayer.fr/15231957-De-bacteries-et-d-actinomycetes-antagonistes-aux-champignons-phytopathogènes.html>> (accessed 6.14.18).
 - **Susana L., Maruri-Avidal L. et Arias C.F. (2008).** Endoplasmic reticulum chaperones are involved in the morphogenesis of rotavirus infectious particles. *J. Virol.* 82, 5368–5380.
 - **Suslow T. V. (1982).** Role of root-colonizing bacteria in plant growth. *Phytopathogenic prokaryotes*. Académie Press, New York, 1 :187-223.
- (3)
- **Turgay O. C., Görmez A. et Bilen S. (2011).** Isolation and characterization of metal resistant-tolerant rhizosphere bacteria from the serpentine soils in Turkey. *Environmental monitoring and assessment*, 184(1): 515-526.
- (4)
- **Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M. L., Touraine B., Moëgne-Loccoz Y., Muller D., Legendre L., Wisniewski-Dyé F. et Prigent-Combaret C. (2013).** Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science* 4, 356.
 - **Vacheron, J., Desbrosses, G., Renoud, S., Padilla, R., Walker, V., Muller, D. et Prigent-Combaret, C. (2017).** Differential contribution of plant-beneficial functions from *Pseudomonas kilonensis* F113 to root system architecture alterations in *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(2): 212-223.
 - **Van Houdt R., Givskov M. et Michiels C. W. (2007).** Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS microbiology reviews*, 31(4): 407-424.

- **Van Hulten, M., Pelser, M., Van Loon, LC., Pieterse C.M. J. et Ton J. (2006).** Coûts et avantages de l'amorçage pour la défense chez *Arabidopsis*. *Actes de la National Academy of Sciences, États-Unis* 103, 5602 – 5607
- **Venieraki A., Dimou M., Pergalis P., Kefalogianni I., Chatzipavlidis I. et Katinakis P. (2011).** The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. *Microbial ecology*, 61(2) : 277-285.
- **Vincent M. N., Harrison L. A., Brackin J. M., Kovacevich P. A., Mukerji P., Weller D. M. et Pierson E. A. (1991).** Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(10): 2928-2934.

(W^o)

- **Weise M.V.(1987).** Compendium of Wheat diseases. The American Phytopathological Society. 109. pp.
- **Weller D. M. (1988).** Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual review of phytopathology*, 26(1), 379-407.
- **Weller D.M. et Pierson, E.A. (1991).** Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Applied and Environmental Microbiology*. 57: 2928–2934.
- **Weller D.M., Landa B.B., Mavrodi O.V., Schroeder L.K., De la Fuente L., Blouin Bankhead S., Allende Molar R., Bonsall R. F, Mavrodi D.V. et Thomashow L.S. (2007).** Role of 2,4-diacetylphloroglucinol producing *fluorescent Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. *Plant biology* 9, 4-20
- **Whipps J. M. (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany*, 52(1):487-511.
- **WHO. (1990).** in collaboration with the United Nations Environment Programme, «Public health impact of pesticides used in agriculture», World Health Organization Geneva.

(Y)

- **Yanni Y.G., Rizk R.Y., Abd El-Fattah F.K., Squartini A., Corich V., Giacomini A., de Bruin F., Rademaker J., Mayra-Flores J., Ostrom P., Vega-Hernandez M., Hollingsworth R.I., Martinez-Molina E., Mateos P., Velazquez E., Wopereis J., Triplett E., Umali-Garcia M., Anarna J.A., Rolfe B.G., Ladha J.K., Hill J., Yao, M.**

K., Desilets, H., Charles, M. T., Boulanger, R. et Tweddell, R. J. (2003). Effect of mycorrhization on the accumulation of rishitin and solavetivone in potato plantlets challenged with *Rhizoctoniasolani*. *Mycorrhiza*, 13, 333-336.

(Z)

- **Zimmerman E. St-Arnaud M. et Hijri M. (2009).** Sustainable Agriculture and the multigenomic model : How Advances in the Genetics of Arbuscular Mycorrhizal fungi will Change soil Management practices . F. B. K. B. N. edition, Oxfordshire, UK: CAB international, *Molecular plant-microbe interaction*, 269-287p.
- **Zohary D. (1973).** Geobotanical foundation of the Middle East: vol.1, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany.

Annexe

EFFECT OF PGPR INOCULATION ON DURUM WHEAT GROWTH VARIETIES

SEBIHI F.Z.^{1,2*}, SAOUDI M.^{1,2}, DEROUICHE F.^{2,3}, BENDJEMANA K.^{2,3}, BENGUEDOUAR A.¹, BENHIZIA Y.¹, AND SANCHEZ J.³

¹ Laboratory of Molecular and Cellular Biology, University Frères Mentouri Constantine, Route Ain el Bey, Constantine 25017, Algeria,

² Department of Molecular and Cellular Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, University Abbas laghrourKhenchela, BP: 1252 Route de Batna Khenchela, Algeria.

³ Laboratory of Biotechnology, Water, Environment and Health, Abbas Laghrour University, Khenchela, Algeria

⁴ Botany Unit, Department of Biology and Geology, University of Almeria, 04120 Almeria, Spain

(Received 10 August, 2020; accepted 15 September, 2020)

Keywords: Rhizobacteria, Isolation, PGPR, Siderophores, Wheat, Varieties.

Abstract – The purpose of this work is to isolate PGP-effect rhizobacteria and to evaluate their potential for durum wheat varieties. The isolation of the bacteria was done using the suspension-dilution process. Eleven bacterial isolates were isolated from the rhizosphere of hard wheat. The latter were described by molecular characterization, based on the sequencing of RNA 16s. Once established, these isolates were characterized by their traits of growth promotion, such as biological control through the testing of the anti-fungal activity which was performed to two species of *Fusarium*. The ability of stimulating growth of durum wheat varieties was assessed in vivo. The molecular identification of eleven isolates showed 98-99 % of our isolates to species of the following genera: *Enterobacter*, *Enterobacter asburiae*, *Paenibacillus glucanolyticus* and *Serratia* sp. Research on the plant growth promoting traits in our isolates, showed that 80% of isolates have shown positive results with qualitative and quantitative estimates of siderophores, as well as for solubilized phosphate. All of our isolates showed a similar result with production of ammonium, cellulase, pectinase and eight isolates released AIA at different concentrations; whereas only three isolates could release HCN, and four isolates did not produce the protease. Similarly, direct inhibition of the growth of *Fusarium* sp species was observed, with significant improvement in the different growth parameters of the durum wheat varieties being studied. This research concluded that the findings obtained so far demonstrated that our isolates have phyto-stimulative, and phytoprotective behaviors. The latter opens up the possibility of their use in future laboratory studies in order to generate biofertilizer inoculants.

INTRODUCTION

The soil is the habitat or cohabit the roots of plants, animals and microorganisms. As the rhizosphere is a part of the soil, it is known to be a very complex medium with intense microbial activity (Ameur, 2014).

Among microorganisms that lived in the soil, are the bacteria associated with herbal roots or rhizobactéries, which are usually very competitive strains capable of having beneficial or deleterious effects in plant growth and health (Kloepper, 1993).

The beneficial rhizobactéries are a rather heterogeneous bacterial flora that stimulates plant

development, known as PGPR (Plant Growth Stimulating Rhizobacteria). Indeed, several organisms are included in PGPR, affecting plant growth by many mechanisms, whether direct or indirect. They are capable of promoting plant growth by increasing the acquisition of soil elements, the production of phytohormones, and the development of inductive resistance to plants (Munees and Mulugeta, 2014), or by acting in the biocontrol of plants, by reducing the deleterious effects of plant pathogens, by synthesizing various antibiotics and plant defensive siderophores (Fischer *et al.*, 2009; Kirdi, 2011; Glick, 2012).

In this context, this work was undertaken to

isolate PGP impact rhizobactéries from the rhizosphere of wheat and assess their ability on wheat varieties.

MATERIALS AND METHODS

Isolation of PGPR bacteria

In order to find stimulating bacteria for plant growth, a sampling was performed from rhizospheric soil of a hard wheat crop from Constantine region. Isolation was achieved by the suspension-dilution process. This test consists of 1 g suspended soil in a tube containing 9 ml of sterile physiological water. A series of decimal dilutions was produced, and from those suspensions, 0.1 ml of each dilution was distributed over the crop medium Plat count agar (PCA) containing g / l: Glucose (1), Tryptone (5), yeast extract (2.5), Agar (12) and pH 7.0±0.2. The purified isolates were retained in the glycerol-added nutritional gelosin (50 %) to -20 °C.

Molecular characterization of isolates

Based on the sequencing of the 16S DNA, our isolates have been characterized by a molecular identification. For this the DNA extraction was carried out according to the instructions of the QIAGEN kit (DNeasy Blood and Tissue). The amplification was performed in a volume of 25 µL containing 5 µL DNA, using two universal initials 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and 1492r (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') according to Weisburg *et al.* 1991, the following programs were: 5 sec at 94 °C initial disturbance followed by 35 cycles (1 sec at 94 °C, 1 sec at 55 °C, 1 sec at 72 °C), and a final extension to 72 °C for 7 min.

Products of this amplification were subjected to 1% agarose gel electrophoresis, followed by automated sequencing on DNA sequencer (Genetic Analyser 3500, Applied Device, HITACHI). The sequences obtained were then compared with those of the NCBI Blast-contig. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), using the blast software (Altschul *et al.*, 1997).

Measurement of plant growth promotion activities

Production of siderophores: Based on the updated method described by Pérez-Miranda *et al.*, (2007), the CAS medium (Chrome Azurol Sulfate) was used for siderophores synthesis detection.

The isolates inoculated in liquid King B being free from iron for 24 hours, followed by a spot

deposit of 10 µL of each bacterial culture on the medium (CAS) suggested by Schwyn and Neilands, (1987). This blue colored medium allows the visualization of the development of siderophores, through the creation of an orange halo around the producing colony. The diameter of this halo is calculated.

In order to quantify the siderophores formed by these isolates, 100 µL of each bacterial suspension were inoculated in 10 mL of King B, then incubated 48 hours at 30 °C. After the incubation, these bacterial suspensions were centrifuged at 5000 g for 20 minutes. Only after 500 µL of supernatant had been combined with 500 µL of the CAS solution, the mixture was incubated to darkness for 30 minutes. The color changes from blue to orange according to the percentage of siderophores formed. The OD was measured by spectrophotometry (Heyios to thermo spectronic) at 630 nm. The percentage of siderophores was determined using the following formula (Gokan, 2010) :

$$\% = (S_i - S_c) / S_i \times 100 \text{ ,with:}$$

S_i : DO of the CAS solution of intense blue (control)

S_c : DO of sample solution less blue to orange according to intensity of production.

Phosphate solubilization: This test helps us to determine the capacity of our isolates to solubilize phosphates in the medium of Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948), this medium contains $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ as the only source of phosphate. In this regard, the isolates were placed as spots on the solid PVK medium. After 10 days of incubation at 28 °C, the total diameter (halo diameter + colony diameter) was measured. The solubilization halo diameter for each isolate was determined by subtracting the diameter of the colony from the total diameter.

For the quantitative estimate of phosphorus solubilized by these isolates, 100 µL of each bacterial culture has been inoculated into 5 mL of liquid PVK medium. At the end of the 11-day incubation at 30 °C, crops were centrifuged at 1000 g for 20 min. Based on the colorimetric method of John, (1970), 2 mL of supernatant have been blended to 8 mL in reactionary solution (mix 1.5 g of ascorbic acid with 100 mL in a stock solution prepared as follows: 450 mL of 10N H_2SO_4 and 100 mL of 5% Tartarate of antimony and potassium were added small by little in agitation to 300 mL of distilled water containing 20 g of $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. The DO was read at 880 nm after 10 minutes. The intensity of the blue

color is directly proportional to the concentration of phosphates in the sample. A typical calibration curve was developed with a KH_2PO_4 solution.

Ammonium production: Based on the Capuccino and Sherman process, (1992), NH_3 production was tested on peptone water. This test involves inoculating 100 μL of bacterial culture in tubes containing peptone water, and incubating at 30 °C for 48 hours. The addition of 0.5 mL of the Nessler reagent gives a yellow to brown color that indicates the NH_3 production.

HCN Production: The production of hydrocyanic acid (HCN) was searched according to the method of Bakker and Schipperes, (1987). On a nutrient jelly added glycine (4.4g/L), the isolates were sown by streaks on the Petri-boxed jellyfish. A 9 cm diameter, Whatman N1 paper disk impregnated with a sodium picrat solution (5% picric acid and 2% anhydrous sodium carbonate) was placed at the bottom of the box's cover. It was covered with parafilm paper and incubated at 30 °C/96 h. The positive result is the transition from yellow to brown orange in Whatman's paper, showing the volatile production of HCN.

Production of Acetic Indole Acid: AIA production was conducted according to the method defined by Brik *et al.*, (1991) and updated by Ahmad *et al.* (2008). It consisted of seeding 500 μL of a fresh bacterial culture in tubes containing 5 mL of Luria Bertani (LB) added 0.1% tryptophane. After incubation at 30 °C/ 96h under agitation, a colorimetric dosing was performed using Gordon and Weber, (1951) methods. Crops were centrifuged at 11000 g for 15 min to 4 °C. 2 mL of overlapping was added 4 mL of Salkowski reagent (1 mL of 0.5 M FeCl_3 in 50% of HClO_4) and some drops of ortho-phosphoric acid. The OD was estimated at 530 nm after 30 minutes of dark incubation at 28 °C. AIA concentrations were calculated using a regular AIA calibration curve (Fluka).

Enzyme production

Cellulase: Cellulase production was determined using the method defined by Cattelan *et al.* (1999). The isolates have been seeded on a nutrient gelosis applied with 1 % CMC (Craboxyl Methyl Cellulose). After incubation at 30 °C for 5 days, the boxes have been filled with a red Congo solution (1% w / v) for 20 min and then with a washing with a NaCl 1N solution. The creation of a light halo around the colonies indicates a positive response.

Protease : The protease production was determined by a clear halo developed in the round of the colonies, rising on a skim milk agar, obtained by mixing 1 g of Agar suspended in 50 mL of water distilled with 5 g of skim milk in powder diluted in 50 mL of distilled water (Chaiham *et al.*, 2008)

Pectinase : Pectinase was found on nutritional agar with 0.5% pectin. The seeded boxes were incubated for 48 hours, then flooded with an iodine solution for 30 minutes. The appearance of a clear halo in the turn of the colonies indicates a positive reaction (Delarras, 2014).

In vitro antifungal activity: The isolate inhibitory action was assessed for two plant pathogens: Fus 1: *Fusarium culmorum* and Fus7: *Fusarium pseudogramminiarum* (Sebihi *et al.*, 2016). According to the method described by Vincent *et al.*, (1991), the isolates were spread on half a box of PDA-containing petri, while a 4 mm fungal disk from a 5-day culture were placed, in the opposite direction, on the other half. Following a 7-day incubation at 28 °C, the results were reported with respect to mycelium growth in the control boxes (Hariprasad *et al.*, 2009).

The percentage of inhibition was calculated using the following formula: $I = [(T-C)/T] \times 100$ and

I: percentage of fungal inhibition tested (%).

T: Average diameter of mycelium in the control box (mm).

C: Average diameter of mycelium in boxes inoculated by bacteria (mm)

Stimulation of wheat growth: Isolates have been tested to stimulate growth in the following wheat varieties: WAHA, SIMETO, GTE, HIDHAB and CIRTA.

In this regard, the following steps have been taken:

- Seeds of each variety have been sterilized on the surface, and then placed in petri dishes to germinate.
- The soil was autoclaved according to the Chao *et al.* protocol, 1986, and then divided into plastic pots previously disinfected by ethanol.
- Bacterial isolates were cultivated on nutritious broth for 24 hours.
- Three germ seeds were sown by pot, and then inoculated by 2 mL of the bacterial suspension for each seed.
- The witnesses were treated with sterile distilled water.

The test was conducted for 45 days in a growing chamber (phytotron) with average daily / nocturn

temperatures of 26 °C and 16 °C, respectively, and with a 16 hour lighting period. The height of the plant and the root length of each plant were retained.

Statistical analysis: The studied parameters were analyzed by the software Xlstat pro 2012, thus an analysis of the main components was performed to evaluate these parameters

RESULTS

Molecular Identification: Molecular analysis was performed by the partial sequence of RNA 16S gene, and BLAST analysis was used for the search of some similar homology with similar species existing in data banks (GenBank), the results were represented in Table 1.

Production of siderophores: The isolates showed an orange halo on CAS solid media indicating the production of steel fur with a maximum observed for insulates: E2, E6, E3, Pg1, E1, E5 and S1 as well

as the production halo were between 19- 13 mm in diameter, followed by insulation E7 and E9, with a production halo between 11-10 mm. The E8 insulation showed a low 5 mm diameter production, while the E4 insulation revealed no colors on the CAS medium. As well the estimation of the concentration of siderophores produced in liquid medium, indicates that the first group of isolates E2, Pg1, E3, and E1 produce goodly at an interval of [94.05- 63.6], the second group includes isolates S1, E6, E9, E5 and E7 which have shown mean production at an interval of (40.6- 19.8), while the two isolates E8 and E4 did not mark any production (Table 2).

Solubilization of phosphates: After 10 days of incubation, the isolates chosen have produced a clear area around the colony, translating a solubilization of $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Eight isolates deployed a solubilization index in an interval of [3.2 - 4.75], and two isolates solubilized phosphate with a solubilization index that ranges from 1.8 to 2.25.The

Table 1. Identification of Bacterialisolatesbased on 16s DNA sequencing

Isolates	Taxa	Similarity %	Species
E1	<i>Enterobacter sp</i>	99%	<i>Enterobacter sp.</i> PR5
E2	<i>Enterobacter sp</i>	99%	<i>Enterobacter sp.</i> PR5
E3	<i>Enterobacter sp</i>	99%	<i>Enterobacter sp.</i> B-8
E4	<i>Enterobacterasburiae</i>	98%	<i>E. asburiae</i> strain M-T-MRS_71
E5	<i>Enterobacter sp</i>	98%	<i>Enterobacter sp.</i> WXBRN3
E6	<i>Enterobactersp</i>	98%	<i>Enterobacter sp.</i> CTSP4
E7	<i>Enterobacterasburiae</i>	98%	<i>Enterobacter sp.</i> WXBRN3
E8	<i>Enterobactersp</i>	98%	<i>E. asburiae</i> strain R2-143
E9	<i>Enterobactersp</i>	99%	<i>Enterobacter sp.</i> WXBRN3
Pg1	<i>Paenibacillusglucanolyticus</i>	98%	<i>P. glucanolyticus</i> strain NBRC15330
S1	<i>Serratiasp</i>	99%	<i>Serratia sp.</i> OM17

Table 2. Phosphate, Siderophores, AIA, and NH₃ production results.

Tests/Isolates	siderophores Production		Phosphates Solubilization		AIA Production in µg/mL	NH ₃ Production
	Ø Halo (mm)	%	Index	[P] µg/mL		
E1	14	63,57	0	152.34	30.13	+
E2	19	94,05	3	180.64	19.63	+
E3	15	74,95	4.75	316.18	17.88	+
E4	0	0,00	1.8	258.18	9.83	+
E5	13	48,17	3.17	109.82	14.75	+
E6	16	83,55	3.2	512.82	14.96	+
E7	11	19,76	3.5	43.00	11.04	+
E8	5	1,32	2.25	556.64	13.13	+
E9	10	26,81	3.2	180.27	13.88	+
Pg1	15	86,44	4	643.36	12.25	+
S1	13	40,59	4.25	575.00	10.83	+

(+) positive reaction, (-) negativereaction

halo was absent in E1. With respect to the quantitative estimate of liquid-solubilized phosphates, isolates showed concentrations ranging from 109.82 to 643.36 µg/ mL. Although there were no solubilization halos around the E1 insulation colony, on solid medium, the latter solubilized the phosphate at an amount of 152,34 µg/mL, and, conversely, the E7 insulation which revealed a solubilization index of 3.5 did not solubilize phosphate in the liquid environment with a limited amount of 43 µg/ML (Table 2).

Ammonium Production: All our isolates presented a yellow-brown precipitate that was formed following the addition of the Nessler reagent on bacterial suspension, showing the production of ammonium (Table 2).

HCN Production: The change in the yellow color of the filter paper that has been permeated with picric acid in brown red indicates the HCN production. This result was observed in only three isolates: E4, E6, and S1 (Table 3).

Table 3. Results of the various enzymes production.

Isolates	Cellulase	Protease	Pectinase	HCN
E1	+	-	+	-
E2	+	+	+	-
E3	+	+	+	-
E4	+	+	+	+
E5	+	+	+	-
E6	+	-	+	+
E7	+	-	+	-
E8	+	-	+	-
E9	+	+	+	-
Pg1	+	+	+	-
S1	+	+	+	+

(+) positive reaction, (-) negativereaction

AIA Production: The development of a pink color following the addition of the Salkowski reagent on LB medium, with additional tryptophane (1g/L), revealed the ability of all of our isolates to produce AIA at concentrations that varied from 9.83 µg/mL to 30.13 µg/mL (Table 2).

Enzyme production: The occurrence of clear release zones around the colonies in the middle of the CMC and in the middle of the pectin indicated the production of cellulase, and pectinase by our isolates. Protease activity was observed in seven isolates on skim milk (Table 3).

Antifungal activity: The inhibitory activity of our

isolates towards two pathogens in wheat, Fus1, *Fusarium culmorum* and Fus7, *Fusarium pseudograminearum*, was reported in the following results:

All of our isolates have had inhibitory power in Fus7, with an inhibition index reaching the range of [11.56-45.33], so the maximum Fus7 inhibition index has been observed in Isolate E5 (Figure 1).

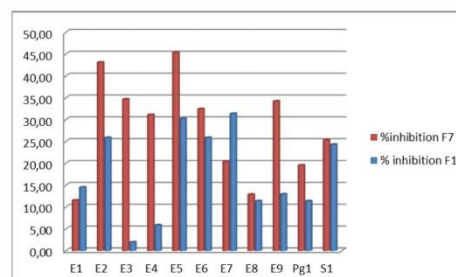


Fig. 1. Isolates inhibition index against two Fusariums.

However, the isolates did not have the same inhibiting power to Fus1. A maximum inhibition index of 31.37 % was observed for isolate E7, followed by isolate E5, E1 and E2 with an index varying in the range of [24.31- 30.20], so an inhibition mean with an index of [11.37- 14.51] was observed for isolates E1, E9, E8, and Pg1. Isolates E3 and E4 have no inhibitory power against Fus1.

Principal Component Analysis (PCA)

On the basis of the results obtained and with the objective of selecting the isolates performing, the PCA was used to compare the PGP activities expressed by the various isolates (Figure 2). PCA has revealed numerous observations between the activities (AIA, siderophores, phosphate solubilization and Fus1 and Fus7 inhibition) and the isolates:

- Based on the matrix obtained, there was a variability between the first and second components (CP1, CP2) of 71.17 % and 13.83 % respectively.
- Data analysis has revealed a negative correlation between the antifungal activity towards Fus1 and Fus7 and the production of AIA on one side, and a positive correlation of the phosphates solubilization on the other (axis 1). While the siderophores production formed a positive correlation with CAPaxis 2.

Regarding the behavior of the isolates against the

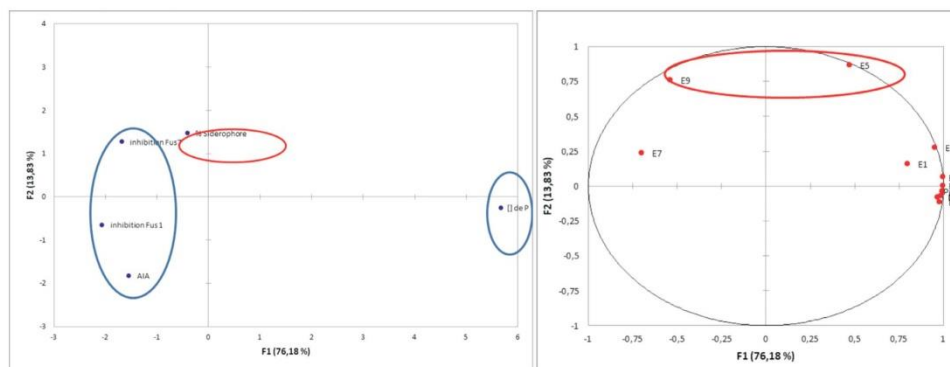


Fig. 2. CAP of activities generated by isolates

activities tested, three separate major groups were identified:

- The first was represented by isolates: E1, E2, E3, E4, E6, E8, Pg1, and S1 which solubilized the phosphates.
- The second group consisted of the E7 isolate, located opposite the first group, which showed a predominantly low activity pattern.
- Finally, the last group was composed by the two isolates E9 and E5 producing siderophores.

Stimulation of wheat growth: The test of inoculated growth stimulation of sprouts of wheat of different varieties (compared with controls) showed the following results on plant height and length of root.

- For the SIMETO: the 11 isolates tested have shown growth stimulus, and the isolates S1, E9, E8, E1, E4, E6 and E7 have promoted a better increase in plant height as well as the length of their roots.
- For the CIRTA variety: S1, Pg1, E1, E3, and E4 isolates have improved the development of the height of plants and their root.
- For the HIDHAB variety: E1, E2, E6, E5, and E4 showed excellent growth in seedlings.
- For the GTE variety: the E1, E4, S1 and E7

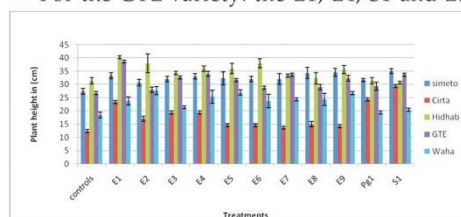


Fig. 3. Inoculation effect on stem height of varieties.

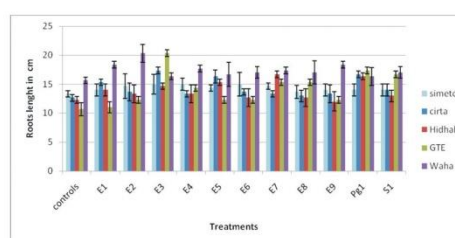


Fig. 4. Inoculation effect on roots length of the varieties.

isolates also have the proper plant development.

- Finally for the variety WAHA: E2, E5, E9, E4, E7 and E8 also proved the obvious evolution of the wheat plants.

DISCUSSION

Our work has been done to isolate PGPR-bacterial strains from the rhizosphere of wheat, and then to explore their stimulating growth activities on five hard wheat varieties. 11 bacterial isolates were isolated and part of: seven isolates an *Enterobacter* sp, two isolates an *Enterobacter asburiae* Sp, one isolate of *Paenibacillus* sp, and one isolate from *Serratia* sp.

In the rhizosphere PGPR were found at the surface of the roots or in combination with the roots due to the richness of available nutrients (Ahmad *et al.*, 2008). Several bacterial species have been identified as PGPR because of numerous studies of several plant species. Currently, PGPR contain a large range of taxa, including *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Arthobacter*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Bacillus* and

Paenibacillus (Lucy *et al.*, 2004; Kloepper *et al.*, 2004; Hayat *et al.*, 2010).

The production of siderophores represents an important biocontrol mechanism of the PGPR-group; in fact siderophores have become molecules excreted by microorganisms, and have the capacity to trap the ion of the iron. All of our isolates produced siderophores at varying rates and the most efficient isolate was E2. Several subsequent research work has shown that PGPR may produce and secrete these iron fixing molecules (Meyer *et al.*, 2002), and *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Azospirillum* and *Rhizobium* secrete various siderophorous types at different levels (Glick *et al.*, 1999; Loper and Henkels, 1999).

Different bacteria of which the most powerful are the *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia* and *Pseudomonas* genera have the potential to solubilize phosphorus by the action of phosphatase for its organic form, or by releasing organic acids for its inorganic shape (Lugtenberg *et al.*, 2013). The ability of these microorganisms to convert insoluble phosphorus into accessible form is an important feature of the PGPR, thus rhizospheric bacteria solubilizing phosphate may be a promising source of biofertilizer in agriculture (Sharma *et al.*, 2007). No correlations were observed during the liquid and solid phosphate solubilization test of our isolates. Indeed, some isolates showed high concentrations of solubilization of phosphate, whereas no clear halo was formed in the colonies. The same result was observed in the genus *Azotobacter* by Silini, (2012).

Another common property of PGPR is the NH_3 production, which were common in our tested isolates (100%) and was comparable to the reported one by numerous authors (Joseph *et al.*, 2007; Ahmed *et al.*, 2008). PGPR produce different biological molecules in very low concentrations, such as auxins, which directly affect plant growth (Srivastava *et al.*, 2002). The AIA is the most important hormone for the plant and its production was found in over 80 % of the rhizobacteria (Klopper *et al.*, 2007). According to Barazani and Friedman (1999), bacteria capable of secreting more than 13.5 $\mu\text{g/mL}$ of indolic compounds are considered to be PGPR. In this study, a remarkable production of this hormone was revealed in all isolates. Auxine synthesis can be used for the testing of effective PGPR strains, and in particular, AIA output is a trait of promoting the growth of the most widespread plant in the RMPs (Khalid *et al.*, 2004).

Another parameter required for the detection of PGPR is the production of enzymes, which give the plants resistance against phytopathogens. Hydrogen cyanide (HCN) is a secondary metabolite in the cyanide family, involved in the elimination of various pathogens. HCN produced through PGPR and its antagonist effect on pathogens plays an important role for the plant (Defago and Haas, 1990). As regards our work, only three isolates were able to generate this metabolite, although they showed strong hydrolytic enzymes such as cellulase, pectinase, and protease. The capacity of PGPR to dissolve fungal cell walls through the development of hydrolytic enzymes is another benefit in their use as an efficient biofertilizer (Glick, 2012). Further, direct inhibition of pathogen growth through the development of antifungal and/or antibiotic products is another method used by PGPR to restrict the penetration of pathogens into plant's tissues. This has been well illustrated by the antifungal behavior of our isolates against *Fusarium culmorum* and *Fusarium pseudograminiarum*.

The biocontrol of pathogens by rhizobacteria could reduce the use of chemical pesticides to control plant pathogens (Giroux, 2015). Thus biocontrol agents can use several mechanisms to promote growth of plants such as production of antifungal metabolites, antibiotic, cell wall enzyme, HCN production, and siderophores production (Martinez-Viveros *et al.*, 2010 ; Singh and Singh, 2013 ; Parvatha Reddy, 2013) .

The beneficial effects of bacterial inoculation only occur if certain conditions are met. In fact, our results were consistent with PGPR data. Bacteria associated with roots (PGPR) can act strongly on plants nutrition through numerous mechanisms involved in mutualistic relationships.

Inoculation of cultivated plants with certain strains of PGPR, at an early stage in their development, improves the production of biomass by direct effects on growth of roots and on the air (Saharan and Nehra, 2011). The effect of PGPR will be linked to the development of Phytohormones that are important for plant growth. (Benmati, 2014).

The bacterial inoculation stimulation test has been performed with our 11 isolates on 5 different varieties of durum wheat. The results of daily monitoring of plants development showed considerable improvement in the various parameters of growth such as stem length and root length (as compared with the neutral control), and a

substantial difference in growth among the varieties used..

Previous studies of PGPR-inoculation have shown that the tested strains significantly increase growth parameters such as plant height, lengths of fresh roots and weight, and root and leaf dry sprouts (Kloepper *et al.* 1978; Kirdi, 2011; Silini, 2012; Cherif, 2014; Benmati, 2014).

The heterogeneous growth promotion activities of our isolates such as: development of AIA phytohormone, biofertilization through phosphate solubilization, and bio-control through the processing of steel fur and antifungal molecules have helped to boost growth in wheat varieties.

CONCLUSION

Tentative observations made so far indicate that our isolates exhibit the possess phyto-stimulation and phytoprotective activities, so the inoculation of hard wheat seeds substantially improves the morphological growth parameters for the five wheat varieties. This indicates the possibility to use them in future laboratory studies with the goal of developing bio-fertilizing inoculants.

REFERENCES

- Ahmad, F., Ahmad, L. and Khan, M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promotion activities. *Microbiological Research*. 163 : 173-181.
- Altschul, F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein data base search programs. *Nucleic Acids Research*. 25: 3389–3402.
- Ameur, H. 2014. Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de Streptomyces et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Université Ferhat Abbas Sétif1.
- Bakker, A.W. and Schipperes, B. 1987. Microbial Cyanide production in the rhizosphere in 10 relation to potato yield reduction and Pseudomonas spp mediated plant growth stimulation. *Soil Biology & Biochemistry*. 19 : 451-457.
- Barazani, O. and Friedman, J. 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant growth-mediating bacteria. *Journal of Chemical Ecology*. 25: 2397-2406.
- Behl, R.K., Ruppel, S., Kothe, E. and Narula, N. 2012. Wheat x Azotobacter x VA Mycorrhiza interactions towards plant nutrition and growth – areview. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 81 : 95-109.
- Benmati, M. 2014. PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques, université Constantine1, Algérie.
- Brik, J.M., Bostock, R.M. and Silvestone, S.E. 1991. Rapid in situ assay for indolacetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*. 57 : 535-538.
- Cappuccino, J.C. and Sherman, N. 1992. *Microbiology: A laboratory Manual*. 3rd Edition. Benjamin/Cummings, New York, pp: 125-179.
- Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*. 63 : 1670–1680.
- Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., Kozo, A. and Lumyong, S. 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. *J. KMITL Science and Technology Journal*. 8 : 18-23.
- Chao, W.L., Nelson, E.B., Harman, G.E. and Hoch, H.C. 1986. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. *Phytopathology*. 76: 60-65.
- 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, Université Sétif 1, Algérie.
- Defago, G., Berling, C.H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., Voisard, C., Wirthner, P. and Wuthrich, B. 1990. Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: Potential applications and mechanisms. In: *Biological Control of Soil Borne Plant Pathogens*.
- Delarras, C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire, Lavoisier, p: 144.
- Fabien, C., Foulkes, J., Hirel, B., Gouache, D. and Moenne-Loccoz Yvan 2016. Breeding for increased nitrogen-use efficiency: areview for wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Breeding*, Wiley 135 (3) : 255-278.
- Fischer Sonia, E., Edgardo, C. Jofré, Paula V. Cordero, Francisco J. Gutiérrez Manero, Gladys B. Mori. 2009. Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi. Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU, Boadilladel Monte, Madrid, Espana
- Germida, J. and Siciliano, S. 2001. Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of modern, recent and ancient wheat cultivars. *Biol. Fertil. Soils*. 33 : 410-415.
- Giroux, L. 2015. Caractérisation de rhizobactéries du groupe des bacillus bénéfiques à la croissance de la tomate. Université du Québec à Trois-Rivières.
- Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin, G. and Penrose, D.M. 1999. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, London.
- Glick, B.R. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications; Hindawi Publishing Corporation, Scientifica: Waterloo, Canada.

- Gokarn, K. 2010. Siderophores and Pathogenicity of Microorganisms. *J. Biosci Tech.*, 1: 127-134.
- Gorden, A.S. and Weber, R.P. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic. *Plant Physiology*. 26 : 192-195.
- Hariprasad, P., Navya, H.M., Chandranayaka, S. and Niranjana, S.R. 2009. Advantage of using PSIRB over PSRB and IRB to improve plant health of tomato. *Biological Control Journal*. 50 : 307-316
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, L. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology* 60 : 579-598.
- John, M.K. 1970. Colorimetric determination of phosphorus in plant materials and soil as with ascorbic acid. *Soil Science*. 109 : 214-220.
- Joseph, B. and Patra, R.R. et Lawrence R. 2007. Characterization of plant growth promoting Rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L). *International Journal of Plant Production*. 1(Suppl. 2) : 141-152.
- Khalid, A., Arshad, M. and Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* 96 : 473-480.
- Kirdi, B. 2011. Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites. Mémoire Magister en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach -Alger).
- Kloepper, J.W. and Schrot, M.N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*. 71 : 642-644.
- Kloepper, J.W., Gutierrez-Estrada, A. and McInroy, J.A. 2007. Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can J. Microbiol.* 53(2) : 159-167.
- Kloepper, J.W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil microbial technologies*. éd B. Melting, M. Dekker Inc., New York, É.-U : 255-274
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M. and Zhang, S.A. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*. 94 (11) : 1259-1266.
- Loper, J.E. and Henkels, M.D. 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied Environmental Microbiology*. vol. 65 : 5357-5363.
- Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004. Application of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 86 : 1-25.
- Lugtenberg Ben, J.J., Malfanova, N., Kamilova, F. and Berg, G. 2013. Plant Growth Promotion by Microbes. *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*. Volume 2, First Edition. Chapter 53 : page 561- 571.
- Martinez-Viveros, 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. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10 : 293-319.
- Meyer, J.M., Geoffroy, V.A., Baida, N., Gardan, L., Izard D., Lemanceau, P., Achouak, W. and Palleroni, N.J. 2002. Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and non fluorescent *Pseudomonads*. *Applied Environmental Microbiology*. 68 : 2745-2753.
- Moëne-Loccoz, Y., Mavingui, P., Combes, C., Normand, P. and Steinberg, C. 2014. Microorganisms and biotic interactions. In: J. C. Bertrand, P. Caumette, P. Lebaron, and P. Normand (eds), *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Munees, A. and Mulugeta, K. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University*. 20-26.
- ParvathaReddy, P. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Recent advances in crop protection, Spinger India. 131-158.
- Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L. S. and Fernández, F.J. 2007. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *J. Microbiol. Methods*. 70 : 127-131.
- Pikovaskya, R. E. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Microbiologia*. 17 : 362-370
- Saharan BS. et V. Nehra. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, Volume 2011: LSMR-21.
- Schwyn, B. and Neilands, J. B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochem.* 160 : 47-56
- Sebihi, F. Z., Benguedouar, A., Benhizia, Y., Sanchez, J. and Gallego, E. 2016. Evaluation of multi-trait plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* isolated from Constantine Wheat rhizosphere Soil (Algeria) and screening their antifungal activity against two species of *Fusarium*. *Advances in Environmental Biology*. 10(5): 102-115.
- Silini, A. 2012. Effet des molécules osmoprotectrices sur la survie et la croissance de *Azotobacter* et sur la croissance du blé dur en milieu salin. Thèse de doctorat. Université Sétif 1, Algérie.
- Singh, J.S. and Singh, D.P. 2013. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): microbes in sustainable agriculture in M. Abdul, G. Elisabeth, A Madalena (Eds.), *Management of Microbial Resources in the Environment*, Springer, Heidelberg : 361-385.
- Srivastava, L.M. 2002. Chapter 6: Auxin in Plant Growth and Development: Hormones and Environment. Academic Press.
- Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich P.A., Mukerji, P., Weller, D.M. and Pierson, E.A. 1991. Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Applied and Environmental Microbiology*. 57 : 2928-2934.