

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض
Faculté Des Sciences de la Nature et de
la Vie et des Sciences de la Terre

Département : de biologie



جامعة الجيلالي بونعامة - خميس مليانة
Université Djilali Bounaama
Khemis Miliana
قسم : البيولوجيا

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Science de la nature et science de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

THEME

Utilisation d'isolats du genre *Bacillus* pour améliorer la qualité du blé

Réalisé par :

RIBOUH Fatma

BENSMALI Ismahan

Soutenu le 25/06/2025 devant le jury composé de :

Président(e)	Mme BOUCHIBA Z.	MCB	U. Khemis Miliana
Promoteur	M AIZI D.	MCB	U. Khemis Miliana
Examineur	Mme CASSASNI L.	MCB	U. Khemis Miliana

Remerciements

Louange à Dieu, qui nous a éclairés sur le chemin du savoir et de la connaissance, et qui nous a aidés à mener à bien ce travail. Avant toute chose, nous exprimons notre profonde gratitude envers Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour accomplir ce projet.

*Nous adressons notre haute considération et notre sincère reconnaissance à **Monsieur Aïzi Djamel Eddine**, encadrant de ce travail, pour la rigueur de son encadrement scientifique, son suivi constant, ainsi que pour ses orientations précieuses qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire dans les meilleures conditions.*

*Nous remercions également **Madame Bouchiba.Z**, présidente du jury, ainsi que **Madame Casasni.L**, examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour leurs remarques constructives. Nous exprimons aussi notre gratitude à l'ensemble des enseignants qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide, de près ou de loin, durant l'élaboration de ce projet.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements particuliers à **Madame Wassila** l'ingénieure du laboratoire botanique et **Madame Nadjiba** l'ingénieure du laboratoire microbiologie, pour leur soutien constant, leur disponibilité et leurs conseils précieux, qui ont joué un rôle déterminant dans le bon déroulement de ce travail. Nous remercions également **Madame Souhila** l'ingénieure du laboratoire biochimie pour sa collaboration et son assistance appréciée durant les différentes étapes de ce projet.*

Dédicace



*Je remercie de tout cœur mes chers parents, **Berakaa et Kheira**, qui ont toujours été mon pilier à chaque étape. Mon père, pour ton courage et ton dévouement, et ma mère, pour ta tendresse, ta patience et ton soutien inconditionnel. Après Dieu, je vous dois tout ce que j'ai pu accomplir. Merci pour tous les sacrifices que vous avez faits pour nous.*

*Tout mon amour et mon respect à **mes grands-parents**, que j'estime profondément. Je les remercie pour leur soutien, leur tendresse et leurs prières sincères qui m'accompagnent toujours.*

*À mes chers frères, **Younes et Mohamed**, Vous êtes cette force silencieuse qui m'a toujours soutenue. Votre présence discrète, votre confiance et vos encouragements ont été pour moi une source de courage et de sérénité. À mes précieuses sœurs, **Amina, Sara et Soumia**, Vous êtes le cœur tendre de ma vie. Par vos mots doux, vos prières sincères et vos sourires constants, vous m'avez portée dans les moments les plus exigeants. Merci d'avoir été ce refuge affectueux dont j'avais tant besoin.*

*Je n'oublie pas de remercier mes oncles: **Ahmed et Fodhil**, qui ont toujours été proches de moi par leur soutien et leurs paroles bienveillantes.*

*À mes chers neveux et nièces: **Abdelhadi, Diaa, Alaa, Rajaa et Wildane** Vous occupez une place particulière dans mon cœur, remplie d'un amour sincère et d'une profonde fierté.*

*À mes chères amies : **Fatima, Marwa, Wildane, Khawla, Chaima, Narimane** merci pour votre belle amitié et pour avoir été présentes à mes côtés en toutes circonstances.*

*Et à mon binôme de ce travail, **Ismahan**, Compagne de route et d'effort, tu as été bien plus qu'une collaboratrice. Tu es l'âme vive de ce projet, avec ton énergie, ton optimisme et ta patience. Ensemble, nous avons relevé les défis, partagé les doutes, les idées, et les longues heures de travail.*

Roumaissa

Dédicace



*À mon père **Mohamede**, mon père et mon professeur à l'école primaire exemple de persévérance et de sagesse, dont les conseils m'ont toujours guidée avec justesse. Je te dois une grande partie de ce chemin accompli*

*. À ma mère bien-aimée **Kheira**, qui a su, par son amour et ses sacrifices, semer en moi la passion du savoir et le goût de l'effort. Ce travail est le fruit de ton soutien indéfectible.*

*À mes chers frères **Kamel et Fouad**.*

*À mes chers sœurs **fatima, Hayat Fathia, Nadhira et sohila** et à la femme de mon frère **Hanan**, pour leur présence, leurs encouragements et leur confiance en moi, je dédie cette modeste œuvre avec toute ma reconnaissance, merci d'être ici.*

*À mes amies **Amina, Ibtissam, Aicha***

À tous ceux qui m'ont encouragé de près ou de loin, merci pour votre soutien et votre présence dans ma vie.

*À ma binôme **Roumaissa**, Merci pour ta patience et ton soutien constant à chaque moment de fatigue que nous avons traversé ensemble. Avec toi, j'ai appris que la coopération et la patience font toute la différence, et grâce à notre persévérance, nous avons surmonté les difficultés et sommes devenues plus fortes. J'espère que notre amitié et notre partenariat continueront toujours, et que nous réaliserons ensemble encore plus de succès et de beaux moments.*

Ismahan

Résumé:

Les céréales, particulièrement le blé dur, sont des ressources nutritionnelles et économiques capitales. Cette étude a évalué l'impact de deux isolats bactériens de *Bacillus* (Isolat 1 et Isolat 2) sur la croissance des semences de blé dur 'Oued El-Bared'. Les semences ont été cultivées dans différents sols (stérilisé, sans agrochimiques, avec pesticides) et comparées à un traitement NPK sulfate, évaluant germination, développement végétal et potentiel biopesticide.

En 23 jours, les résultats ont montré une nette amélioration. L'Isolat 2 a notamment permis un **taux** de germination de 100% dès le 3ème jour. Pour le développement racinaire, l'Isolat 2 a atteint une longueur de 4,1 cm au 3ème jour, et l'Isolat 1 jusqu'à 4,9 cm au 4ème jour. Le développement foliaire a aussi été stimulé, avec 95% d'apparition des premières feuilles pour l'Isolat 2 entre le 6ème et le 9ème jour, et 100% des deux premières feuilles dès le 15ème jour. À 23 jours, les feuilles ont atteint 25,5 cm avec l'Isolat 2 et 24,3 cm avec l'Isolat 1 en sol non traité, surpassant le NPK. Les isolats ont aussi augmenté la teneur en chlorophylle et démontré une activité antifongique significative contre un phytopathogène. Ces *Bacillus* présentent donc un double potentiel de biostimulation et de protection des cultures.

Mots-clés: *Bacillus*, bio-engrais, biostimulation, blé dur, PGPR.

Abstract

Cereals, particularly durum wheat, represent crucial nutritional and economic resources. This study investigated the impact of two *Bacillus* bacterial isolates (Isolate 1 and Isolate 2) on the growth of 'Oued El-Bared' durum wheat seeds. Seeds were cultivated in different soil conditions (sterilized, agrochemical-free, and pesticide-enriched) and compared to an NPK sulfate treatment, evaluating germination, plant development, and biopesticide potential.

Over 23 days, the results showed significant improvement. Isolate 2, notably, achieved a 100% germination rate by the 3rd day. For early root development, Isolate 2 reached a length of 4.1 cm by the 3rd day, and Isolate 1 up to 4.9 cm by the 4th day. Foliar development was also stimulated, with 95% emergence of the first leaves for Isolate 2 between the 6th and 9th days, and 100% of the first two leaves by the 15th day. By day 23, leaf lengths reached 25.5 cm with Isolate 2 and 24.3 cm with Isolate 1 in untreated soil, surpassing NPK. The isolates also increased chlorophyll content and demonstrated significant antifungal activity against a phytopathogen. These *Bacillus* strains thus present a dual potential for biostimulation and crop protection.

Keywords: *Bacillus*, bio-fertilizer, biostimulation, durum wheat, PGPR.

ملخص

جنس *Bacillus* (العزلة 1 والعزلة 2) على نمو وتطور بذور القمح الصلب من صنف "وادي البارد". تمت زراعة البذور، بعد تلقيحها بمحلول بكتيري، في ظروف تربة مختلفة: تربة معقمة، وتربة خالية من المدخلات الزراعية الكيميائية (الأسمدة والمبيدات)، وتربة مخصبة بالمبيدات الكيميائية. وتم تقييم فعالية العزلات البكتيرية مقارنة بفعالية الأسمدة الكيميائية (كبريتات NPK)، مع الأخذ في الاعتبار تحسين معايير الإنبات والجودة العامة للنبات. وبالتوازي، تم فحص دورها المحتمل كمبيدات حيوية.

على مدار فترة تجريبية استمرت 23 يومًا، تم تتبع العديد من المعايير الرئيسية، بما في ذلك معدل الإنبات وتطور الجذور والأوراق. وقد أظهرت التحليلات تحسناً ذا دلالة إحصائية في هذه المؤشرات في البذور المعالجة بالبكتيريا. وبشكل أكثر تحديداً، أظهرت العزلة 2 قدرة ملحوظة على تحفيز معدل إنبات بنسبة 100% بحلول اليوم الثالث، متفوقة بوضوح على فعالية كبريتات NPK والعزلة 1. فيما يتعلق بالنمو المبكر للجذور (اليوم الثالث)، أتاحت العزلتان 1 و2 تحقيق أكبر عدد من الجذور (3 إلى 6)، حيث سهلت العزلة 2 طولاً أقصى للجذور بلغ 4.1 سم بحلول اليوم الثالث. وبحلول اليوم الرابع، تميزت العزلة 1 بتحقيق طول جذري أقصى بلغ 4.9 سم. كما تم تحفيز نمو الأوراق، حيث أظهرت العزلة 2 نسبة 95% من ظهور الأوراق الأولى بين اليومين السادس والتاسع، و 100% من ظهور الأوراق الأولى والثانية بحلول اليوم الخامس عشر. بحلول اليوم الثالث والعشرين، وصل طول الأوراق إلى 25.5 سم مع العزلة 2 و 24.3 سم مع العزلة 1 في التربة غير المعالجة، متجاوزة أداء معالجات NPK علاوة على ذلك، أدت العزلتان المختبرتان إلى زيادة ملحوظة في محتوى الكلوروفيل في الأوراق، متجاوزة حتى التأثيرات الملاحظة مع تطبيق الأسمدة الكيميائية. وإلى جانب ذلك، أظهرت هذه العزلات نشاطاً مضاداً للفطريات ذا دلالة إحصائية ضد مسببات الأمراض الفطرية النباتية، مثبتة نموها عن طريق تحليل الكيتين في جدارها الخلوي. تؤكد هذه النتائج أن سلالات *Bacillus* المستخدمة تُظهر خصائص تعزز نمو النبات، وتشير أيضاً إلى إمكانية حماية محتملة ضد العوامل المسببة للأمراض الفطرية النباتية.

الكلمات المفتاحية: *Bacillus* سماد حيوي، التحفيز الحيوي، القمح الصلب، الكائنات الدقيقة المفيدة، البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR)

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Partie 1: Synthèse Bibliographique	
Chapitre I: Blé Dur	3
1. CEREALICULTURE : CONTEXTE MONDIAL ET IMPORTANCE STRATEGIQUE EN ALGERIE	3
2. GENESE ET DIFFUSION DU BLE : APERÇU HISTORIQUE ET DEFINITION.....	4
3. DIVERSITE VARIETALE ET CATEGORIES DE BLE	6
3.1 Blé tendre (<i>Triticum aestivum</i> L.)	7
3.2 Blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.).....	7
3.3 Blé mitadin	7
4. MORPHOLOGIE ET CARACTERISTIQUES APPARENTES DU BLE DUR.....	7
4.1 Grain (caryopse)	8
4.2. Système racinaire.....	8
4.3. Tige (chaume).....	9
4.4. Feuilles.....	9
4.5. Inflorescence (l'épi)	9
5. CLASSIFICATION DU BLE DUR	10
5.1. Classification botanique.....	10
5.2. Classification Génétique du blé dur.....	10
5. CYCLE PHYSIOLOGIQUE DU BLE.....	11
5.1. Période végétative.....	11
5.2. Maturation du grain	13
6. EXIGENCES AGROECOLOGIQUES DE LA CULTURE DU BLE DUR	14
6.1 Température.....	14
6.2 Lumière.....	15
6.3 Eau.....	15
6.4 Sol.....	15
6.5 Fertilisation	16
Chapitre II: Bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR).....	17
1. DEFINITION ET CLASSIFICATION DES PGPR	17
2. COLONISATION DE LA RHIZOSPHERE ET INTERACTIONS PLANTE-MICROBE	19
3. PRINCIPAUX MECANISMES D'ACTION DES PGPR	19
3.1. Bio fertilisation	19
3.2. Bioprotection	20
3.3. Stimulation de la croissance des plantes.....	20
4. ROLE DES PGPR DANS L'AGRICULTURE DURABLE	21
Chapitre III: <i>Caractéristiques, diversité, potentiel PGPR du genre Bacillus.</i>	

1.	TAXONOMIE ET CARACTERISTIQUES GENERALES DU GENRE BACILLUS.....	23
2.	DIVERSITE DES ESPECES DE BACILLUS ET DE LEURS METABOLISMES	23
3.	MECANISMES D'ACTION SPECIFIQUES DES BACILLUS EN TANT QUE PGPR.....	24
3.1.	Solubilisation des nutriments.....	24
3.2.	Production de phytohormones	24
3.3.	Induction de résistance systémique (ISR).....	24
3.4.	Activité antimicrobienne.....	24
4.	AVANTAGES ET LIMITES DE L'UTILISATION DES BACILLUS EN AGRICULTURE.....	25
5.	EFFETS DES BACILLUS SUR LA TENEUR EN PROTEINES ET LA COMPOSITION EN ACIDES AMINES DU BLE.....	27
6.	INFLUENCE DES BACILLUS SUR LA QUALITE DU GLUTEN ET LES PROPRIETES RHEOLOGIQUES DE LA FARINE.....	27
7.	ROLE DES BACILLUS DANS L'ACCUMULATION DE MICRONUTRIMENTS DANS LE GRAIN DE BLE	28
8.	ÉTUDES DE CAS ET RESULTATS ANTERIEURS SUR L'UTILISATION DE BACILLUS POUR AMELIORER LA QUALITE DU BLE	28
8.1.	Amélioration de la teneur en protéines	28
8.2.	Influence sur la qualité du gluten.....	28
8.3.	Biofortification en micronutriments	29
Partie 02: Etude expérimentale		
Chapitre I: Materiel et Methodes.....		
30		
1.	CARACTERISATION DES SOUCHES BACTERIENNES	30
1.1.	Cadre temporel et spatial de l'étude	30
1.2.	Matériel biologique.....	30
1.3.	Enrichissement des bactéries	30
1.4.	Ensemencement et conditions de culture.....	30
1.5.	Purification et conservation des souches pures.....	31
1.6.	Identification phénotypique	31
2.	CULTURE DU BLE AVEC PGPR.....	39
2.1.	Enrichissement des bactéries pour la culture du blé.....	40
2.2.	Incubation pour réactiver la croissance.....	40
2.3.	Préparation des graines de blé	41
2.4.	Conditions de culture et conception expérimentale	42
2.5.	Paramètres ont Suivi de la croissance de blé	43
Chapitre II: Resultats et Discussion.....		
30		
1.	Resultats de l'identification phenotypique.....	44
1.1	Caractérisations morphologiques.....	44
1.2	Caractérisation physiologique.....	46
1.3	Caractérisation biochimique	47
2.	RESULTATS DE LA CROISSANCE DU BLE	60
2.1.	Effet biofertilisant des isolats de 1ere jour au 5émejours.....	60
2.2.	Effet Biofertilisant des Isolats sur la Croissance Précoce du Blé (6ème au 9ème	

Jour)	63
2.3. Effet Biofertilisant des Isolats sur le Développement du Blé (11ème au 23ème	
Jour)	65
Conclusion et perspectives	91
Références bibliographiques	91
Annexes	97

List des abbreviations:

B: Bactérie.

BN: Bouillon Nutritive.

C°: Degré Celsius

CA: Chitin –Agar.

CCL: cooperative des céréales et des legumes secs.

Ch: champignon.

GN: Gélose Nutritive.

N2: Azote Atmosphérique.

PH: Potential d'Hydrogène.

PDA: Potato Dextrose Agar.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

RM: Rouge de méthyle.

VP: Voges-Proskauer.

Liste des figures

i

Figure 01: Carte de la diffusion de la culture de blé.....	06
Figure 02: Anatomie schématique du grain de blé et proportion relative des principaux tissus du grain.....	08
Figure 03: Les différents stades de développement du blé.....	14
Figure 04: PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique	18
Figure 05: Mécanismes phytobenefiques des PGPR dans la rhizosphère	21
Figure 06: les isolats Conservé.....	30
Figure 07: Méthodologie de travaux.....	31
Figure 08: Application des disques d'antibiotique.....	39
Figure 09: les feuilles de blé infectées.....	40
Figure 10: la récupération de culot	42
Figure 11: Les étapes de l'inoculation des grains du blé avec la <i>Bacillus</i>	44
Figure 12: la culture du blé dans les pots	45
Figure 13: Les feuilles de blé utilisée pour le teste chlorophylle	47
Figure 14: L'aspect macroscopique des souches.....	48
Figure 15: observation microscopique de la coloration par le bleu de méthylène.....	49
Figure 16: observation microscopique de la coloration de Gram.....	50
Figure 17: observation microscopique de la spore après coloration au vert malachite de la souche	50
Figure 18: la croissance des souches dans différents températures.	51
Figure 19: Test catalase	52
Figure 20: Test oxydase.....	52
Figure 21: résultats de la recherche de nitrate réductase après l'ajoute des réactifs NIT I et NIT II et poudre de Zinc.....	53
Figure 22: résultats de test mannitol mobilité	54
Figure 23: les résultats de test RM et VP	55

Figure 24: les résultats du test citrate de Simmons	55
Figure 25: L'étude des types respiratoire	56
Figure 26: Test de cellulose.....	57
Figure 27: T'activité lipolytique.....	57
Figure 28: T'activité protéolytique des souches	58
Figure 29: L'Activité chitinolytique	59
Figure 30: Test Lecithinase	59
Figure 31: Test Urée indole.....	60
Figure 32: La Galerie API 20 E des deux souches	62
Figure 33: Les résultats de l'antibiogramme	64
Figure 34: L'aspect macro et microscopique du champignon.....	64
Figure 35: Test antagonisme.....	65
Figure 36: Histogramme représentant le pourcentage de germination des graines de blé en fonction des différents traitements.....	67
Figure 37: les graines germinées dans la 3eme jour.....	69
Figure 38: Les racines des graines germinées dans différents traitements	71
Figure 39: Histogramme de pourcentage l'apparition des feuilles du blé en fonction des différents traitements	72
Figure 40: La longueur des feuilles 18 jours.....	73
Figure 41: Histogramme représentant le pourcentage d'apparition des deux premières feuilles du blé en fonction des différents traitements	77
Figure 42: Histogramme de pourcentage de l'apparition de trois feuilles.....	79
Figure 43: La longueur des racines de 23 jours de croissance	81

Liste des tableaux

Tableau 01: Classification botanique du blé dur	10
Tableau 02: Classification Génétique du blé dur.....	11
Tableau 03: Matériel végétale	41
Tableau 04: les caractéristiques du sol utilisée.....	41
Tableau 05: L'aspect macroscopique des isolats	48
Tableau 06: L'effet de température	51
Tableau 07: Les résultats de l'urée indole et gélatine	60
Tableau 08: La Galerie API 20 E.....	61
Tableau 09: L'activité des antibiotiques.....	62
Tableau 10: L'étude macroscopique de champignon.....	65
Tableau 11: La croissance des racines (3eme jour).....	68
Tableau 12: les résultats de la croissance des racines (4eme jour).....	70
Tableau 13: La longueur des feuilles	74
Tableau 14: Les Résultats de test de chlorophylle et de la longueur des racines	83

Introduction



Introduction

L'avènement de l'agriculture conventionnelle au cours du XXe siècle a marqué le début d'une ère de productivité agricole sans précédent, essentielle pour subvenir aux besoins d'une population mondiale en croissance exponentielle (**Tilman *et al.*, 2002**). Cependant, ce paradigme agricole, intrinsèquement dépendant d'intrants synthétiques tels que les engrais chimiques et les pesticides, révèle désormais ses limitations et ses ramifications environnementales délétères (**Pretty, 2008**). L'usage pléthorique de ces substances concourt de manière significative à la dégradation de la structure et de la fertilité des sols (**Lal, 2015**), à la contamination des ressources hydriques, qu'il s'agisse des eaux de surface ou souterraines (**Carpenter *et al.*, 1998**), à l'érosion de la biodiversité (**MEA, 2005**), et suscite de surcroît des préoccupations croissantes quant à leur impact sur la santé humaine et l'intégrité des écosystèmes (**Guillette *et al.*, 2006**). Face à ce constat alarmant, une transition vers des systèmes agricoles plus durables et résilients s'impose avec une impérieuse nécessité (**Reganold et Wachter, 2016**).

L'agriculture durable, dans sa quête perpétuelle de pratiques respectueuses de l'environnement et de la santé publique, explore activement des stratégies alternatives aux intrants chimiques conventionnels. Parmi ces approches novatrices, l'exploitation du potentiel inhérent aux micro-organismes bénéfiques du sol, et plus particulièrement des bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), suscite un intérêt scientifique et agronomique exponentiel (**Vessey, 2003**). Ces micro-organismes, naturellement présents au sein de la rhizosphère, établissent des interactions complexes avec les systèmes racinaires des végétaux, conférant une pluralité d'effets positifs sur leur croissance, leur nutrition et leur résilience face aux stress biotiques et abiotiques (**Lugtenberg et Kamilova, 2009**).

Le genre bactérien *Bacillus* se distingue au sein des PGPR par une diversité métabolique remarquable (**Bergey *et al.*, 2012**), sa capacité intrinsèque à former des endospores lui conférant une résistance exceptionnelle aux conditions environnementales adverses (**Nicholson *et al.*, 2000**), et la multiplicité de ses mécanismes d'action bénéfiques pour les plantes (**Ryan *et al.*, 2009**). Des investigations scientifiques ont démontré que certaines souches de *Bacillus* sont aptes à solubiliser des nutriments essentiels tels que le phosphore et le potassium (**Rodriguez et Fraga, 1999**), à participer à la fixation de l'azote atmosphérique (bien que cette capacité soit moins prédominante chez *Bacillus* comparé à d'autres genres) (**Ashby *et al.*, 2004**), à synthétiser des phytohormones stimulant la croissance racinaire et aérienne (**Spaepen *et al.*, 2007**), à induire une résistance systémique acquise (ISR) aux agents pathogènes (**Van Loon *et al.*, 1998**), et à exercer une

compétition efficace contre les micro-organismes nuisibles dans la rhizosphère (**Raaijmakers et al., 2002**).

Bien que l'impact des *Bacillus* sur l'amélioration du rendement des cultures soit de plus en plus corroboré par la littérature scientifique (**Beneduzi et al., 2012**), leur rôle spécifique dans l'accroissement de la vigueur et des paramètres de croissance précoce des cultures, et notamment celle du blé (*Triticum aestivum* L.), mérite une investigation approfondie. Le blé, céréale fondamentale pour l'alimentation humaine à l'échelle mondiale (**FAO, 2020**), dont la vigueur initiale est cruciale pour le succès de la culture et le rendement ultérieur, représente un modèle pertinent pour de telles investigations.

Dans ce contexte, le présent mémoire se propose d'explorer le potentiel de différentes souches de *Bacillus* isolées ou sélectionnées pour leurs propriétés PGPR, en tant qu'agents biologiques susceptibles d'améliorer spécifiquement la germination et les premiers stades de croissance du blé (développement racinaire et foliaire, teneur en chlorophylle). Cette étude ambitionne de décrypter les mécanismes par lesquels ces bactéries peuvent influencer ces paramètres de croissance végétale, contribuant ainsi au développement de stratégies agricoles plus durables et à l'optimisation des pratiques de culture du blé pour faire face aux enjeux contemporains de sécurité alimentaire.

Partie 1:
Synthèse
bibliographique



Chapitre I: Blé dur



Chapitre I: Blé dur

1. Céréaliculture: Contexte mondial et importance stratégique en Algérie

Les céréales, notamment le blé (*Triticum spp.*), le riz (*Oryza sativa*) et le maïs (*Zea mays*), constituent depuis des siècles le fondement de l'alimentation humaine pour une part considérable de la population mondiale. Selon les perspectives de l'OCDE et de la FAO (2021), la production agricole mondiale devrait connaître une croissance annuelle de 1,4 % au cours de la prochaine décennie. Cette expansion sera principalement stimulée par les économies émergentes et les pays à faible revenu, s'appuyant sur l'amélioration des technologies, des infrastructures, de la formation agricole et sur des investissements ciblés visant à accroître la productivité, facteurs déterminants du développement agricole. Il est impératif que l'agriculture demeure une priorité, et que les dépenses publiques et privées soient orientées de manière adéquate pour renforcer la productivité agricole, en particulier dans les nations aux ressources publiques limitées et dont l'économie dépend intrinsèquement du secteur agricole (OCDE/FAO, 2021).

En Algérie, la filière des céréales, et plus spécifiquement celle du blé, revêt une importance stratégique significative. Elle a historiquement constitué un instrument de mise en œuvre des politiques alimentaires de l'État, notamment par le biais du contrôle des prix et du monopole sur les importations. Les premières initiatives économiques axées sur le développement agricole et alimentaire ont eu pour objectif d'intensifier et de restructurer la production agricole nationale, dans la perspective d'atteindre trois objectifs majeurs: satisfaire les besoins alimentaires des populations, en particulier les plus vulnérables, diversifier la ration alimentaire nationale et atteindre un certain niveau d'autosuffisance en produits alimentaires.

Les céréales et leurs produits dérivés représentent une source d'alimentation essentielle dans de nombreux pays en développement, notamment ceux du Maghreb. En Algérie, la filière céréalière constitue une composante majeure de la production agricole. Les produits céréaliers jouent un rôle crucial dans le système alimentaire et l'économie nationale algérienne, comme en témoignent les différentes étapes de la filière. La production de céréales, incluant les surfaces en jachère, occupe environ 80 % de la surface agricole utile (SAU) du pays, avec des superficies cultivées annuellement variant entre 3 et 3,5 million d'hectares. Les récoltes annuelles concernent 63 % des terres emblavées, conférant aux céréales le statut de culture dominante. Cette culture est pratiquée par la majorité des exploitations agricoles, représentant 60 % de l'effectif total (RGA, 2001, cité dans Djermoun, 2009), et est fréquemment associée à la jachère. Les céréales sont cultivées dans

divers types de zones bioclimatiques, y compris dans les régions sahariennes. De plus, le secteur céréalier génère plus de 500 000 emplois, qu'ils soient permanents ou saisonniers (**Ministère de l'Agriculture, cité dans Djermoun, 2009**).

Toutefois, l'Algérie présente un écart croissant entre l'offre et la demande de céréales, avec une part significative de la consommation (environ 70 %) assurée par les importations (**Chabane et Boussard, 2012**). Les céréales représentent un peu plus de 20 % du total des importations du pays, avec une part annuelle moyenne des importations mondiales de blé se situant entre 3,8 % et 5,1 % (**Foreign Agricultural Service, USDA, 2011**). La consommation de ces produits atteint un niveau d'environ 205 kg par habitant et par an (**CHEHAT, 2007**). Ce recours important aux importations résulte de plusieurs facteurs, notamment une croissance démographique soutenue, une consommation alimentaire élevée en partie due à l'exode rural, une situation aggravée par des conditions matérielles du secteur agricole parfois difficiles et une diminution notable des ressources en eau. Cette dépendance croissante aux marchés internationaux d'approvisionnement alimentaire expose l'Algérie à des risques réels concernant la garantie de sa sécurité alimentaire (**Chabane et Boussard, 2012**).

2. Genèse et diffusion du blé: Aperçu historique et définition

Les découvertes archéologiques ont permis d'établir une cartographie relativement précise des étapes de l'expansion de la culture des blés à partir du Croissant fertile durant le huitième et septième millénaire avant notre ère (**Bonjean, 2001**). Cette diffusion initiale s'est amorcée dans le Nord-Ouest et le Nord du Levant. Le principal mouvement migratoire vers l'Europe a débuté vers 8000 av. J.-C., à partir du bassin anatolien en direction de la Grèce, suivant deux voies distinctes. La première, autour de 7000 av. J.-C., s'est orientée vers les plaines côtières septentrionales du bassin méditerranéen (Italie, France, Espagne), tandis que la seconde a traversé les Balkans, empruntant la vallée du Danube jusqu'à la vallée du Rhin entre 7000 et 6000 av. J.-C. De là, le blé s'est largement répandu dans le Nord, le Centre et l'Ouest de l'Europe, atteignant ces régions vers 5000 av. J.-C. Les variétés de blé impliquées dans cette dispersion étaient principalement des mélanges à dominance d'amidonier (*Triticum dicoccum*), comprenant également une présence significative d'engrain (*Triticum monococcum*), ainsi que des variétés de blés nus, tétraploïdes et hexaploïdes. L'épeautre (*Triticum spelta*) ne semble pas avoir fait partie de ces introductions initiales (**Bonjean, 2001**).

Un autre courant de diffusion, de moindre ampleur, a traversé la Transcaucasie et le Caucase vers 7000 av. J.-C., atteignant le Sud de la Russie vers 6000 av. J.-C., puis l'Europe centrale. Ces

introductions étaient majoritairement composées de blés hexaploïdes nus (*Triticum aestivum* et *Triticum compactum*) et incluaient de faibles quantités d'épeautre (**Bonjean, 2001**).

La dispersion du blé vers l'Asie s'est effectuée par le Nord de l'Iran, atteignant l'Ouest du Pakistan vers 6500 av. J.-C., le Balouchistan vers 6000 av. J.-C., puis la plaine de l'Indus vers 5300 av. J.-C., où il est devenu une culture prédominante. Les premiers blés de cette vague comprenaient l'en grain et l'amidonner, ainsi qu'une forme de blé tétraploïde à grain nu. Les premières traces de blé hexaploïde nu à grain sphérique datent d'environ 5000 av. J.-C. La diffusion en Asie de l'Est a suivi plusieurs itinéraires : un flux de blé tendre à grain blanc a emprunté la route de la soie, partant du Turkestan pour rejoindre le Xinjiang et la vallée du Fleuve Jaune, tandis qu'un autre flux de blés tendres à grain rouge a traversé la plaine du Pendjab entre le Pakistan et l'Afghanistan, se divisant ensuite vers le sous-continent indien et la Birmanie via le Yunnan et le Sichuan. Ces voies de diffusion se sont fréquemment entrecroisées, atteignant la Chine de l'Est et la Corée vers 3500 av. J.-C., puis le Japon vers 2300 av. J.-C. (**Bonjean, 2001**).

Concernant l'Afrique, plusieurs voies de diffusion du blé ont été identifiées. La plus ancienne a atteint l'Égypte vers 6000 av. J.-C., se prolongeant vers le Soudan et l'Éthiopie au sud, ainsi que vers la Libye à l'ouest. D'autres introductions ont eu lieu par voie maritime, depuis la Grèce et la Crète, certains blés atteignant également la Libye, tandis que d'autres, provenant du Sud de la péninsule italienne et de Sicile, ont gagné les côtes de la Tunisie, du Maroc et de l'Algérie. Il semblerait que les courants initiaux aient principalement concerné l'amidonner et de faibles quantités de blé nu tétraploïde, l'en grain n'ayant été retrouvé qu'à l'état de traces très rares et tardives au Maroc. Le blé dur (*Triticum durum*) n'est devenu une culture majeure en Égypte qu'à partir de la période grecque, vers 2300 av. J.-C. (**Bonjean, 2001**).

Bien que la dispersion du blé vers l'Eurasie et l'Afrique remonte à une période très reculée, c'est en 1529 que le blé, en particulier le blé tendre, fut introduit en Amérique par les Espagnols. En Australie, son introduction par les Anglais ne se produisit qu'en 1788, à partir de pools génétiques européens. Entre le XVIIe et le XIXe siècle, l'expansion des blés européens s'est intensifiée par vagues successives dans les territoires colonisés par l'Occident, donnant naissance à de nouvelles régions de production de blé significatives en Amérique du Nord et du Sud, en Afrique du Nord, ainsi que dans les territoires du Commonwealth, notamment au sein de l'Empire des Indes (**Bonjean, 2001**).

Sur les Hautes Plaines Orientales algériennes, la culture pluviale du blé dur constitue, avec l'orge (*Hordeum vulgare*) et l'élevage ovin, l'activité agricole principale. La production de blé dur est

majoritairement autoconsommée au sein des exploitations, et les résidus de la culture sont utilisés pour l'alimentation du bétail (**Mouret *et al.*, 1988**).

Le blé représente la céréale de base du régime alimentaire en Algérie, consommé principalement sous forme de pain, élaboré à partir de farine de blé tendre, ou de galettes de semoule de blé dur, souvent préparées artisanalement au sein des foyers. Le pain et les galettes sont fréquemment substituables dans la consommation (**FAO, 2005**).

Le blé dur est principalement destiné à la fabrication de semoules, lesquelles sont utilisées dans la production de pâtes alimentaires sèches et de couscous.

Le blé dur s'inscrit dans une filière singulière à plusieurs égards. Il approvisionne exclusivement le secteur de l'alimentation humaine pour la production de pâtes alimentaires. Les procédés de transformation concernent uniquement l'amande du grain, établissant ainsi un lien direct entre la qualité du grain et celle du produit final consommé. Une attention particulière doit donc être accordée à l'obtention de la qualité désirée dès le stade de la production (**Abécassis *et al.*, 2021**).

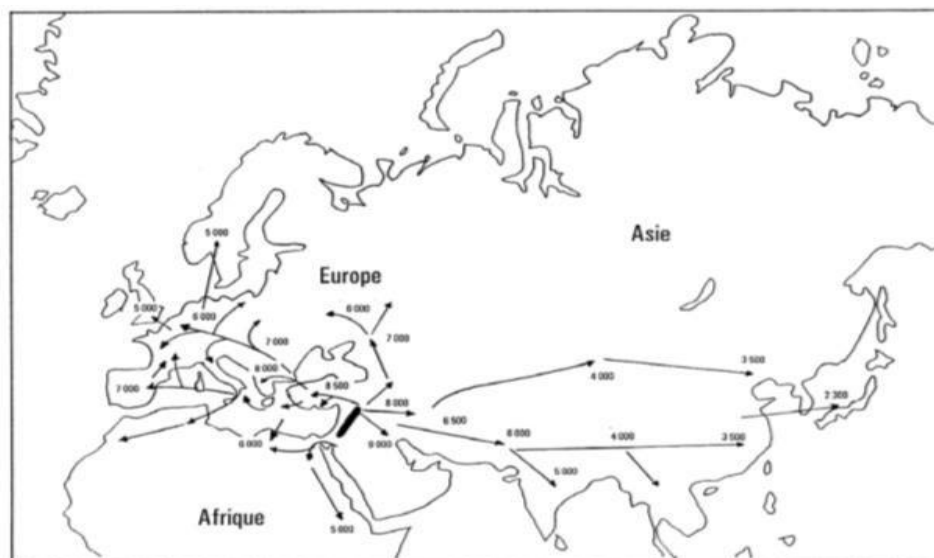


Figure 01: Carte de la diffusion de la culture de blé. (**Alain Bonjean January, 2001**).

3. Diversité variétale et catégories de blé

Le genre *Triticum* comprend une vaste diversité de types de blé. Les agriculteurs et les producteurs s'emploient continuellement à sélectionner et à adapter ces variétés en fonction des caractéristiques pédologiques et des conditions climatiques spécifiques aux régions de culture, dans le but d'optimiser la productivité. Ces multiples variétés sont généralement regroupées en trois catégories principales, distinctes par leurs caractéristiques morphologiques et leurs aptitudes technologiques.

3.1. Blé tendre (*Triticum aestivum* L.)

Les grains de blé tendre se caractérisent par une forme arrondie et des enveloppes denses et opaques. Cette catégorie de blé est particulièrement bien adaptée à la mouture. En effet, lors du passage à travers les cylindres du moulin, les enveloppes s'aplatissent et s'ouvrent sans être excessivement fragmentées, facilitant la séparation de l'amande et générant une proportion élevée de son (Ait–slimane-ait-kaki, 2008). Le blé tendre produit une farine de qualité supérieure, dont la teneur en gluten se situe approximativement entre 8 et 10 %, conférant à cette farine d'excellentes propriétés viscoélastiques pour la panification (Ait–slimane-ait-kaki, 2008).

3. 2.Blé dur (*Triticum durum* Desf.)

Le blé dur constitue une céréale intégrée dans une filière agroalimentaire spécifique à plusieurs égards. Il est exclusivement destiné à l'alimentation humaine pour la production de pâtes alimentaires – qui représentent un aliment de base dans certains pays – et de couscous (Abécassis *et al.*, 2021). Les processus de transformation du blé dur concernent uniquement l'amande du grain, établissant ainsi une corrélation directe entre la qualité du grain initial et celle du produit fini consommé. Par conséquent, une attention particulière doit être accordée à l'obtention des caractéristiques qualitatives recherchées dès le stade de la production agricole (Abécassis *et al.*, 2021).

En Algérie, le blé dur (*Triticum durum* Desf.) représente la principale espèce céréalière cultivée (Abdelhamid *et al.*, 2006), notamment dans les régions caractérisées par un climat chaud et sec (Abdelhamid *et al.*, 2006). Les grains de blé dur présentent une forme allongée, parfois pointue, avec des enveloppes fines et légèrement translucides. Lors de la mouture, ils produisent une quantité de son inférieure à celle du blé tendre. Bien que la farine issue du blé dur présente une teneur en gluten plus élevée, variant de 12 à 14 %, elle est intrinsèquement moins adaptée à la panification traditionnelle (Ait–slimane et ait-kaki, 2008).

3. 3. Blés mitadin

Les blés mitadin présentent des caractéristiques intermédiaires entre celles du blé tendre et du blé dur. Il s'agit généralement de variétés de blé dur dont la texture du grain est jugée trop tendre pour une transformation optimale en semoule. Ces blés peuvent occasionnellement être utilisés en meunerie, à l'instar du blé de force, qui est parfois mélangé à des blés tendres dans le but de produire des farines aux propriétés spécifiques (Abécassis et Autran, 2012).

4. Morphologie et caractéristiques apparentes du blé dur

Le blé, selon Feillet (2000), est une plante monocotylédone appartenant au groupe des céréales à paille, caractérisées par des critères morphologiques spécifiques et classées au sein du genre

Triticum, dans la famille des *Poaceae* (anciennement *Gramineae*). Il s'agit d'une céréale dont le grain constitue un fruit sec indéhiscant, désigné sous le terme de caryopse (Feillet, 2000).

Le caryopse du blé dur présente une structure complexe, constituée de différentes parties dont les caractéristiques morphologiques sont décrites ci-après:

4. 1. Grain (caryopse)

Le grain de blé, ou caryopse, est un fruit sec dont la particularité réside dans l'adhérence étroite de la seule graine à l'enveloppe qui la contient. En examinant le grain de l'extérieur vers le centre, on distingue successivement l'enveloppe du fruit, ou péricarpe, puis l'enveloppe de la graine, appelée tégument séminal ou testa. À l'intérieur de la graine se trouvent l'épiderme du nucelle, l'albumen (ou endosperme) et l'embryon (ou germe). Chaque type de tissu constituant le grain possède une structure et une composition biochimique spécifiques (Barron *et al.*, 2012).

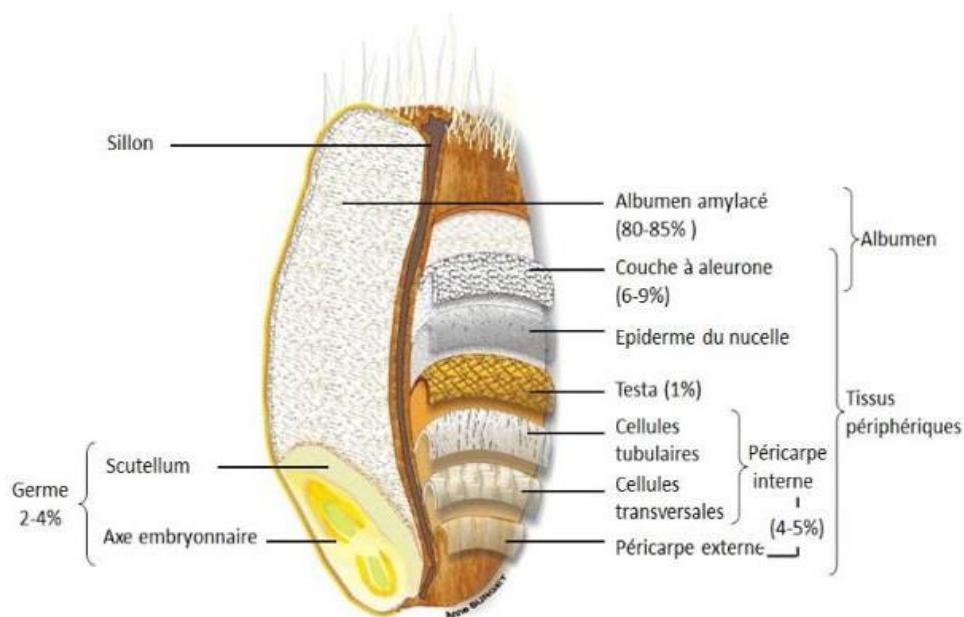


Figure 02: Anatomie schématique du grain de blé et proportion relative des principaux tissus du grain. (Surget *et al.*, 2005).

4. 2. Système racinaire

Le système racinaire mature du blé est de type fasciculé, constitué d'un ensemble dense de racines adventives qui se développent à partir de la coléoptile et des nœuds inférieurs de la tige principale et des talles (Dupont *et al.*, 2020). Ce réseau racinaire assure l'ancrage de la plante au sol et l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs essentiels (Khan *et al.*, 2019). La profondeur et la densité du système racinaire varient considérablement en fonction du génotype, du type de sol, de la disponibilité des ressources et des pratiques culturales (Sasaki *et al.*, 2021). On distingue

généralement des racines séminales, issues de l'embryon, et des racines nodales ou adventives, qui se développent ultérieurement à partir des nœuds de la tige (Li *et al.*, 2017).

4. 3. Tige (chaume)

La tige du blé, appelée chaume, est une structure cylindrique creuse, segmentée par des nœuds solides (Wang *et al.*, 2018). Elle assure le port dressé de la plante et le transport des nutriments et de l'eau entre les racines et les organes aériens, notamment les feuilles et l'épi (Garcia *et al.*, 2019). La hauteur de la tige est un caractère variable selon les variétés et les conditions de croissance (Zhao *et al.*, 2022). Les entre-nœuds s'allongent progressivement durant la montaison, élevant l'épi au sommet de la plante. La robustesse de la tige est un facteur important pour la résistance à la verse (Kim *et al.*, 2020).

4. 4. Feuilles

Les feuilles du blé sont linéaires, lancéolées, et présentent une gaine qui entoure la tige au niveau des nœuds (Patel *et al.*, 2017). Le limbe foliaire, parcouru de nervures parallèles caractéristiques des monocotylédones, est le principal organe photosynthétique de la plante (Silva *et al.*, 2023). À la jonction de la gaine et du limbe se trouvent la ligule, une petite membrane, et les oreillettes, des appendices latéraux qui peuvent varier en forme et en taille selon les variétés (Müller *et al.*, 2021). Le nombre de feuilles produites par une tige dépend du génotype et des conditions environnementales. La dernière feuille avant l'épi, appelée feuille étendard, joue un rôle crucial dans l'alimentation de l'épi durant le remplissage des grains (Hassan *et al.*, 2019).

4.5. Inflorescence (l'épi)

L'inflorescence du blé est un épi composé, de forme généralement oblongue, constitué d'un axe central, le rachis, sur lequel sont insérés de manière alterne et sessile des épillets (Nguyen *et al.*, 2020). Le rachis est segmenté en nœuds portant chacun un ou plusieurs épillets, selon l'espèce et la variété (Dubois *et al.*, 2022). Chaque épillet est composé de plusieurs fleurs (généralement deux à cinq), protégées par deux glumes à leur base (Schmidt *et al.*, 2018). Chaque fleur individuelle est constituée de la lemme et de la paléole (bractées florales), des étamines (organes mâles producteurs de pollen) et d'un pistil (organe femelle comprenant l'ovaire, le style et les stigmates) (Lee *et al.*, 2023). La morphologie de l'épi (longueur, densité, nombre d'épillets, nombre de fleurs par épillet) est un facteur déterminant du potentiel de rendement (Rao *et al.*, 2019).

5. Classification du blé dur

5.1. Classification botanique

Selon (Feillet, 2000), Le blé est une plante à une seule feuille embryonnaire, appartenant au genre *Triticum* de la famille des Graminées. Il s'agit d'une céréale dont le grain est un fruit sec qui ne s'ouvre pas naturellement, appelé caryopse, formé d'une graine entourée d'un tégument.

Tableau 01 : Classification botanique du blé dur. (Feillet, 2000).

Règne	Plantae
Sous-règne	Cormophyte
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordres	Commélini floraux
Sous ordre	Poales
Famille	Graminées
Tribu	Triticées
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Durum</i>

5.2. Classification Génétique du blé dur

Sur le plan génétique, les espèces du genre *Triticum* peuvent être classées en fonction de leur niveau de ploïdie, distinguant ainsi les blés diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes. Le nombre chromosomique de base au sein de ce genre est de $n = 7$, ce qui se traduit par un nombre de chromosomes somatiques de $2n = 14, 28$ et 42 respectivement pour les niveaux de ploïdie mentionnés. Outre ces catégories principales, il existe une diversité d'autres espèces de *Triticum*, qui se différencient par leur niveau de ploïdie (blés diploïdes: génome AA; blés tétraploïdes:

génomés AA et BB; blés hexaploïdes: génomes AA, BB et DD) ainsi que par leur nombre spécifique de chromosomes (14, 28 ou 42). Le blé dur (*Triticum durum*) appartient à la catégorie des blés tétraploïdes, possédant un génome constitué des combinaisons AA et BB et un nombre de chromosomes somatiques de $2n = 28$.

Tableau 02: Classification Génétique du blé dur (Feillet ,2000).

Groupes des diploïdes $2n=14$ chrs (AA).	<i>Triticum monococcum</i>
Groupe des tétraploïdes $2n=28$chrs (AABB).	- <i>Triticum durum</i> - <i>Triticum polonicum.</i> - <i>Triticum persicum.</i> - <i>Triticum dicoccoides.</i>
Groupes des hexaploïdes $2n=42$chrs (AABBDD)	- <i>Triticum spelta</i> - <i>Triticum compactum.</i> - <i>Triticum vulgare.</i>

6. Cycle physiologique du blé

Au cours de ce cycle annuel, plusieurs étapes ponctuées par des phases clés permettent de segmenter l'évolution du blé (Ait-slimane-ait-kaki S, 2008).

De nombreux auteurs ont décrit le cycle de développement du blé en le divisant en deux phases: une phase végétative et une phase reproductrice, tandis que d'autres considèrent la maturation comme une troisième phase. Les changements morphologiques résultent de processus de croissance et de développement qui sont étroitement liés. Ces deux processus se complètent et sont indissociables, menant à la production de matière sèche à travers la transformation des ressources disponibles dans l'environnement. Cela se fait grâce à des capteurs aériens (les feuilles, qui assurent la photosynthèse) et des capteurs souterrains (les racines, responsables de l'absorption de l'eau et des éléments minéraux). La croissance, quant à elle, correspond à une augmentation irréversible des dimensions et du poids des différents organes de la plante, une notion qui est purement quantitative. (Benmounah, 2021).

6.1. Période végétative

Elle s'étend de la germination jusqu'aux premières indications de l'allongement de la tige principale, c'est-à-dire au début de la montaison. (Moule, 1971).

Elle s'étend de la germination à l'ébauche de l'épi. On y trouve deux stades:

6.1.1. Phase Germination – levée

La germination d'une céréale se caractérise par la sortie des racines séminales de la coléorhize et, inversement, par la croissance d'une préfeuille appelée coléoptile. Cet instrument fonctionne comme un tube de protection et de perforation du sol pour la première feuille qui sera fonctionnelle et percera le sommet de la coléoptile peu après avoir émergé à la surface du sol.

6.1. 2.Phase Levée- Tallage

Dès que la première feuille a percé l'extrémité de la coléoptile, celui-ci s'arrête de croître et peu à peu se dessèche.

Cette première feuille fonctionnelle s'allonge, puis apparaît une deuxième, puis une troisième, puis une quatrième feuille. Chacune d'elles est imbriquée dans la précédente, partant toutes d'une zone proche de la surface du sol et constituée de l'empilement d'un certain nombre d'entre-nœuds: le plateau de tallage. Celui-ci est formé de 4 à 5 nœuds, sa hauteur ne dépassant pas 3 à 4 Il est relié au grain par une petite tigelle ou rhizome constitué de deux entre-nœuds (**Moule, 1971**):

- ✓ Le mésocotyle
- ✓ L'épicotyle.

6.2. Période reproductrice

Elle inclut la formation et le développement de l'épi; elle se distingue par:

6.2.1. Phase Montaison Gonflement

Elle apparaît dès le stade épi, à 1 cm, par l'allongement du premier entre-nœud. Ce stade est particulièrement vulnérable aux températures froides, allant de -4° à 0° C. Cette phase se termine lorsque l'épi prend sa forme finale à l'intérieur de la gaine de la feuille étendard, qui se dilate (stade de gonflement) (**Benmounah, 2021**).

6.2.2. Epiaison – fécondation

Peu après la méiose, l'inflorescence émerge de la dernière gaine foliaire: Titre noté à l'étape 50% d'ablation des oreilles: Cette étape constitue uniquement l'index Un signe de précocité, pas d'évolution. Mais c'est facile à observer Ses caractéristiques variétales en font une étape très importante dans le domaine agricole. Économique. La floraison et la fécondation débutent quelques jours après l'épiaison. La durée de la phase de méiose-fécondation varie selon les espèces, Variétés et climat: Pour le blé, cette étape dure 10-12 jours à 14°C et 4 à 5 jours à 18°C. (**Moule, 1971**).

6.2.3. Grossissement du grain

Après la fécondation, le poids du grain évolue en trois étapes:

La première consiste en une phase de multiplication des cellules du grain jeune et encore vert, avec une teneur en eau élevée. Ensuite, vient la phase de remplissage actif du grain, où les produits issus de la photosynthèse de la feuille étendard et le transfert des hydrates de carbone non structuraux stockés dans le col de l'épi contribuent à son développement. La quantité d'eau contenue dans le grain commence à se stabiliser, marquant ainsi le palier hydrique (Benmouah, 2021).

6.3. Maturation du grain

Pendant cette période, les substances de réserve telles que l'amidon et les protéines sont synthétisées et se déplacent vers l'albumen, tandis que l'embryon se développe en parallèle. Cette période se divise en trois phases principales:

6.3.1 Phase de multiplication cellulaire intense (12-15 jours)

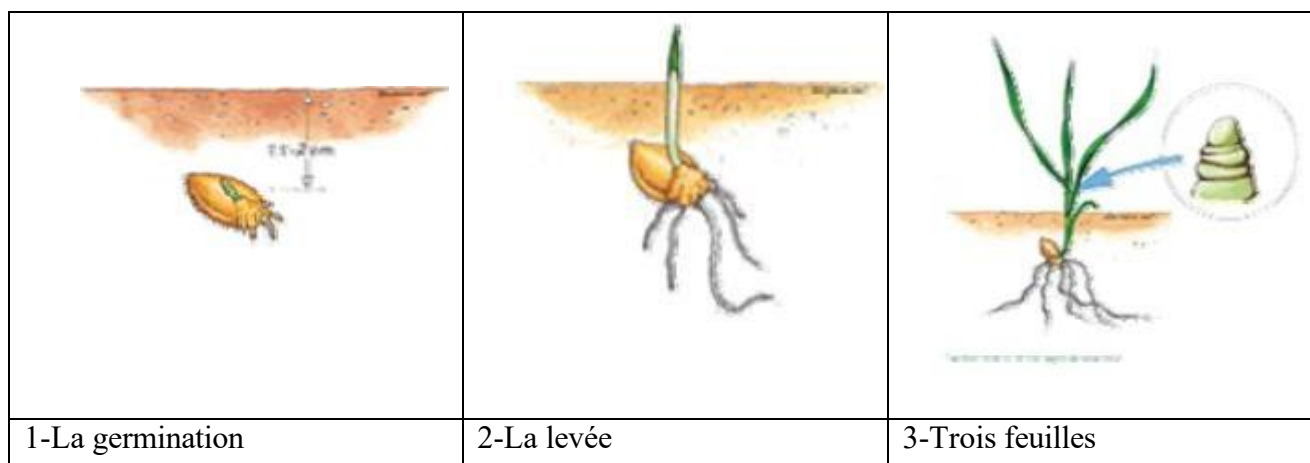
Au cours de cette période, le poids en eau et en matière sèche augmente dans le grain. À la fin de cette phase, l'amande, encore verte, a pris sa forme définitive, et l'album en est devenu laiteux, marquant ainsi le stade laiteux.

6.3.2. Phase d'enrichissement en glucides et protides (10-12 jours)

Au cours de laquelle le poids d'eau dans le grain demeure sensiblement constant: c'est le « palier » de poids d'eau. A la fin de cette phase, l'amande s'est colorée en roux pâle; ses enveloppes résistent bien à la pression du doigt mais se déchirent à l'ongle: c'est le stade pâteux. Il marque la fin de migration des réserves; la teneur en eau est alors de l'ordre de 40 % du poids frais.

6.3.3. Phase de dessiccation

Durant laquelle il y a seulement diminution rapide du poids d'eau. Le grain devient alors successivement demi-dur, puis dur; à sur maturité, il est devenu cassant: c'est le stade propice au battage immédiat (Moule, 1971).



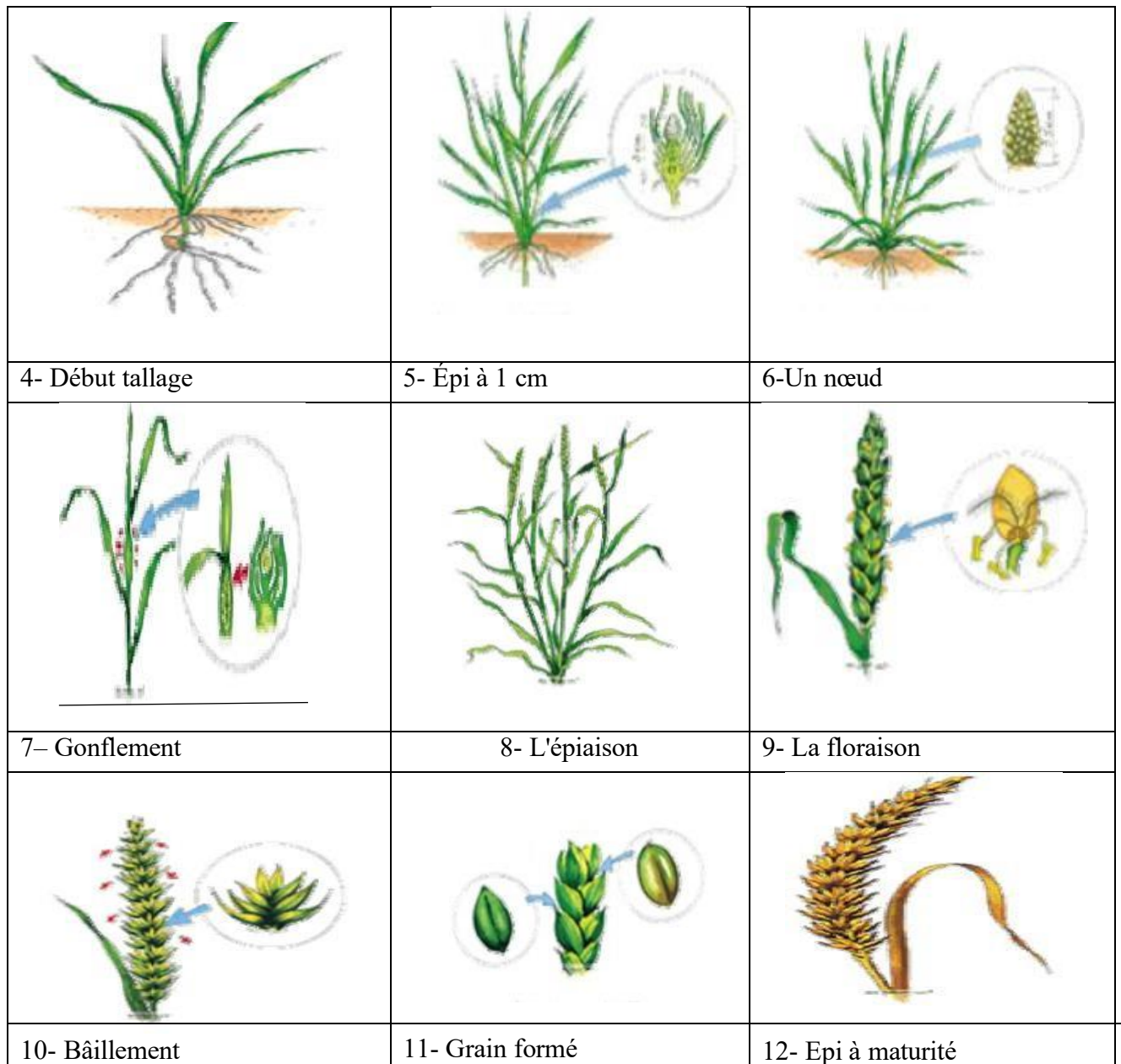


Figure 03: Les différents stades de développement du blé (Ait–slimane-ait-kaki, 2008).

7. Exigences agroécologiques de la culture du blé dur

Le développement optimal de la culture du blé dur (*Triticum durum Desf.*) tout au long de son cycle biologique requiert la synergie de plusieurs facteurs environnementaux et la mise en œuvre de pratiques culturales adéquates, conditions essentielles à l'obtention d'un rendement maximal. Parmi ces exigences, les suivantes méritent une attention particulière:

7.1. Température

La température constitue un facteur climatique déterminant pour la croissance et le développement du blé dur. La plage thermique optimale pour une croissance végétative soutenue se situe entre 20

et 25 °C, favorisant ainsi un développement optimal des plants (**Borrell et al., 2014**). Des températures s'écartant significativement de cet optimum peuvent impacter négativement les processus physiologiques et, par conséquent, le rendement final.

7.2. Lumière

Les céréales, et en particulier le blé dur, présentent une exigence marquée en termes d'exposition à la lumière solaire durant leur phase de croissance végétative. Bien que le rayonnement lumineux n'influence pas directement le développement du système racinaire, il est crucial pour le développement harmonieux des organes aériens. Son rôle est primordial dans la photosynthèse, processus fondamental de conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique, et dans l'optimisation du rendement grainier. Une réduction de la durée d'ensoleillement peut entraîner une diminution de la hauteur des cultures. La phase de formation de l'épi requiert une photopériode comprise entre 12 et 14 heures d'éclairement, et un déficit de lumière peut induire un retard dans la phénologie de la floraison (**Benmounah, 2021**).

7.3. Eau

L'eau représente un facteur abiotique limitant majeur pour la culture du blé dur en zones semi-arides et arides. Elle contribue au maintien de la turgescence et de la structure cellulaire, et constitue le milieu réactionnel essentiel pour les diverses voies métaboliques. L'eau est également le composant principal des sèves, assurant le transport des éléments nutritifs, des ions minéraux et des molécules organiques telles que le malate, le citrate et les sucres (**Benmounah, 2021**). De surcroît, elle joue un rôle crucial dans la régulation thermique au niveau des feuilles par le biais de la transpiration. Durant sa période de croissance active, le blé dur requiert une quantité d'eau variant approximativement entre 400 et 600 mm, en fonction des stades phénologiques et des conditions climatiques spécifiques (**Pereira et Cordery, 2005**).

7.4. Sol

Le blé dur manifeste une préférence pour les sols bien drainés et présentant une bonne teneur en matière organique. Les sols limoneux ou argilo-limoneux sont souvent considérés comme optimaux pour cette culture (**Hafeez et al., 2019**). Un pH du sol compris entre 6,0 et 7,5 est généralement considéré comme optimal pour la croissance du blé dur, favorisant une disponibilité et une absorption adéquates des nutriments. Des valeurs de pH inférieures à cet intervalle peuvent entraver l'absorption de certains éléments nutritifs essentiels (**Van Reeuwijk, 2002**).

7.5. Fertilisation

La production de blé dur, comme celle des autres céréales, nécessite une fertilisation adéquate et équilibrée, dont les modalités d'application doivent être ajustées en fonction des conditions climatiques locales et de la culture précédente. Il est impératif de tenir compte du niveau de fertilité intrinsèque du sol et de procéder à une fertilisation raisonnée. L'apport d'engrais phospho-potassique est généralement effectué lors du labour ou, au plus tard, avant le semis. La fertilisation azotée, quant à elle, est cruciale pour l'atteinte d'un rendement élevé et peut être réalisée en une seule application ou fractionnée, en fonction du régime pluviométrique (**Benmounah, 2021**). Les cultures annuelles, telles que le blé dur, sont particulièrement sensibles aux carences en phosphore (P) et en potassium (K) durant leurs premiers stades de développement, en raison d'un système racinaire encore peu étendu (**Nedjah, 2012**). Il est donc essentiel d'apporter ces éléments nutritifs à proximité des jeunes racines, en début de cycle cultural. L'utilisation d'engrais azotés est indispensable pour stimuler la croissance végétative et le développement foliaire. Un apport équilibré en phosphore et en potassium est également préconisé pour assurer un développement harmonieux de la plante et la formation des grains (**Hafeez et al., 2019**). Une carence en azote peut entraîner une réduction significative du rendement, soulignant l'importance capitale de la fertilisation azotée (**Hafeez et al., 2019**).

Chapitre II: Bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR).



Chapitre II: Bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR)

1. Définition et classification des PGPR

Les bactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) sont définies comme des bactéries qui colonisent la rhizosphère, l'endosphère ou la phyllosphère des plantes et qui exercent des effets bénéfiques sur leur croissance, leur développement et leur résistance aux stress biotiques et abiotiques (**Bashan *et al.*, 2014**). Ce groupe fonctionnel ne repose pas sur une classification taxonomique stricte, mais plutôt sur les capacités des bactéries à influencer positivement la physiologie des plantes.

Néanmoins, les PGPR appartiennent à divers genres bactériens, incluant notamment, mais sans s'y limiter: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium* (bien que principalement connu pour la fixation de l'azote chez les légumineuses, certaines souches ont d'autres effets PGPR), *Enterobacter*, *Klebsiella*, et *Burkholderia* (**Backer *et al.*, 2018**). La classification des PGPR peut également être abordée en fonction de leur mode d'action principal ou de leur habitat préférentiel (rhizosphériques, endophytes, phyllosphériques). Les PGPR rhizosphériques, qui colonisent la zone du sol directement influencée par les racines des plantes, sont les plus étudiées et les plus largement appliquées en agriculture.

Domaine	Phylum	Classe	Espèces
---------	--------	--------	---------

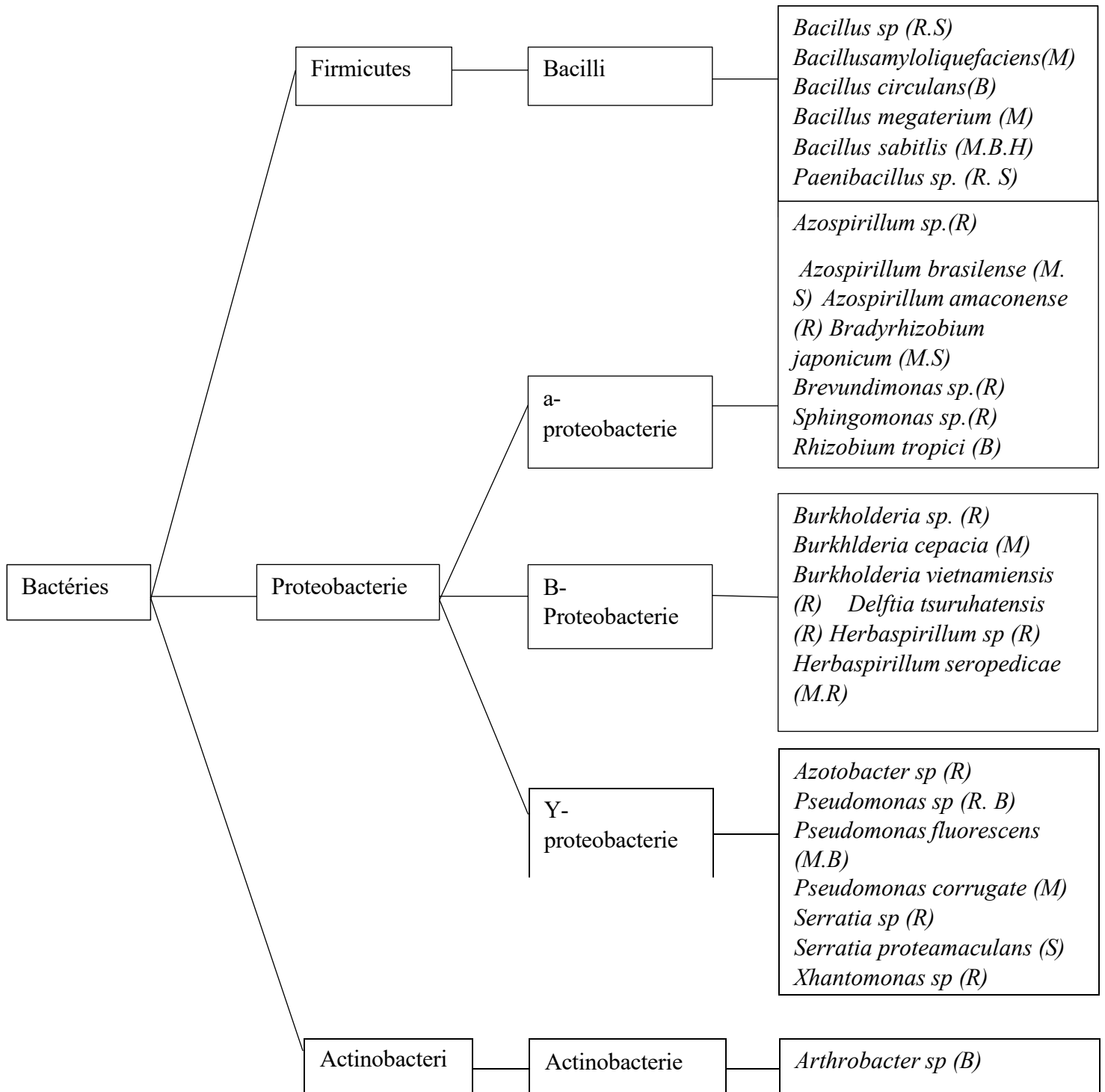


Figure 04: PGPR regroupées selon leur classification phylogénétique (Pérez-Montano et al., 2014).

2. Colonisation de la rhizosphère et interactions plante-microbe

La rhizosphère, interface dynamique entre les racines des plantes et le sol, est un environnement riche en exsudats racinaires (sucres, acides organiques, acides aminés, etc.) qui servent de source de carbone et d'énergie pour une communauté microbienne diversifiée. La capacité des PGPR à coloniser efficacement cette zone est une étape primordiale pour l'établissement d'interactions bénéfiques avec la plante (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

La colonisation de la rhizosphère par les PGPR est un processus complexe impliquant plusieurs étapes, telles que l'attraction chimiotactique vers les exsudats racinaires, l'adhérence aux surfaces racinaires, la multiplication et la compétition avec les autres microorganismes présents. Les PGPR possèdent divers mécanismes pour favoriser la colonisation, notamment la production de biofilms, la motilité flagellaire et la sécrétion de composés spécifiques.

Une fois établies dans la rhizosphère, les PGPR interagissent avec les plantes par des voies directes et indirectes. Les interactions directes impliquent des mécanismes par lesquels les PGPR influencent directement la physiologie de la plante, tels que la facilitation de l'acquisition de nutriments ou la production d'hormones de croissance. Les interactions indirectes se manifestent par la capacité des PGPR à protéger les plantes contre les stress biotiques, notamment les agents pathogènes (Vessey, 2003).

3. Principaux mécanismes d'action des PGPR

Les PGPR exercent leurs effets bénéfiques sur les plantes par une variété de mécanismes d'action complexes et souvent interdépendants. Ces mécanismes peuvent être globalement regroupés en trois catégories principales: la bio fertilisation, la bioprotection et la stimulation de la croissance des plantes.

3.1. Bio fertilisation

Les PGPR peuvent améliorer la disponibilité et l'absorption des nutriments essentiels pour les plantes. Parmi les mécanismes de bio fertilisation, on retrouve:

- **Fixation biologique de l'azote (BNF):** Certaines PGPR, telles qu'*Azotobacter* et *Azospirillum*, sont capables de convertir l'azote atmosphérique en formes assimilables par les plantes (NH_3).

- **Solubilisation des phosphates:** D'autres PGPR produisent des enzymes (phosphatases) et des acides organiques qui solubilisent les formes insolubles de phosphate dans le sol, les rendant accessibles aux plantes.
- **Mobilisation d'autres nutriments:** Certaines PGPR peuvent également faciliter l'acquisition d'autres éléments nutritifs tels que le potassium, le fer et le zinc.

3.2. Bioprotection

Les PGPR peuvent protéger les plantes contre les agents pathogènes (bactéries, champignons, virus, nématodes) par divers mécanismes:

- **Antagonisme direct:** Production d'antibiotiques, d'enzymes lytiques (chitinases, glucanases, protéases) ou de sidérophores (qui séquestrent le fer, un nutriment essentiel pour de nombreux pathogènes).
- **Antagonisme indirect:** Induction de la résistance systémique induite (ISR) chez la plante, un état de défense potentialisé qui confère une protection à long terme contre un large spectre de pathogènes.
- **Compétition:** Compétition pour les nutriments et les sites de colonisation dans la rhizosphère, limitant l'établissement et la prolifération des pathogènes.

3.3. Stimulation de la croissance des plantes

Les PGPR peuvent favoriser la croissance et le développement des plantes par la production et la régulation de diverses phytohormones:

- **Auxines (principalement l'acide indole-3-acétique, IAA):** Stimulent la division et l'élongation cellulaire, favorisant le développement racinaire et la croissance des parties aériennes.
- **Gibbérélines:** Impliquées dans l'élongation de la tige, la germination des graines et la floraison.
- **Cytokinines:** Stimulent la division cellulaire, la croissance des bourgeons et retardent la sénescence des feuilles.
- **Éthylène:** Bien que souvent associé au stress, certaines PGPR peuvent produire l'enzyme ACC désaminase, qui réduit les niveaux d'éthylène dans la plante, atténuant ainsi les effets inhibiteurs du stress sur la croissance racinaire (**Glick, 2014**).

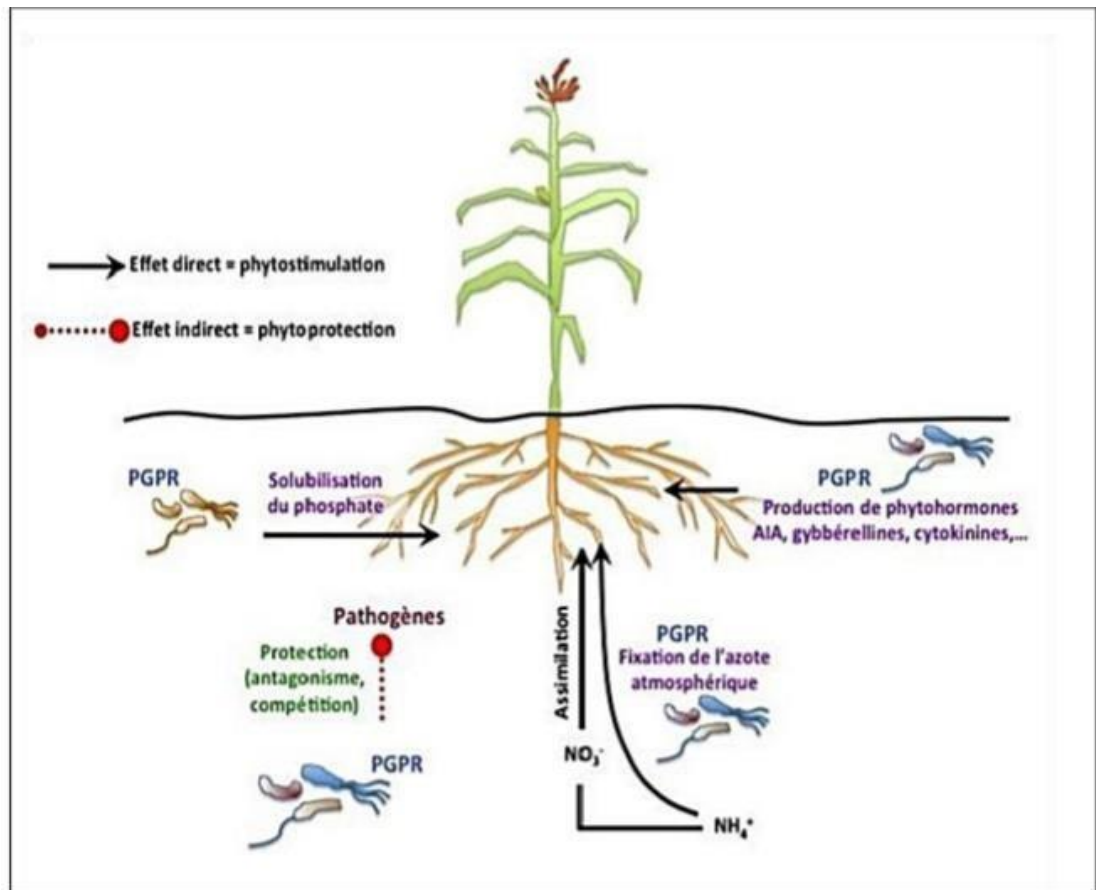


Figure 05: Mécanismes phytobénéfiques des PGPR dans la rhizosphère (Lugtenberg, 2009).

4. Rôle des PGPR dans l'agriculture durable

Face aux préoccupations croissantes concernant l'impact environnemental des intrants chimiques (engrais et pesticides de synthèse), les PGPR émergent comme des outils prometteurs pour le développement d'une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement (Glick, 2012).

L'utilisation de biofertilisants à base de PGPR peut réduire la dépendance aux engrais azotés et phosphatés de synthèse, limitant ainsi les problèmes de pollution des eaux et d'émissions de gaz à effet de serre associés à leur production et à leur utilisation. De même, l'application de biopesticides à base de PGPR peut offrir une alternative plus écologique aux pesticides chimiques pour la gestion des maladies et des ravageurs des plantes, contribuant à la préservation de la biodiversité et à la réduction des résidus toxiques dans les aliments.

En outre, les PGPR peuvent améliorer la tolérance des plantes aux stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité et les métaux lourds, ce qui est particulièrement pertinent dans le contexte actuel du changement climatique et de la dégradation des sols. En stimulant la croissance racinaire

et en modulant les réponses physiologiques des plantes au stress, les PGPR peuvent contribuer à stabiliser et à augmenter les rendements agricoles dans des conditions environnementales défavorables.

Cependant, l'efficacité des PGPR sur le terrain peut être variable et influencée par de nombreux facteurs tels que le type de sol, les conditions climatiques, le génotype de la plante et les interactions avec la communauté microbienne indigène. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'écologie des PGPR, optimiser leur application et développer des formulations plus efficaces et adaptées aux différents systèmes agricoles (**Bashan, 2024**).

Chapitre III:

*Caractéristiques, diversité, potentiel
PGPR du genre Bacillus.*



Chapitre III: caractéristiques, diversité, potentiel PGPR du genre *Bacillus*.

Le genre *Bacillus* appartient au phylum *Firmicutes*, à la classe *Bacilli*, et à l'ordre *Bacillales*. Il comprend un groupe hétérogène de bactéries Gram-positives, aérobies ou anaérobies facultatifs, et chimiotrophiques. Une caractéristique distinctive et cruciale du genre *Bacillus* est sa capacité à former des endospores. Ces structures dormantes, résistantes à des conditions environnementales défavorables telles que la chaleur, le dessèchement, les radiations et les produits chimiques, confèrent aux *Bacillus* un avantage significatif pour la survie dans le sol et pour leur application en tant qu'inoculants agricoles (Nicholson *et al.*, 2000).

Les cellules végétatives de *Bacillus* sont typiquement en forme de bâtonnets (bacilles), d'où le nom du genre. Elles peuvent être mobiles grâce à des flagelles péritriches ou immobiles. Le métabolisme des *Bacillus* est diversifié, allant de l'utilisation de sucres simples à la dégradation de polymères complexes. Leur capacité à sécréter une large gamme d'enzymes extracellulaires contribue également à leur rôle dans les cycles biogéochimiques et leurs interactions avec les plantes.

1. Diversité des espèces de *Bacillus* et de leurs métabolismes

Le genre *Bacillus* est extrêmement diversifié, comprenant un grand nombre d'espèces aux caractéristiques physiologiques et métaboliques variées. Des espèces telles que *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megaterium*, et *Bacillus cereus* (bien que certaines souches de cette dernière soient pathogènes) sont largement étudiées pour leur potentiel en agriculture.

La diversité métabolique au sein du genre *Bacillus* est remarquable. Certaines espèces sont capables de fixer l'azote atmosphérique (bien que généralement à des niveaux inférieurs à ceux des *Rhizobium* ou *Azospirillum*), tandis que d'autres excellent dans la solubilisation des phosphates et d'autres minéraux du sol. Leur capacité à produire une vaste gamme d'enzymes extracellulaires, telles que les amylases, les protéases, les lipases et les cellulases, leur permet de décomposer la matière organique complexe et de libérer des nutriments dans le sol. De plus, certaines espèces de *Bacillus*, comme *Bacillus thuringiensis*, sont connues pour leur production de toxines insecticides spécifiques aux insectes ravageurs, ce qui les rend utiles en biopesticides (Schnepf *et al.*, 1998).

2. Mécanismes d'action spécifiques des *Bacillus* en tant que PGPR

Les espèces de *Bacillus* exercent leur potentiel PGPR par des mécanismes d'action directs et indirects, souvent spécifiques à l'espèce et même à la souche:

2.1. Solubilisation des nutriments

De nombreuses espèces de *Bacillus*, notamment *B. megaterium* et *B. mucilaginosus*, sont reconnues pour leur capacité à solubiliser les phosphates inorganiques insolubles dans le sol grâce à la production d'acides organiques (citrique, malique, lactique, etc.) qui chélatent les cations liés au phosphate (Oteino *et al.*, 2015). Certaines souches peuvent également solubiliser le potassium et d'autres micronutriments essentiels.

2.2. Production de phytohormones

Plusieurs espèces de *Bacillus* sont capables de synthétiser et de sécréter des phytohormones qui influencent la croissance et le développement des plantes. L'acide indole-3-acétique (IAA), une auxine, est fréquemment produit par des *Bacillus* tels que *B. subtilis* et *B. amyloliquefaciens*, stimulant la croissance racinaire et des parties aériennes (Idris *et al.*, 2007). Des cytokinines et des gibbérellines ont également été détectées dans les cultures de certaines espèces de *Bacillus*. De plus, la production de l'enzyme ACC désaminase par certaines souches peut réduire les niveaux d'éthylène induits par le stress, favorisant la croissance des racines en conditions défavorables.

2.3. Induction de résistance systémique (ISR)

Certaines espèces de *Bacillus*, en particulier *B. subtilis* et *B. amyloliquefaciens*, sont connues pour leur capacité à induire une résistance systémique induite (ISR) chez les plantes. Ce mécanisme de défense potentialisé permet aux plantes de répondre plus efficacement aux attaques de divers pathogènes, même dans des parties de la plante éloignées du site de colonisation bactérienne (Idris *et al.*, 2007). L'ISR induite par *Bacillus* implique souvent la production de signaux moléculaires spécifiques qui activent les voies de défense de la plante.

2.4. Activité antimicrobienne

Les *Bacillus* produisent une variété de composés antimicrobiens qui peuvent inhiber la croissance des agents pathogènes du sol. Ces composés incluent des antibiotiques (par exemple, la subtiline et la bacillicine produites par *B. subtilis*), des enzymes lytiques (chitinases, glucanases) qui dégradent les parois cellulaires des champignons et des bactéries, et des bactériocines (peptides antimicrobiens produits par des bactéries pour inhiber d'autres bactéries) (Ongena et Jacques,

2008). La production de sidérophores, qui limitent la disponibilité du fer pour les pathogènes, contribue également à l'activité bioprotectrice des *Bacillus*.

3. Avantages et limites de l'utilisation des *Bacillus* en agriculture

L'utilisation du genre *Bacillus* en agriculture présente plusieurs avantages significatifs:

- **Polyvalence des mécanismes d'action:** Les *Bacillus* peuvent améliorer la croissance des plantes par une combinaison de mécanismes, offrant une approche multifonctionnelle pour l'amélioration des cultures.
- **Formation d'endospores :** La capacité à former des endospores confère aux inoculants à base de *Bacillus* une longue durée de conservation et une meilleure résistance aux conditions environnementales stressantes lors de l'application sur le terrain.
- **Adaptabilité à divers environnements:** Les *Bacillus* sont naturellement présents dans divers types de sols et peuvent s'adapter à différentes conditions environnementales.
- **Potentiel de biopesticides:** Certaines espèces, comme *B. thuringiensis*, offrent des alternatives efficaces et spécifiques aux pesticides chimiques pour la lutte contre les insectes ravageurs.
- **Sécurité relative:** De nombreuses espèces de *Bacillus* sont considérées comme sûres pour l'environnement et la santé humaine, ce qui facilite leur acceptation et leur utilisation en agriculture biologique et conventionnelle.

Cependant, l'utilisation des *Bacillus* en agriculture présente également certaines limites:

- **Variabilité de l'efficacité sur le terrain:** L'efficacité des inoculants à base de *Bacillus* peut varier considérablement en fonction des conditions environnementales spécifiques (type de sol, climat), du génotype de la plante et des interactions avec la microflore indigène.
- **Nécessité d'une sélection rigoureuse des souches:** L'activité PGPR est très souche-spécifique. Une sélection rigoureuse de souches efficaces et adaptées aux conditions locales est cruciale pour obtenir des résultats constants.
- **Compréhension incomplète des interactions:** Les interactions complexes entre les *Bacillus*, les plantes et la communauté microbienne du sol ne sont pas entièrement comprises, ce qui peut limiter la prédictibilité de l'efficacité des inoculants.
- **Concurrence avec les microorganismes indigènes :** Les *Bacillus* introduits peuvent être en compétition avec les microorganismes indigènes pour les nutriments et les sites de

colonisation, ce qui peut affecter leur établissement et leur persistance dans la rhizosphère (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

5. Effets des *Bacillus* sur la teneur en protéines et la composition en acides aminés du blé

La teneur en protéines du grain de blé est un paramètre de qualité essentiel, influençant la valeur nutritionnelle et les propriétés panifiables de la farine. Plusieurs études suggèrent que l'inoculation de blé avec certaines espèces de *Bacillus* peut avoir un impact sur la teneur en protéines du grain. Les mécanismes potentiels impliqués incluent l'amélioration de l'absorption de l'azote par la plante grâce à la bio fertilisation (fixation d'azote ou solubilisation de nitrates) et la stimulation du métabolisme azoté au sein de la plante (Zhang *et al.*, 2020).

De plus, la composition en acides aminés des protéines du blé est cruciale pour sa qualité nutritionnelle. Des recherches préliminaires indiquent que certaines souches de *Bacillus* pourraient influencer la proportion de certains acides aminés essentiels dans le grain de blé. Par exemple, une amélioration de la teneur en lysine, un acide aminé limitant dans les céréales, a été observée dans certaines études après inoculation avec des *Bacillus*. Cependant, les effets spécifiques varient considérablement en fonction de l'espèce et de la souche de *Bacillus* utilisée, du génotype du blé et des conditions environnementales. Des recherches plus approfondies sont nécessaires pour élucider les voies métaboliques impliquées et identifier les souches de *Bacillus* les plus efficaces pour améliorer la teneur et la qualité des protéines du blé.

6. Influence des *Bacillus* sur la qualité du gluten et les propriétés rhéologiques de la farine

La qualité du gluten, un complexe viscoélastique formé par les protéines gliadine et gluténine dans la farine de blé hydratée, est un facteur déterminant pour les propriétés rhéologiques de la pâte et la qualité des produits panifiés. L'impact des *Bacillus* sur la qualité du gluten est un domaine de recherche en développement. Certaines études suggèrent que l'inoculation avec des *Bacillus* pourrait influencer la quantité et la qualité des protéines du gluten, potentiellement en modulant l'expression des gènes codant pour les gliadines et les gluténines (Li *et al.*, 2021).

Les propriétés rhéologiques de la farine, telles que la ténacité, l'extensibilité et la résistance à la déformation, sont directement liées à la qualité du gluten et sont essentielles pour la transformation de la farine en produits finis. Des recherches ont montré que l'application de certaines souches de *Bacillus* pourrait modifier ces propriétés rhéologiques, potentiellement en affectant la structure et l'interaction des protéines du gluten (Singh *et al.*, 2019). Ces modifications pourraient avoir des implications pour l'aptitude de la farine à différents usages (panification, fabrication de pâtes, etc.).

Cependant, les résultats sont souvent spécifiques à la souche de *Bacillus* et au cultivar de blé étudié, soulignant la nécessité d'études plus ciblées pour identifier les interactions bénéfiques et les mécanismes sous-jacents.

7. Rôle des *Bacillus* dans l'accumulation de micronutriments dans le grain de blé

La teneur en micronutriments essentiels (fer, zinc, manganèse, etc.) dans le grain de blé est cruciale pour la nutrition humaine, en particulier dans les régions où le blé constitue une part importante de l'alimentation de base. Les *Bacillus*, en tant que PGPR capables de solubiliser les minéraux du sol, pourraient jouer un rôle dans l'amélioration de l'accumulation de ces micronutriments dans le grain de blé par le biais de la biofortification.

Des études ont démontré que l'inoculation de blé avec certaines espèces de *Bacillus*, telles que *B. megaterium* (solubilisateur de phosphate) et d'autres souches mobilisant les métaux, peut augmenter la concentration de fer, de zinc et d'autres micronutriments dans le grain (Dubey *et al.*, 2017). Les mécanismes impliqués pourraient inclure la solubilisation des formes insolubles de ces minéraux dans la rhizosphère, l'amélioration de leur absorption par les racines et leur translocation vers le grain. La biofortification du blé en micronutriments par l'utilisation de *Bacillus* représente une stratégie prometteuse pour lutter contre les carences nutritionnelles, mais nécessite une identification et une application optimisées des souches de *Bacillus* les plus efficaces pour chaque micronutriment et contexte pédoclimatique.

8. Études de cas et résultats antérieurs sur l'utilisation de *Bacillus* pour améliorer la qualité du blé

8.1. Amélioration de la teneur en protéines

Des essais sur le terrain ont montré que l'inoculation de blé avec des souches spécifiques de *B. subtilis* et *B. amyloliquefaciens*, en combinaison avec une fertilisation azotée réduite, pouvait maintenir voire augmenter la teneur en protéines du grain tout en améliorant potentiellement l'efficacité de l'utilisation de l'azote (Khan *et al.*, 2015).

8.2. Influence sur la qualité du gluten

Des études en laboratoire ont suggéré que l'application de métabolites produits par certaines souches de *Bacillus* pouvait modifier les propriétés viscoélastiques du gluten *in vitro*, ouvrant des perspectives pour moduler la qualité de la pâte (Morita *et al.*, 2010).

8.3. Biofortification en micronutriments

Des essais en conditions contrôlées et sur le terrain ont démontré l'efficacité de certaines souches de *Bacillus* (par exemple, *B. circulans*) pour augmenter la concentration de zinc et de fer dans le grain de blé, contribuant ainsi à sa valeur nutritionnelle (**Sharma *et al.*, 2016**).

Partie 2:

Etude expérimentale



Chapitre I: Matériel et méthodes.



Chapitre I: Matériel et méthodes

Objectif:

Cette étude vise à décrypter les mécanismes par lesquels les bactéries du genre *Bacillus* influencent les paramètres de croissance des plantes, dans l'objectif de promouvoir des stratégies agricoles plus durables et d'optimiser les pratiques de culture du blé pour répondre aux enjeux actuels de sécurité alimentaire

Caractérisation des souches bactériennes

1.1. Cadre temporel et spatial de l'étude

L'intégralité de cette étude a été menée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Université Djilali Bounaama, sur une période de quatre mois, s'étendant spécifiquement du 13 février au 1er juin 2025.

1.2. Matériel biologique

Les deux isolats bactériens de genre *Bacillus*, employés dans le cadre de cette investigation, ont été gracieusement fournis par notre encadrant. Ces souches étaient rigoureusement conservées sous forme de suspensions bactériennes stabilisées par du glycérol (20% v/v), stockées en microtubes Eppendorf à une température de congélation, afin d'assurer leur viabilité optimale et leur intégrité génétique tout au long de l'expérimentation.

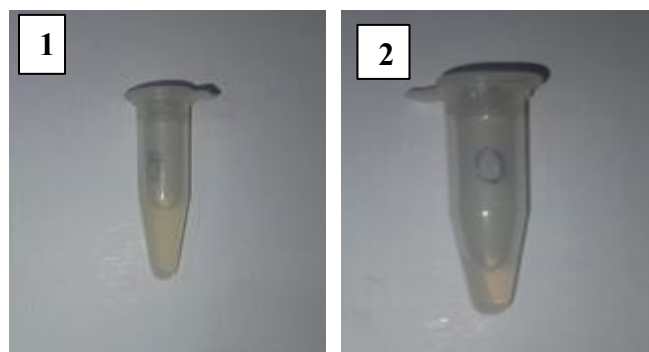
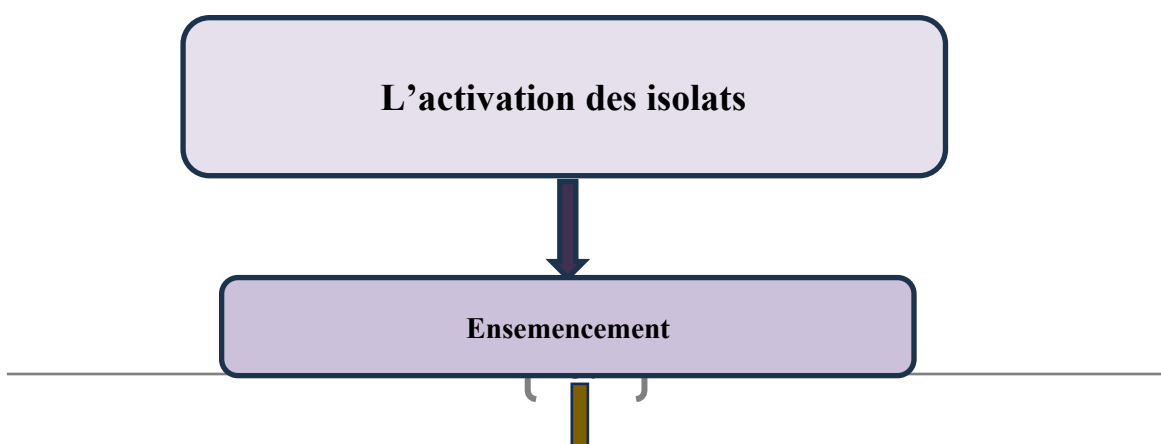


Figure 06: Isolats bactériens conservés dans le glycérol.



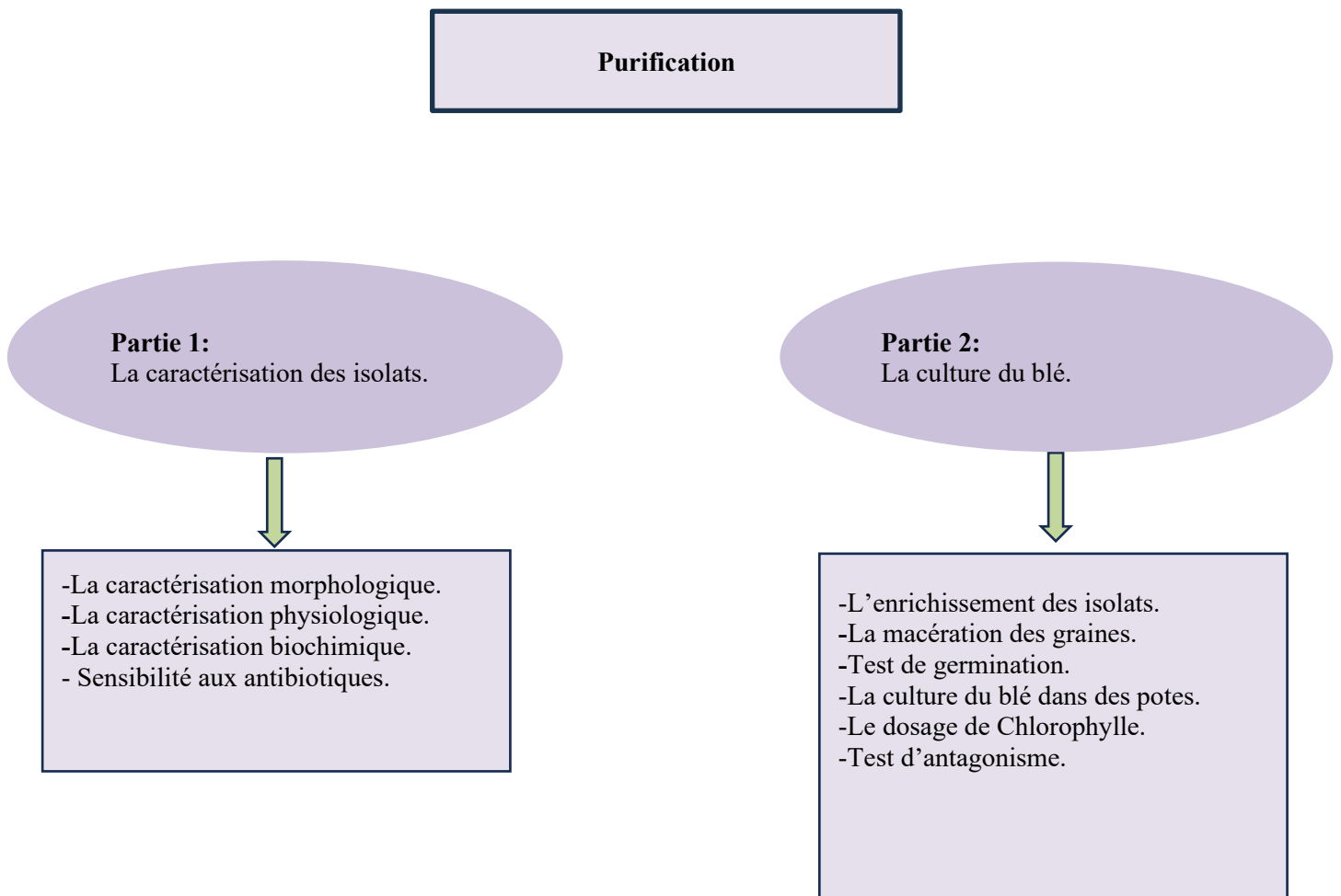


Figure 07: Méthodologie de travaux.

1.3. Enrichissement des bactéries

Afin de procéder à l'enrichissement des isolats bactériens, des bouillons nutritifs ont été préparés pour chaque échantillon. Un volume de 1 ml de suspension bactérienne a été aseptiquement transféré dans des tubes à essai stériles contenant 9 ml de bouillon nutritif. Les tubes ensemencés ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 48 heures.

1.4. Ensemencement et conditions de culture

Après l'incubation, la croissance bactérienne dans le bouillon nutritif a été confirmée par l'observation d'une turbidité microbienne. Des cultures pures ont ensuite été obtenues par l'étalement en surface de 1 ml de chaque suspension sur un milieu de culture gélosé nutritif préparé en boîtes de Petri. Ces boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures.

1.5. Purification et conservation des souches pures

Après incubation, l'aspect morphologique des colonies développées sur le milieu de culture a été attentivement examiné. En présence de différentes morphologies coloniales sur les boîtes, une purification des micro-organismes a été initiée par des repiquages successifs sur gélose nutritive. Les souches obtenues à l'état pur ont ensuite été maintenues sur gélose nutritive inclinée et conservées à 4 °C pour une préservation (Logan *et al.*, 2009). Pour la reprise de croissance ou la préparation des essais expérimentaux, une incubation à 37 °C était réalisée.

1.6. Identification phénotypique

Conformément aux méthodes de classification préconisées par Logan *et al.* (2009) pour la caractérisation de nouveaux taxons au sein de l'ordre des Bacillales, les isolats purs ont été soumis à une analyse approfondie de leurs divers traits morphologiques, cultureux et physiologiques (biochimiques). Cette démarche visait à atteindre une identification précise au niveau du genre.

1.6.1. Caractérisation morphologique

1.6.1.1. Etude macroscopique

L'observation macroscopique des colonies, réalisée sur un milieu gélosé nutritif, constitue une étape préliminaire essentielle à l'identification bactérienne. Elle permet une première orientation diagnostique par un examen direct à l'œil nu, facilitée par des variations d'éclairage. Parmi les critères macroscopiques couramment employés pour cette identification, on distingue notamment:

- **La forme des colonies:** circulaire, irrégulière, filamenteuse, rhizomorphe, fusiforme, etc.
- **La taille des colonies:** évaluée par la mesure de leur diamètre (exprimée en millimètres) ou leur qualification (ponctiforme, petite, moyenne, grande).
- **La couleur:** variant du blanc au pigmenté (jaune, orange, rose, etc.).
- **L'aspect:** lisse, rugueux, crémeux, muqueux.
- **L'opacité:** transparente, translucide, ou opaque.
- **La surface:** brillante, mate, sèche, humide, ridée, lobée, dentelée, etc.

1.6.1.2. Etude microscopique

A. Coloration par bleu de méthylène (coloration simple)

➤ Technique

Un frottis bactérien a été réalisé sur une lame de verre sèche à l'aide d'une anse stérile, en étalant délicatement une petite quantité de la suspension bactérienne sur la surface centrale de la lame. Le frottis a ensuite été séché à l'air. La fixation a été effectuée soit par passage à l'alcool suivi d'un rinçage à l'eau, soit par passage rapide de la lame trois fois dans la flamme du bec Bunsen. La préparation a ensuite été recouverte d'une solution de bleu de méthylène pendant une minute. Après coloration, la lame a été rincée à l'eau et séchée entre deux papiers-filtres. L'humidité résiduelle a été éliminée par un léger chauffage au-dessus de la flamme du bec Bunsen.

➤ **Observation**

L'observation des bactéries fixées et colorées a été réalisée au microscope optique. Le condensateur a été monté au maximum, et le diaphragme entièrement ouvert pour optimiser l'éclairage. L'objectif à immersion (x100) a été utilisé, nécessitant l'application d'une goutte d'huile d'immersion sur la lame pour la mise au point. Après utilisation, l'objectif a été soigneusement nettoyé avec du papier optique.

B. Coloration de Gram

Un frottis bactérien a été réalisé sur une lame de microscope à partir d'une culture en eau distillée stérile, puis séché à l'air et fixé à la chaleur par trois passages rapides dans la flamme d'un bec Bunsen. La procédure de coloration a ensuite été initiée par l'application du violet de cristal pendant 1 minute, suivie d'un rinçage à l'eau distillée. Une solution d'iode (Lugol) a été ajoutée pendant 1 minute pour renforcer la liaison du colorant, puis une décoloration a été effectuée à l'aide d'alcool ou d'un mélange alcool-acétone pendant 5 à 10 secondes. Enfin, une contre-coloration avec de la safranine a permis de révéler les bactéries Gram négatif en rose (**Gram,1884**). À l'issue de cette procédure, les bactéries Gram positif ont conservé le complexe violet de cristal-iode, apparaissant de couleur violet foncé, tandis que les bactéries Gram négatif, ayant perdu le colorant lors de la décoloration, sont apparues en rose à rouge. Cette distinction chromatique est cruciale pour l'identification et la classification préliminaire des bactéries.

C. La recherche des spores par la technique (Guiraud, 1998)

- Préparer un frottis de la culture bactérienne sur une lame.
- Fixer le frottis à la flamme.
- Colorer avec du vert de malachite pendant 15 minutes (pour faire pénétrer le colorant dans les spores).
- Rincer à l'eau distille.

- Contre-colorer avec de la safranine (30 s à 1 min).
- Observer au microscope (objectif 100x à immersion).
- Lecteur

Observation: (Guiraud, 1998)

- *La couleur verte*: Spores.
- *La couleur rouge*: Cellules bactériennes.

1.6.2. Caractérisation physiologique**1.6.2.1. Croissance à différentes températures**

L'évaluation de l'impact de la température sur la croissance des souches bactériennes a été réalisée par incubation des cultures sur un milieu gélosé nutritif (GN) à différentes températures. Les souches, ensemencées sur ce milieu solide, ont été incubées respectivement à 4 °C, 28 °C, 37 °C, 45 °C). Cette expérimentation visait à déterminer la température optimale favorisant leur croissance.

1.6.3. Caractérisation biochimique**1.6.3.1. Etude de type respiratoire****a. Test catalase**

Sur une lame de verre propre et sèche, une goutte de solution d'eau oxygénée à 10 volumes a été déposée. À l'aide d'une anse stérile, une petite quantité d'inoculum bactérien a été prélevée de la culture pure et mélangée à la goutte de peroxyde d'hydrogène sur la lame. L'observation a été réalisée immédiatement (**Manuel de laboratoire de Microbiologie, 2002**).

Interprétation des résultats

- **Réaction positive (Catalase +)**: L'apparition rapide et visible de bulles de gaz, résultant du dégagement de dioxygène, indique la présence de l'enzyme catalase.
- **Réaction négative (Catalase -)**: L'absence de formation de bulles de gaz témoigne de l'absence de l'enzyme catalase ou d'une activité enzymatique négligeable.

b. Test oxydase (Harley et Prescott, 2002)

Pour détecter la présence des enzymes oxydases, un réactif spécifique, à savoir une solution de di chlorhydrate de tétraéthyle-p-phénylènediamine ou une bandelette de test imprégnée de ce composé, a été appliqué directement sur les colonies bactériennes. L'interprétation des résultats s'est basée sur l'observation d'un changement chromatique : l'évolution du rose clair vers le violet foncé a indiqué une réaction positive, tandis que l'absence de modification de couleur ou la persistance d'une coloration rose clair ont été interprétées comme un test négatif.

c. Recherche de la nitrate réductase

En l'absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie. Cette respiration anaérobie est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne.

➤ Technique

Le test de la nitrate réductase a été effectué en inoculant les isolats bactériens dans un bouillon nitrate. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, 1 à 2 gouttes de chaque réactif (NIT I et NIT II) ont été ajoutées au bouillon ensemencé, suivies d'un mélange et d'une observation immédiate (**Manuel de laboratoire de Microbiologie, 2002**).

Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats s'est déroulée en plusieurs étapes:

- **Réaction positive (NR+):** Si le milieu virait au rouge, cela indiquait la présence de nitrites, confirmant ainsi l'activité de la nitrate réductase chez la bactérie.
- **Réaction négative ou ambiguë (nécessitant ajout de zinc):** Si le milieu restait inchangé (non rouge), de la poudre de zinc a été ajoutée.
 - **Réaction négative confirmée (NR-):** Une coloration rouge après l'ajout de zinc indiquait que le zinc avait réduit les nitrates en nitrites, signifiant que la bactérie ne possédait pas l'enzyme nitrate réductase.
 - **Réaction positive confirmée (NR+):** L'absence de coloration après l'ajout de zinc impliquait que les nitrates avaient été entièrement transformés par la bactérie au-delà du stade des nitrites (en azote gazeux par exemple), confirmant ainsi la présence de l'enzyme nitrate réductase.

1.6.3.2. Etude du métabolisme: (Benson, 2002)

Ce milieu a été employé pour évaluer la capacité des souches bactériennes à fermenter le mannitol, un polyol, ainsi que leur mobilité. Le protocole a consisté à ensemencer le milieu semi-solide par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis à incuber les tubes pendant 24 heures à 37 °C, température considérée comme optimale pour la croissance des souches étudiées.

L'interprétation des résultats s'est effectuée de la manière suivante: un virage du milieu au jaune indiquait une fermentation positive du mannitol (Mannitol +), tandis qu'une absence de changement de couleur (milieu restant rouge) signalait un résultat négatif (Mannitol -). La mobilité

des bactéries était évaluée par l'observation de la diffusion de la croissance en dehors de la ligne d'ensemencement le long de la gélose molle, une diffusion opaque indiquant des bactéries mobiles.

Ces tests sont essentiels pour caractériser le métabolisme des souches bactériennes, en particulier leur voie de dégradation de l'acide pyruvique.

a. Test au Rouge de Méthyle (RM): (Harley et Prescott, 2002)

Ce test vise à mettre en évidence la production d'acides mixtes résultant de la fermentation des glucides par les souches. Pour la lecture, quelques gouttes de réactif du rouge de méthyle (RM) ont été ajoutées à la deuxième série de tubes. Un virage de la couleur du bouillon au rouge a indiqué la production d'acides mixtes (RM+). Une coloration jaune persistante a signifié un résultat négatif (RM-).

b. Test de Voges-Proskauer (VP): (Harley et Prescott, 2002)

Le test de Voges-Proskauer (VP) permet de détecter la production d'acétoïne (acétylméthylcarbinol) par les isolats à partir du métabolisme du pyruvate. La production d'acétoïne est révélée par l'apparition d'une coloration rose du bouillon de Clark et Lubs. Pour ce faire, 0,5 mL d' α -naphthol et le même volume de soude à 40% (p/v) ont été ajoutés à la première série de tubes (réaction de Barritt). La lecture a été effectuée immédiatement: une coloration rouge a indiqué une réaction positive (VP+), tandis qu'une coloration jaune a correspondu à une réaction négative (VP-).

1.6.3.3. Production d'enzymes extracellulaires

B. Activité lipolytique : (Sierra, 1957)

Afin de détecter l'activité lipasique des souches bactériennes, le milieu de culture gélosé a été enrichi par l'ajout de 1% (v/v) de Tween 20 ou Tween 80 stérile. Les boîtes de Petri ensemencées avec les souches à tester ont ensuite été incubées à 37 °C pendant une période allant de 1 à 3 jours. La présence d'une activité lipasique a été révélée par l'apparition d'une zone de clarification distincte autour des colonies productrices, résultant de l'hydrolyse des Tween présents dans le milieu.

C. Activité protéique

Pour la détection de l'activité protéasique, les souches bactériennes ont été ensemencées sur un milieu gélosé nutritif (GN) supplémenté avec 10 % (v/v) de lait écrémé stérile. Les boîtes de Pétri ainsi préparées ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. La présence de protéase a été

mise en évidence par l'apparition d'une zone de clarification autour des colonies, résultant de l'hydrolyse des protéines du lait par l'enzyme.

D. Activité chitinolytique

Pour évaluer l'activité chitinolytique des souches, les isolats purs ont été ensemencés sur un milieu chitine-agar. Les boîtes ainsi préparées ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 48 heures. Après incubation, la présence d'une activité chitinolytique a été mise en évidence par l'apparition d'une zone de clarification ou d'halos transparents autour des colonies bactériennes, résultant de l'hydrolyse de la chitine insoluble présente dans le milieu.

E. Recherche de la lécithinase: (Delarass, 2014)

De nombreux micro-organismes possèdent la capacité d'hydrolyser les phospholipides, notamment la phosphatidylcholine (ou lécithine), et leur prolifération dans des aliments riches en lipides (tels que le lait et ses dérivés, le jaune d'œuf ou les viandes) peut entraîner des altérations de ces produits. Pour détecter cette activité lécithinasique, les souches ont été ensemencées par une touche unique au centre de boîtes de Pétri contenant un milieu de culture approprié enrichi en lécithine. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures ou plus. La présence de lécithinase a été mise en évidence par l'apparition d'une zone de clarification autour des colonies, indiquant une réaction positive, tandis que l'absence de zones claires a été interprétée comme un résultat négatif.

F. Hydrolyse de l'amidon: (Gordon *et al.*, 1973)

Pour détecter l'activité amylolytique, le milieu de culture gélosé a été supplémenté avec 1% (p/v) d'amidon soluble. Après ensemencement et une incubation de 1 à 3 jours à 37 °C, les boîtes de Pétri ont été inondées avec une solution de Lugol. La présence d'amylases a été indiquée par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices, contrastant avec la coloration bleu-noir de l'amidon non hydrolysé.

G. Recherche de cellulose

Pour la recherche de l'activité cellulolytique, le milieu gélosé nutritif a été enrichi par l'ajout de 1 g de cellulose soluble. Après ensemencement des souches et une incubation de 24 heures à 37 °C, la présence de cellulase a été mise en évidence par l'apparition d'une zone de clarification autour des colonies. Cette zone translucide résulte de l'hydrolyse de la cellulose insoluble par les enzymes bactériennes.

H. Test de l'hydrolyse de gélatine: (Benson, 2002)

Ce test a été réalisé pour détecter la présence de l'enzyme gélatinase, capable d'hydrolyser la gélatine. Le protocole a consisté à ensemercer les bactéries par piqûre profonde dans des tubes contenant un milieu à la gélatine. Les tubesensemencés ont été incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, les tubes ont été récupérés et placés au réfrigérateur pendant 30 minutes pour permettre à la gélatine de se solidifier si elle n'avait pas été hydrolysée. L'interprétation des résultats s'est effectuée de la manière suivante: si le milieu restait liquide après réfrigération, le test était considéré comme positif (présence de gélatinase); si le milieu se solidifiait, le test était négatif.

1.6.3.4. Etude de Type respiratoire: (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2015)

Le type respiratoire des souches bactériennes a été caractérisé sur le milieu solide Viande-Foie, qui permet d'établir un gradient d'oxygène. Pour ce faire, chaque souche a été ensemercée sur deux tubes: l'un a été laissé en conditions aérobies, tandis que l'autre a été recouvert d'une couche d'huile de vaseline stérile pour créer un environnement anaérobie. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, l'interprétation des résultats s'est basée sur l'emplacement de la croissance des colonies: les bactéries aérobies strictes se sont développées uniquement en surface; les aéro-anaérobies facultatives ont montré une croissance sur toute la hauteur du tube; et les anaérobies stricts ont poussé exclusivement au fond du tube.

1.6.3.5. Citrate de Simmons: (Benson, 2002)

Le milieu au citrates de Simmons est un milieu synthétique défini, utilisé pour déterminer la capacité d'une souche bactérienne à utiliser le citrate comme unique source de carbone. Pour la technique, une strie longitudinale de la souche pure a été réalisée sur la pente du milieu gélosé à l'aide d'une anse stérile. Les bouchons des tubes n'ont pas été vissés à fond afin de permettre les échanges gazeux, notamment l'élimination du dioxyde de carbone. Les tubes ont ensuite été incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, la lecture s'est effectuée comme suit: un virage de l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) au bleu a indiqué une alcalinisation du milieu et a signifié que la souche était capable d'utiliser le citrate (citrate de Simmons +). En l'absence de virage de l'indicateur de pH et de culture visible, il n'y a pas eu d'alcalinisation, et la souche a été considérée comme incapable d'utiliser le citrate (citrate de Simmons).

1.6.3.6. Galerie Api 20E

22 tests biochimiques sur des cultures bactériennes pures ont été réalisés. Le dispositif consiste en une bandelette de 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés, lesquels ont été réhydratés par une suspension saline bactérienne. Après une incubation de 18 à 24 heures à une température

variant de 33 à 37 °C, les changements de couleur résultants des réactions biochimiques ont été ainsi notés (Harley et Prescott, 2002).

1.6.3.7. Production de l'urée indole

Pour évaluer la capacité des souches bactériennes à produire de l'uréase et de l'indole, les cultures ont été ensemencées dans le milieu urée-indole et incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, le test de l'uréase a été interprété par l'observation d'un virage de l'indicateur de pH du jaune au rouge violacé ou au rose rouge, signalant une réaction positive (uréase +) due à l'alcalinisation du milieu; l'absence de changement de couleur a indiqué une réaction négative (uréase -) (Marchal *et al.*, 1987). Parallèlement, pour le test de l'indole, quelques gouttes du réactif de Kovacs ont été ajoutées au bouillon, et la production d'indole s'est manifestée par l'apparition d'un anneau rouge à la surface.

1.6.3.8. Sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme est un examen microbiologique essentiel permettant de déterminer si une souche bactérienne a développé des résistances acquises à certains antibiotiques auxquels elle est normalement sensible, et qui sont par conséquent censés être efficaces pour son traitement (Jean *et al.*, 2023). La méthode employée pour évaluer cette sensibilité est celle du disque de diffusion sur gélose, plus connue sous le nom de méthode de Kirby-Bauer (introduite en 1966). Le protocole a débuté par la préparation d'une suspension bactérienne standardisée des souches à étudier dans un bouillon nutritif. Ensuite, le milieu de culture Mueller-Hinton a été ensemencé de manière uniforme à l'aide d'un écouvillon stérile. Enfin, des pinces stériles ont été utilisées pour déposer et placer avec précision les disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose ensemencée.

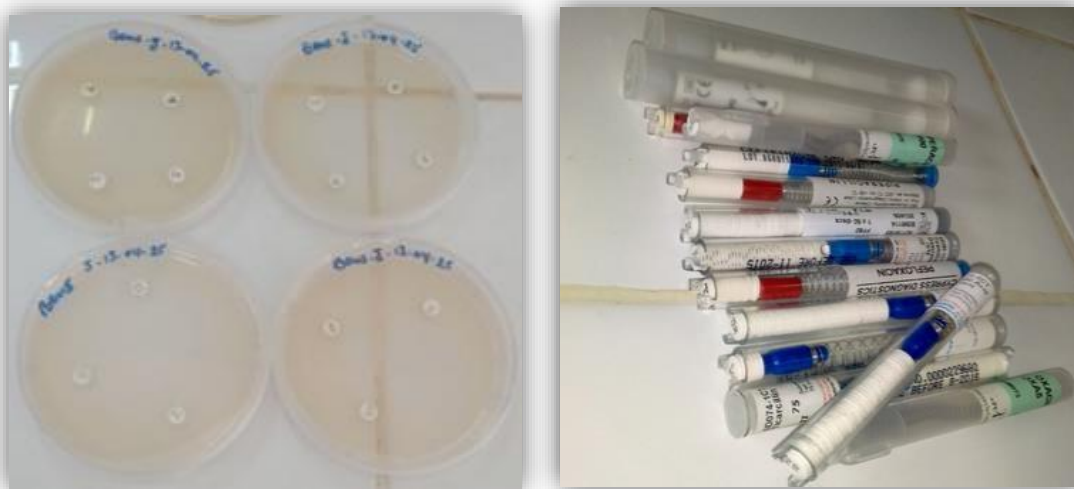


Figure 08: Application des disques d'antibiotique.

1.6.3.9. Test d'antagonisme

Pour la réalisation du test d'antagonisme, une étape préliminaire a consisté à isoler le champignon pathogène: des feuilles de blé infectées ont été désinfectées en surface avec une solution d'hypochlorite de sodium, puis découpées en petits fragments à l'aide de ciseaux stériles et déposées sur un milieu PDA (Potato Dextrose Agar), ces boîtes étant ensuite incubées à 28 °C pendant 4 jours pour permettre la croissance fongique. Après cet isolement, le test d'antagonisme a été mis en œuvre: dans une boîte de Petri contenant le milieu gélosé nutritif (GN), les deux souches bactériennes isolées ont été ensemencées en surface, et simultanément, le champignon préalablement isolé des feuilles infectées a été inoculé dans la même boîte, l'ensemble étant ensuite incubé à 28 °C pendant 7 jours pour l'observation des interactions et de l'activité antagoniste des bactéries envers le champignon (Aïzi et Cheba, 2015).

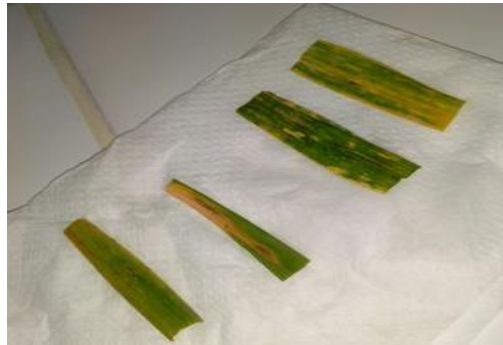



Figure 09: Feuilles de blé infectées.

2. Culture du blé avec PGPR


Nous avons sélectionné des graines de blé dur pour étudier l'effet des bactéries du genre *Bacillus* au cours des premières étapes de sa croissance. Le tableau 3 présente les caractéristiques des graines utilisées dans cette expérience.

Tableau 03: Matériel végétal.

Espèce	Blé dur	
Variété	Oued El bard	
Source	CCL Khemis Miliana	

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé un sol agricole ayant déjà servi à la culture du blé, totalement exempt d'engrais chimiques et de pesticides, afin de connaître uniquement l'effet des bactéries sur la croissance du blé et leur capacité à lutter contre les champignons pathogènes. Le **tableau 4** présente les caractéristiques du sol utilisé dans cette étude.

Tableau 04: les caractéristiques du sol utilisée.

Localisation	Région de Zeddine,Ruina, Ain defla	
Ph	7,5	
Température	28,9	
Utilisation	Culture de blé	
Humidité	Humide	
La présence des pesticides	Non	
La présence des engrais	Non	

2.1. Enrichissement des bactéries pour la culture du blé

Pour la préparation de l'inoculum bactérien destiné à la culture du blé, des flacons stériles, chacun contenant 200 mL de bouillon nutritif, ont étéensemencés avec les isolats bactéries (5 flacons au total), à l'aide d'une pipette Pasteur. Ces cultures ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, les suspensions bactériennes ont été centrifugées dans des tubes stériles à une vitesse de 3500 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot bactérien (contenant les cellules) a été récupéré. Les tubes contenant ces culots ont été conservés au réfrigérateur jusqu'au moment de leur utilisation (Singh *et al.*, 2019).

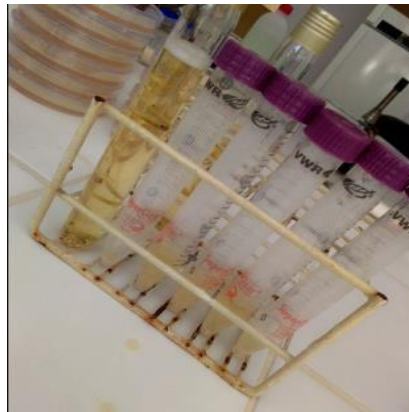


Figure 10: Récupération de culot.

2.1. Incubation pour réactiver la croissance:

Pour réactiver les cultures bactériennes conservées sous forme de culot, le tube contenant le culot a été retiré du réfrigérateur et laissé revenir progressivement à température ambiante (environ 15 à 20 minutes). Une petite quantité (environ 2 ml) de milieu de culture liquide stérile frais a ensuite été ajoutée directement au culot à l'aide d'une pipette stérile. Le culot bactérien a été délicatement

resuspendu par pipetage, en veillant à désagréger tout agrégat afin d'obtenir une suspension homogène. Cette suspension a ensuite été transférée dans un nouveau tube ou flacon stérile contenant le reste du milieu de culture liquide stérile préalablement préparé. Ce nouveau tube ou flacon a été incubé à la température optimale de croissance de la bactérie (avec agitation si nécessaire). L'incubation a été poursuivie pendant une durée suffisante pour permettre la réactivation et la multiplication des bactéries; cette période, généralement de quelques heures (par exemple, 4 à 8 heures), dépend de l'état de conservation du culot et du temps de latence spécifique à la souche. La turbidité de la culture liquide a été surveillée, une augmentation progressive indiquant la multiplication bactérienne jusqu'à arriver à une DO égale à 1 (**Benson, 2002**).

2.2. Préparation des graines de blé

Pour préparer les graines de blé, leur surface a été stérilisée afin d'éliminer toute contamination microbienne externe. Cette étape a consisté à les tremper dans une solution diluée d'hypochlorite de sodium pendant 1min, suivie de plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile (**Bouremali Naoual, 2025**).

Après stérilisation, les graines ont été trempées dans la suspension bactérienne préparée (pour les deux souches étudiées) pendant une heure avant le semis. Pour chaque expérience, 20 graines ont été utilisées. Elles ont ensuite été placées dans des boîtes de Pétri sur une couche de coton humidifiée avec de l'eau distillée stérile, puis recouvertes d'une deuxième couche de coton pour favoriser et accélérer leur germination à température ambiante. (**Bouremali Naoual, 2025**).

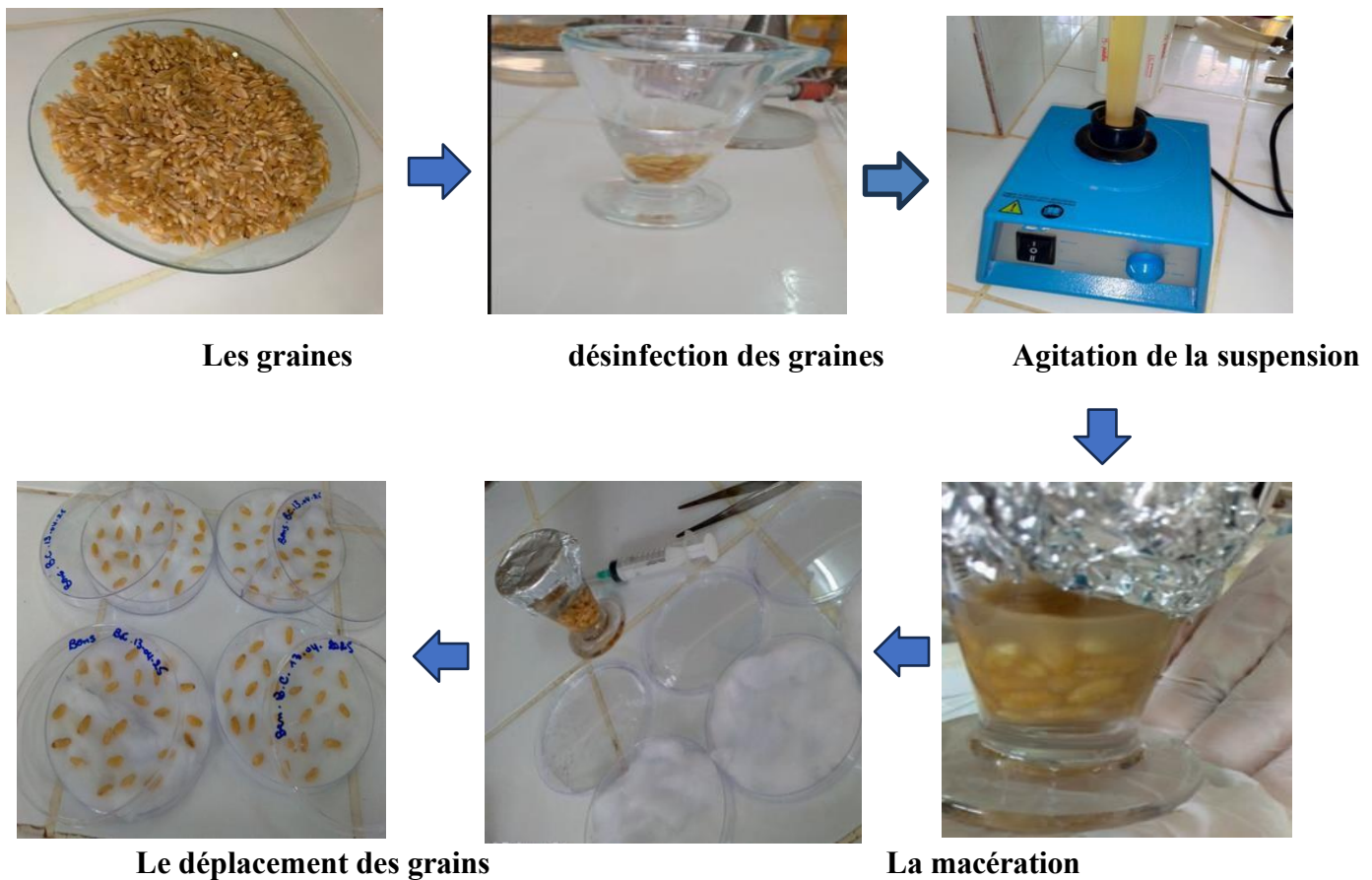


Figure 11: Les étapes de l'inoculation des grains du blé avec la *Bacillus*.

2.3. Conditions de culture et conception expérimentale

Cette étude a été menée afin d'évaluer l'impact de l'inoculation de deux isolats bactériens sur la croissance du blé dans diverses conditions de sol. À cet effet, des pots de taille appropriée ont été remplis avec l'un des trois types de sols distincts : un **sol stérile**, un **sol traité par des engrais** (on utilise les engrais chimiques de type NPK sulfate, en dissolvant 2g dans 5 litres d'eau distillée pour traiter le sol), et un **sol non traité par les engrais** (représentatif d'un sol agricole standard pour la culture du blé).

Un unique grain de blé a été planté par pot. L'expérience a été structurée autour de plusieurs traitements, chacun répété 20 fois pour garantir la robustesse des données, en s'inspirant de **Nedjah Imene (2015)** avec des modifications adaptées à la présente investigation.

Nous avons mis l'eau distillée dans un pulvérisateur stérilisé et nous avons arrosé régulièrement les graines jusqu'au 23 jours.

Les traitements se sont décomposés comme suit:

1. **Témoin (Sol non traité):** Grains non inoculés, cultivés sur sol non traité par les engrais.
2. **Contrôle Engrais (Sol traité):** Grains non inoculés, cultivés sur sol traité par des engrais (NPK sulfate).
3. **Isolat 1 sur sol non traité par les engrais:** Grains inoculés par l'isolat bactérien 1, cultivés sur sol non traité par les engrais.
4. **Isolat 1 sur sol stérile:** Grains inoculés par l'isolat bactérien 1, cultivés sur sol stérile.
5. **Isolat 2 sur sol non traité par les engrais:** Grains inoculés par l'isolat bactérien 2, cultivés sur sol non traité par les engrais.
6. **Isolat 2 sur sol stérile:** Grains inoculés par l'isolat bactérien 2, cultivés sur sol stérile.



Figure 12: Culture du blé dans des pots.

Nous avons placé les pots dans un endroit avec une lumière et une température adéquate pour la croissance des graines de blé.

2.4. Paramètres ont Suivi de la croissance de blé

Mesurer régulièrement différents paramètres de croissance des plantes:

➤ **Taux de germination**

Nous avons compte le nombre de graines germées pour chaque expérience pendant une durée maximale de 7 jours, ainsi que la longueur et le nombre des racines.

➤ **Nombre des feuilles**

Le nombre de feuilles a été comptabilisé sur un échantillon de 20-plantes par traitement.

➤ **Hauteur des plantes**

Après la germination, nous avons mesuré la longueur des feuilles pour chaque expérience jusqu'au 23 jours afin de comparer les résultats.

➤ **Longueur des racines**

Le 23 jours, nous avons fragmente le sol auteur des racines afin de mesurer leur longueur, en enregistrant la racine la plus longue dans chaque expérience.

➤ **Teneur en chlorophylle**

L'extraction des pigments chlorophylliens (chlorophylles a, b, et c) ainsi que des caroténoïdes a été réalisée selon la méthode décrite par Francis et al. (1970). Elle consiste à effectuer une macération de 0,1 g de feuilles finement découpées dans 10 ml d'un mélange d'acétone et d'éthanol. Ce mélange présente un ratio volumique de 75 % d'acétone pour 25 % d'éthanol, avec des concentrations respectives de 80 % et 40 %. Les échantillons sont placés dans des récipients ambrés afin de limiter l'oxydation des pigments par la lumière. Après 48 heures de macération, les absorbances sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre aux longueurs d'onde de 645 nm et 663 nm.

Les teneurs en chlorophylles a et b

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/g MF}) = (12,7 \times \text{DO 663} - 2,59 \times \text{DO 645}) \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/g MF}) = (22,9 \times \text{DO 645} - 4,68 \times \text{DO 663}) \times V / (1000 \times W)$$

V: est le volume de la solution extraite.

W: est le poids de matière fraîche de l'échantillon.

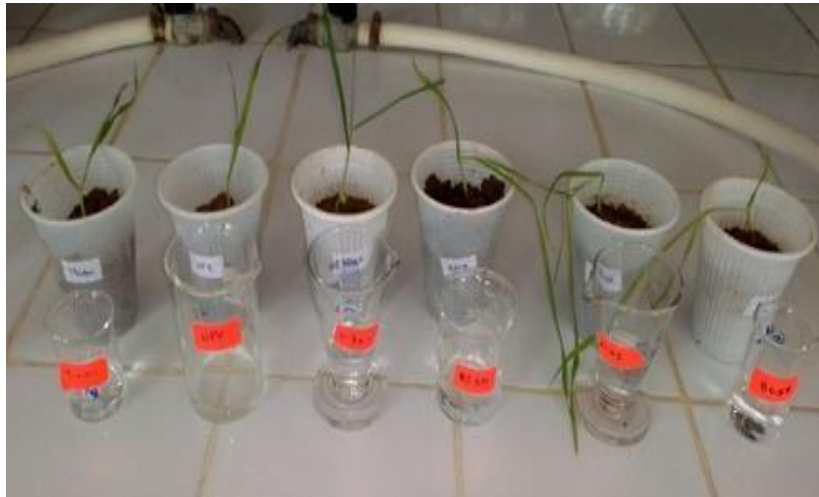


Figure 13: Les feuilles de blé utilisées pour le dosage de la chlorophylle.

Chapitre II: Résultats et discussion



1. Résultats de l'identification phénotypique

1.1. Caractérisations morphologiques

1.1.1 Etude macroscopique

Après 48h d'incubation l'aspect macroscopique des isolats représentés dans la figure 14.

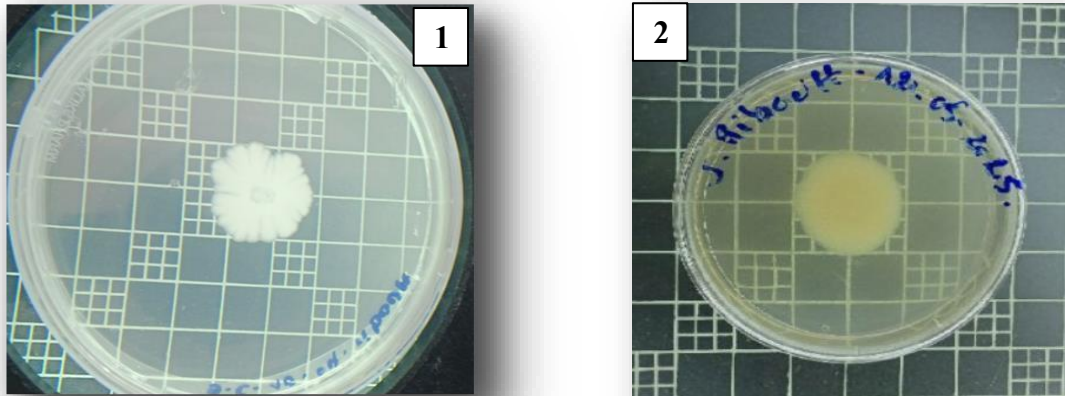


Figure 14: L'aspect macroscopique des isolats. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

Les résultats de l'étude macroscopique sont résumés dans le tableau 05.

Tableau 05: Aspect macroscopique des isolats.

	Taille	Forme	Surface	Opacité	Relief	Elévation	Couleur	Contour
Isolat 1	Moyenne	Irrégulier	Lisse	Opaque	Plate	Crémeuse	Blanche	Ondulé
Isolat 2	Grosse	Circulaire	Lisse	Opaque	Plate	Crémeuse	Beige	Régulier

1.1.2 Etude microscopique

1.1.2.1. Coloration par bleu de méthylène

Après la coloration par bleu de méthylène nous observons des cellules fixées de formes bacilles colorées en bleu. comme le montre la figure 15.

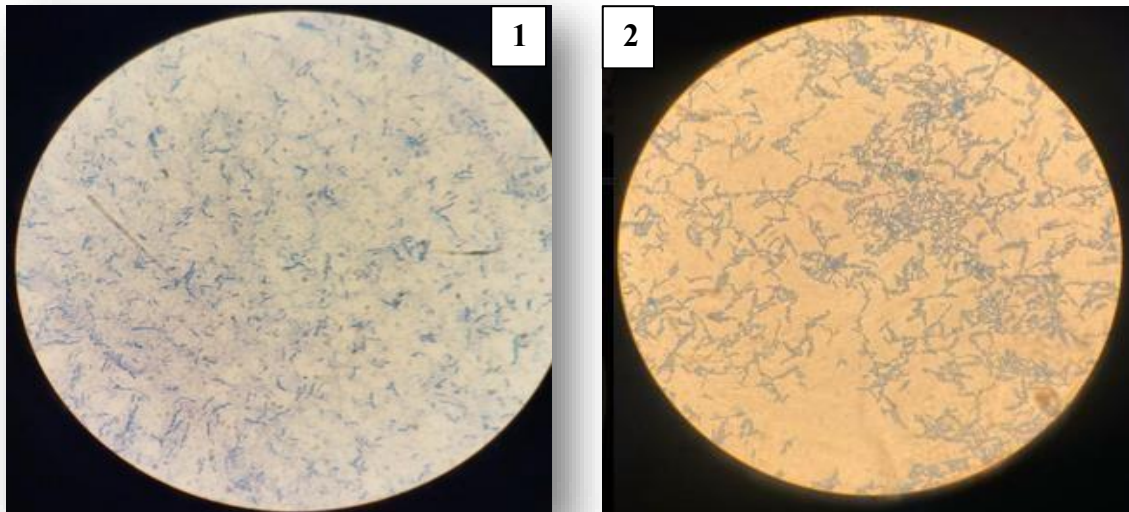


Figure 15: observation microscopique de la coloration par le bleu de méthylène (grossissement X100 à immersion). (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.1.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram des souches jeunes, d'après les résultats obtenus les deux isolats appartient au groupe des bactéries Gram positive. Donc leur paroi riche en peptidoglycane. comme le montre la figure 16.

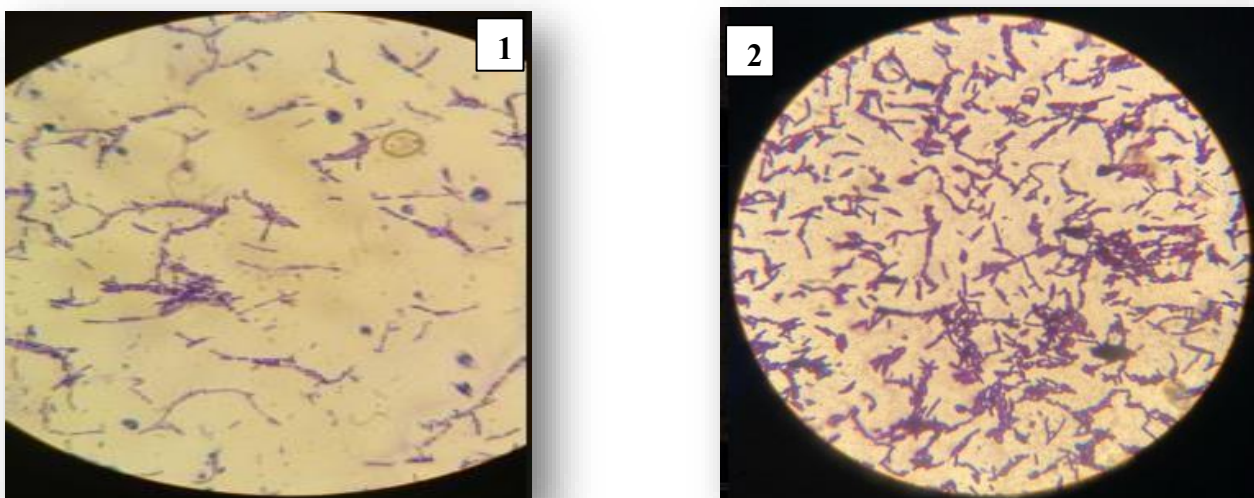


Figure 16: Aspect microscopique après coloration de Gram (grossissement X100). (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.1.2.3. Recherche de la spore

Après la coloration par le vert de malachite.

Isolat 1:

Présence visible de spores rondes, qui apparaissent souvent de couleur vert.

Isolat 2:

Présence visible de spores rondes, qui apparaissent souvent de couleur vert

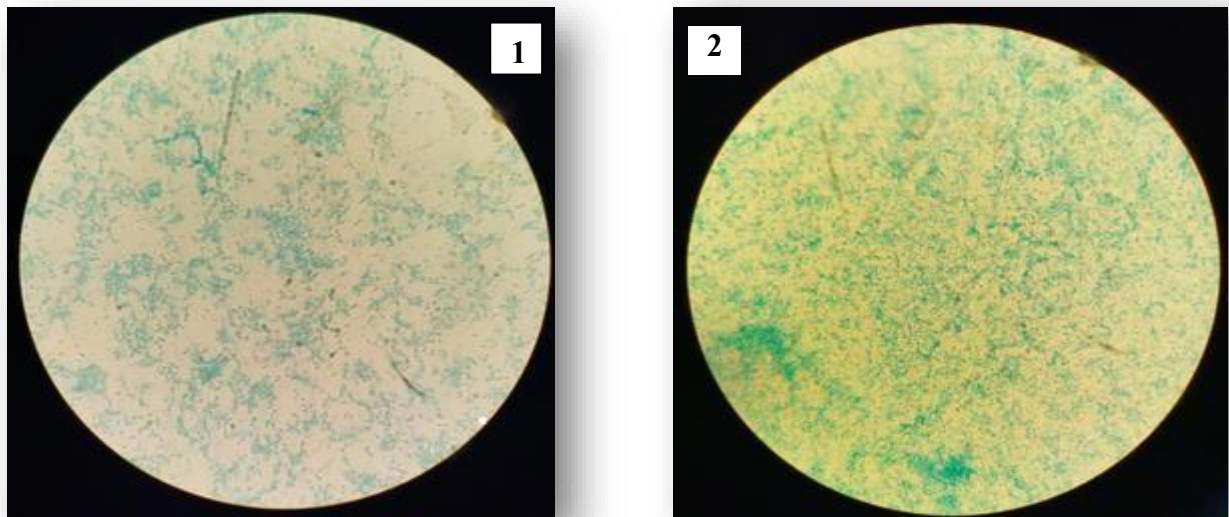


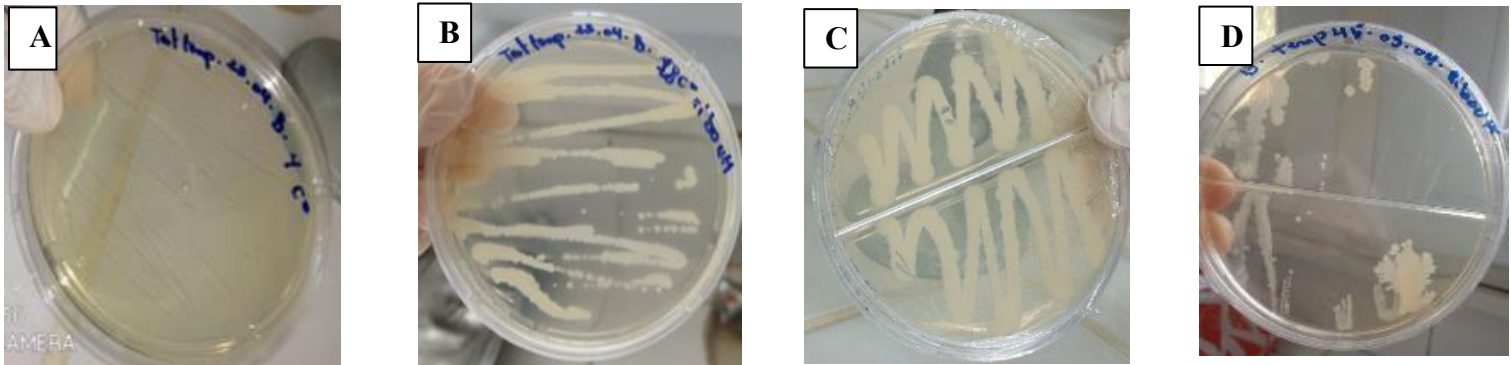
Figure 17: Aspect microscopique des spores après coloration au vert malachite (grossissement X100). (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.2 Caractérisation physiologique

1.2.1. Croissance a différentes températures des isolats

Dans le but de connaître la température optimale pour la croissance des isolats, nous avons effectué 4 cultures à des températures différentes (4 °C, 28 °C, 37°C, 45°C). Selon les résultats obtenus la température optimale de croissance des isolats est de 37°C. comme le montre la figure 18.

Isolat 1:



Isolat 2:

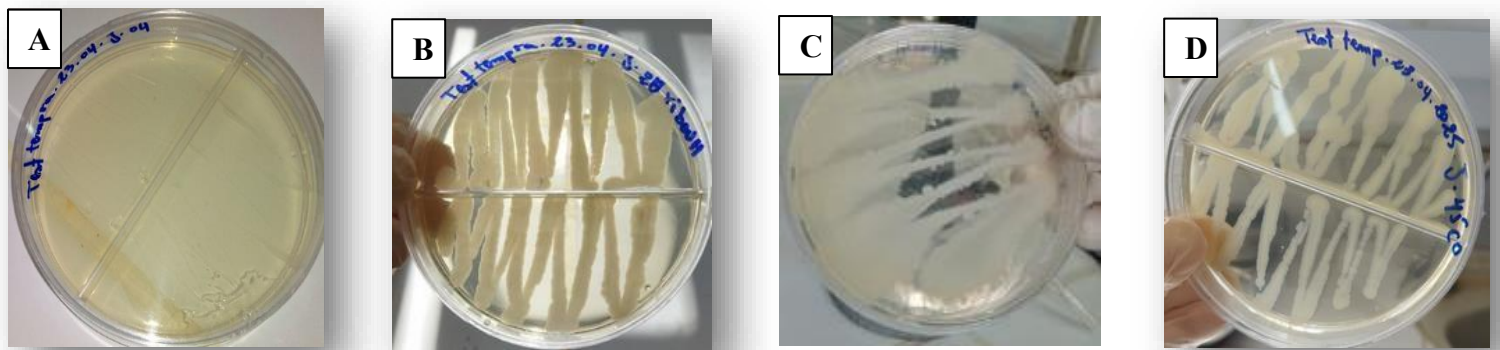


Figure 18: Croissance des isolats dans différentes températures. (A: 4 °C, B: 28 °C, C: 37°C, D :45°C).

Tableau 06: L'effet de température.

Température	4 °C	28 °C	37°C	45°C
Isolat 1	-	++	+++	+
Isolat 2	-	++	+++	+

-: absence de croissance +: présence de croissance

1.3 Caractérisation biochimique

1.3.1. Test catalase

Isolat 1:

Après l'ajout de peroxyde d'hydrogène nous remarquons l'absence de bulles d'oxygène

Donc la souche ne possède pas l'enzyme catalase.

Isolat 2:

Après l'ajout de peroxyde d'hydrogène nous observons l'apparition des bulles expliquée par dégagement gazeux de dioxygène donc la souche possède l'enzyme catalase. comme le montre la figure 19.

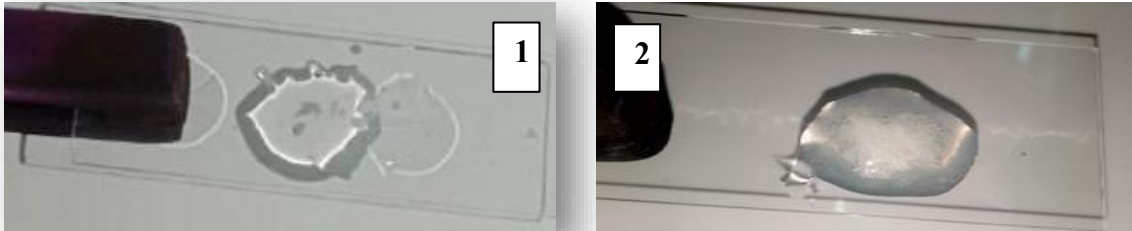


Figure 19: Test de catalase. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.2. Test oxydase

Nous observons que la couleur du disque ne change pas en rose après l'ajout de bactéries donc ne possèdent pas cet enzyme. comme le montre la figure 20.



Figure 20: Test d'oxydase. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.3. Nitrate réductase

La souche étudiée a été caractérisée comme nitrate réductase positive. Cette observation indique que la bactérie est capable de réduire les nitrates en nitrites. L'absence de coloration rouge, suite à l'ajout des réactifs appropriés, confirme que la réduction enzymatique du nitrate s'est poursuivie jusqu'au stade final de l'azote gazeux.



Figure 21: résultats de la recherche de nitrate réductase après l'ajoute des réactifs NIT I et NIT II et poudre de Zinc. (Isolat 1).

1.3.4. Test du mannitol-mobilité

Isolat 1:

Fermentation du Mannitol

L'absence de changement de couleur du milieu de culture indique que la bactérie est incapable de fermenter le mannitol. Cela signifie qu'elle ne possède pas les voies métaboliques nécessaires pour dégrader ce sucre-alcool et produire des acides.

Mobilité

L'observation d'une croissance bactérienne strictement confinée le long de la ligne d'inoculation centrale (piqûre) démontre que la bactérie est immobile. L'absence de diffusion de la croissance au-delà du point d'inoculation confirme l'absence de flagelles fonctionnels ou d'autres mécanismes de locomotion.

Isolat 2:

Fermentation du Mannitol

Le changement de couleur du milieu de culture vers le jaune indique que la bactérie est capable de fermenter le mannitol. Cette acidification du milieu est le résultat de la production d'acides lors du métabolisme du mannitol.

Mobilité

L'observation d'une croissance bactérienne confinée uniquement le long de la ligne d'inoculation centrale (piqûre) démontre que la bactérie est immobile. Une croissance diffuse dans le milieu aurait, à l'inverse, indiqué une mobilité.

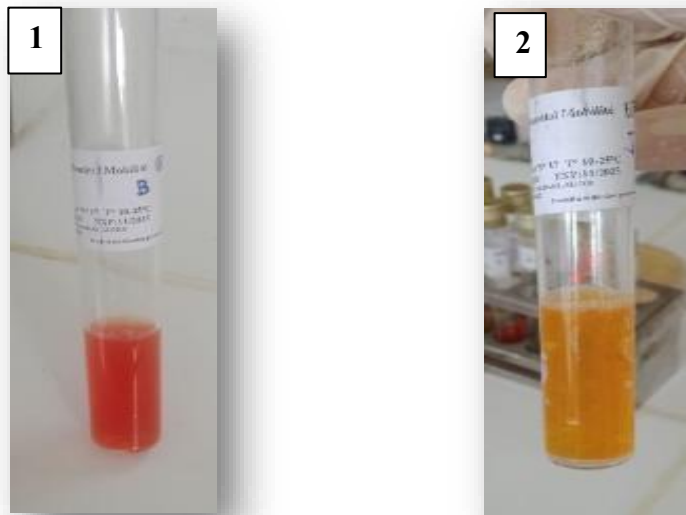


Figure 22: résultats de test mannitol mobilité. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.5. Recherche des métabolites formés à partir de l'acide pyruvique

Après l'incubation des tubes pendant 24h, nous ajoutent le réactif RM et VP.

Le test RM:

Positive pour les deux isolats. Indicateur de la production d'acides mixtes.

Le test VP:

Négative pour les deux isolats, aucun changement de couleur du milieu, donc les bactéries ne produisent pas d'acétone par fermentation du glucose.

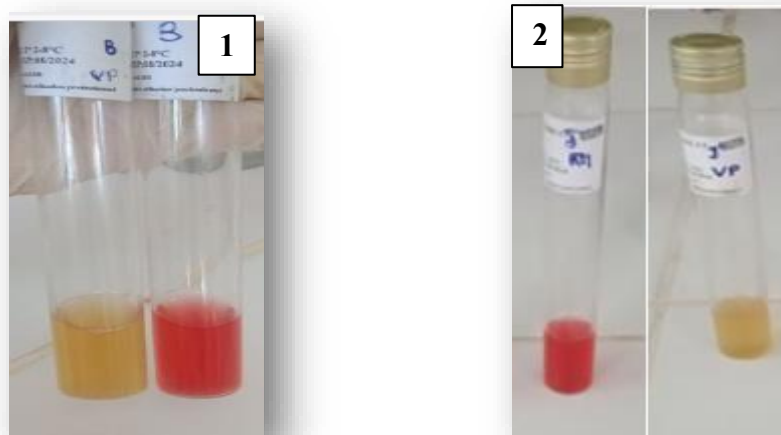


Figure 23: les résultats de test RM et VP. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.6. Utilisation du citrate comme source de carbone sur le milieu de Simmons

Après l'incubation des souches dans le milieu citrate de Simmons pendant 24h à 37°C, nous observons que les milieux gardent la couleur initiale (coloration verte). Donc les souches ne peuvent pas utiliser le citrate comme seule source de carbone. (Test négatif).

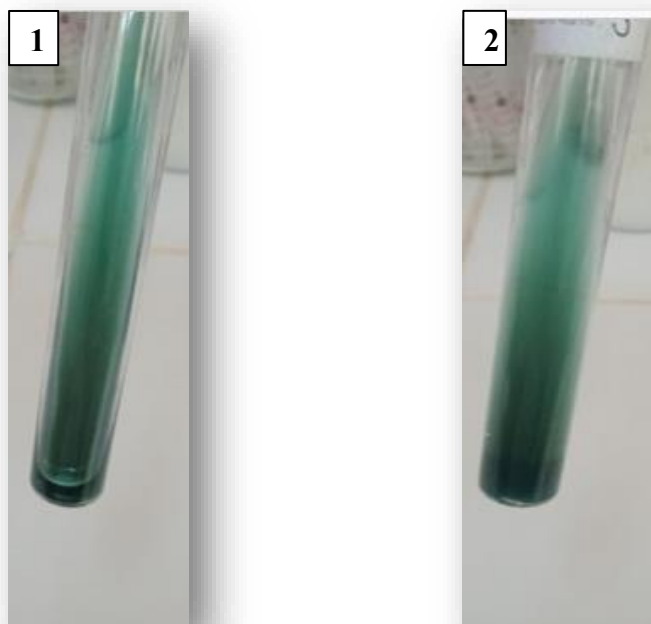


Figure 24: les résultats du test citrate de Simmons. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.7. Etude de type respiratoire

Après l'incubation des isolats ensemencés dans le milieu viande-foie, nous avons observé le développement des souches exclusivement à la surface du milieu. Cette localisation de la croissance indique que les souches étudiées sont des aérobies strictes, nécessitant la présence d'oxygène atmosphérique pour leur métabolisme et leur prolifération.

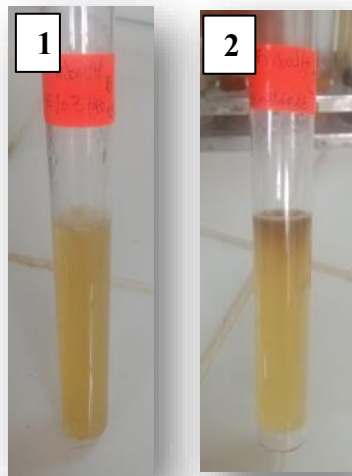


Figure 25: L'étude des types respiratoire. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.8. Test de cellulose

Isolat 1:

Cette coloration homogène indique que la cellulose présente dans le milieu n'a pas été hydrolysée par les souches microbiennes étudiées. L'absence de halo clair autour des zones de croissance bactérienne confirme que les bactéries testées ne possèdent pas les enzymes cellulolytiques nécessaires (cellulases) pour dégrader la cellulose.

Par conséquent, les souches analysées sont considérées comme cellulase-négatives. Cela signifie qu'elles ne sont pas capables d'utiliser la cellulose comme source de carbone ou d'énergie par hydrolyse enzymatique.

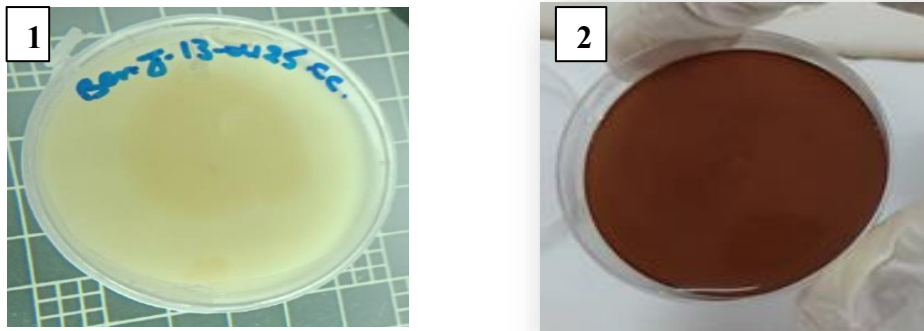


Figure 26: Test de cellulose. (1: *Isolat 1* avant la coloration par Lugol, 2: *Isolat 2* après la coloration).

1.3.9. Activité lipolytique

Isolat 1:

On observe l'absence de zone claire après l'incubation c'est ta dire la bactérie incapable de produire cette enzyme.

Isolat 2:

On observe l'absence de zone claire après l'incubation c'est ta dire la bactérie incapable de produire cette enzyme.

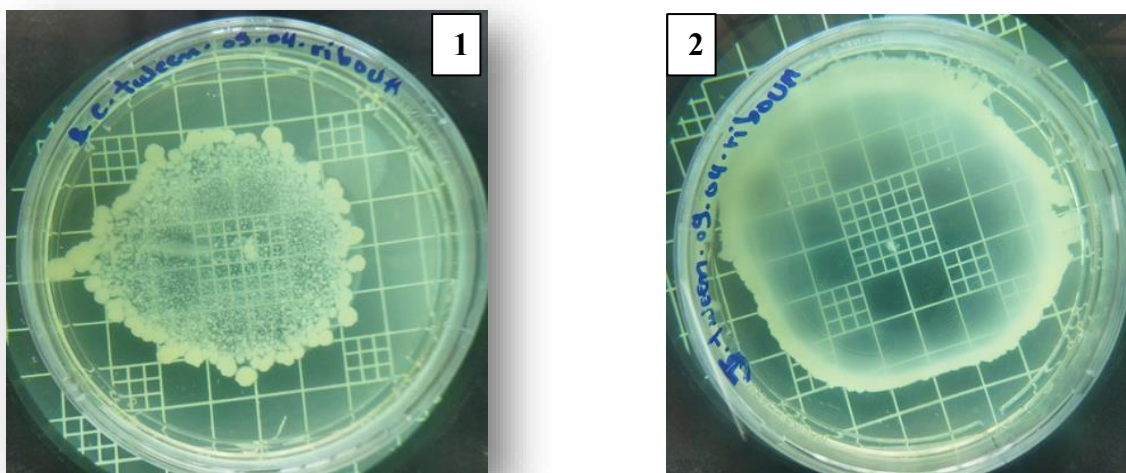


Figure 27: L'activité lipolytique.

1.3.10. Activité protéolytique

Après la période d'incubation, nous avons observé l'apparition de zones de clarification (halos clairs) autour des colonies sur le milieu de culture. Cette observation est un indicateur direct de la production de protéases par les souches bactériennes. La formation de ces halos résulte de l'hydrolyse enzymatique des protéines présentes dans le milieu, confirmant ainsi l'activité protéolytique des bactéries étudiées.

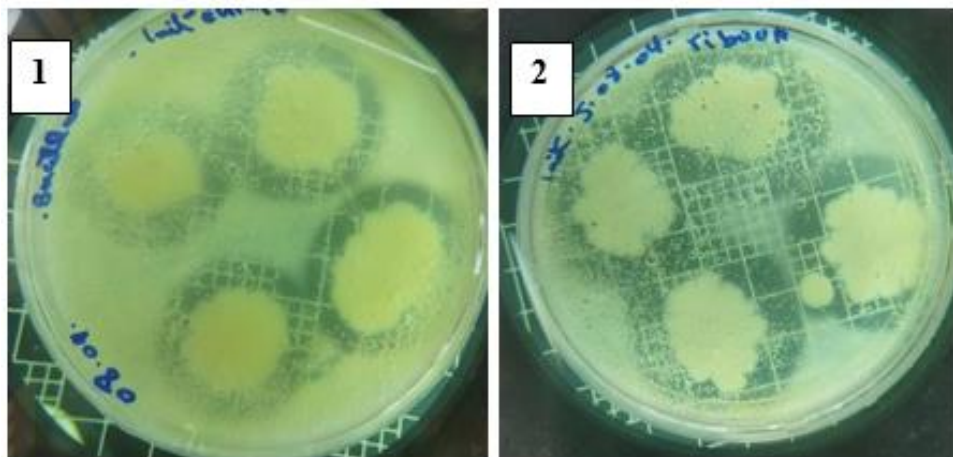


Figure 28: L'activité protéolytique des isolats. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.11. Activité chitinolytique

Après l'incubation, nous observons l'apparition des colonies bactériennes, donc la bactérie dégradée la chitine.

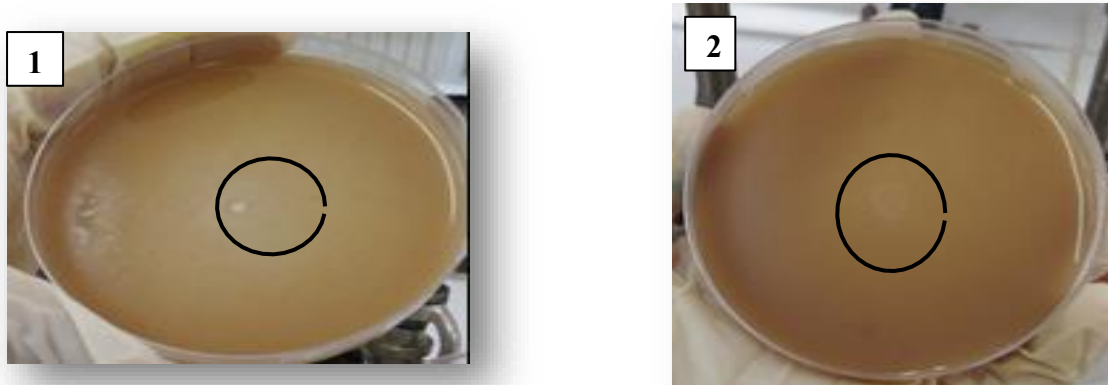


Figure 29: L'Activité chitinolytique. (1 : isolat 1, 2 : isolat 2)

1.3.12. Lecithinase

Les deux isolats:

Après l'incubation, nous observons l'apparition des colonies bactériennes, donc les isolats bactériens capable à produire de la lecithinase, une enzyme qui dégrade la lécithine.

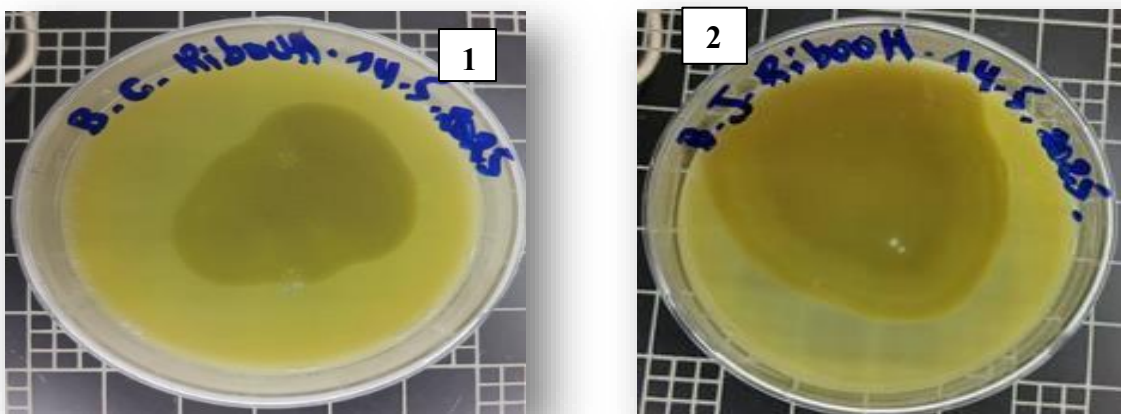


Figure 30: Test Lecithinase. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

Les résultats des tests hydrolyse de ,gelatine, amidon et production d'indole représente dans le tableau 07.

tous les tests sont négatives pour les deux isolats sauf le test hydrolyse de gelatine.

Tableau 07: Les résultats d'Urée indole et gélatine et l'hydrolyse de l'amidon.

	Production d'indole	Hydrolyse de l'urée	Hydrolyse de gélatine	Hydrolyse de l'amidon
Isolat 1	-	-	+	-
Isolat 2	-	-	+	-

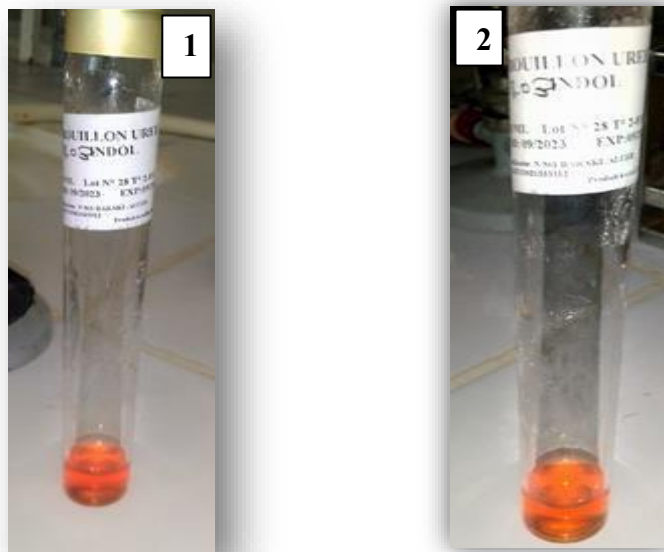


Figure 31: les résultats du test Urée indole. (1 : isolat 1, 2 : isolat 2).

1.3.13. Galerie API 20 E

Le tableau 08 présente les résultats des tests biochimiques réalisés à l'aide de la galerie API 20 E, un système d'identification utilisé principalement pour les bactéries *Bacillus* à Gram positif. Deux isolats bactériens (Isolat 1 et Isolat 2) ont été testés, et les résultats indiqués par "+" (positif) et "-" (négatif) permettent d'identifier ou de comparer leurs profils métaboliques.

Tests positifs : ADH, TDA, GEL, GLU, NR.

Tests négatifs : Tous les autres (incluant ONPG, LDC, ODC, CIT, H₂S, URÉE, INDOLE...)
Hypothèse sur l'identité bactérienne : Ce profil est typique de certaines espèces du genre *Bacillus*.

Ne fermentent pas les sucres comme le lactose, sorbitol.

Tableau 08: La Galerie API 20 E.

Les testes	Isolat 1	Isolat 2
ONPG	-	-
ADH	+	+
LDC	-	-
ODC	-	-
CIT	-	-
H ₂ S	-	-
UREE	-	-
TDA	+	+
INDOLE	-	-
VP	-	-
GEL	+	+
GLU	+	+
MAN	-	-
INO	-	-
SOR	-	-
RHA	-	-
SAC	-	-
MEL	-	-
AMY	-	-
ARA	-	-
NR	+	+

(+): test positive.

(-): test négative

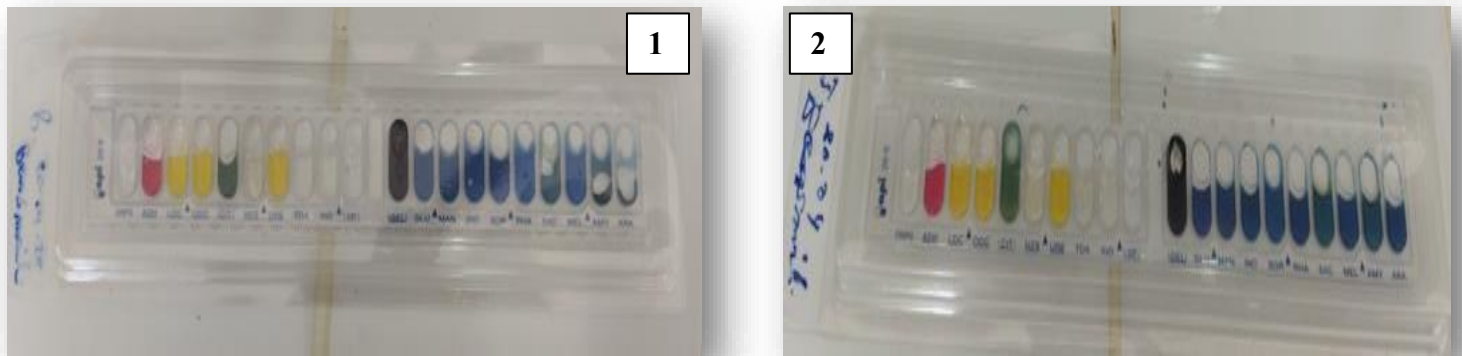


Figure 32: les résultats de Galerie API 20 E. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

1.3.14. Les résultats de l'antibiogramme

Tableau 09: Les résultats de l'antibiogramme.

	Souche1	Souche2
Oxacilline (OXA 5)_____	/	/
Pefloxacin (PEF)	2.5	2.2
Pristinamycine (PT)	2.5	2.5
Ticarcillin/clavulanic Acid (TCC)	0.7	/
(PCL)	/	/
Ceftriaxone (CRO)	/	2.4
Ticarcillin (TI)	/	/
Fusidic Acid (FC)	2.4	2.2
Cefoxitin (CX)	1.9	1.7
Fosfomycine (FF)	1.9	2.8
Bio disque Néomycine (N30)	2	2.1
Piperacillin (PIR)	1.5	1.3
Biodisque (PI)	1.4	1.3

Oxacillin (OX1)	/	/
Chloramphenicol (C30)	3	3,5
Fosfomycin (FF50)	/	1,8
Pristinamycine (PT15)	2,4	2,7
Pénicilline (P10)	/	/
Tetracycline (TE 30)	1,3	1,8
Ciprofloxacine (CIP5)	2,9	3
Vancomycin (VAN30)	1,3	1,8
Amoxicillin (AX25)	/	/

Les deux isolats bactériens analysés, l'Isolat 1 et l'Isolat 2, présentent un profil de multirésistance aux antibiotiques de la famille des pénicillines et apparentés, incluant l'Oxacilline, la Pénicilline, l'Amoxicilline et la Ticarcilline. Cependant, ils conservent une sensibilité notable à plusieurs autres classes d'antibiotiques, notamment les fluoroquinolones (Pefloxacine, Ciprofloxacine), les phénicolés (Chloramphénicol) et les streptogramines (Pristinamycine). Des différences spécifiques sont observées: l'Isolat 1 résiste à la Ceftriaxone et à la Fosfomycine (FF50), tandis que l'Isolat 2 est résistant à l'association Ticarcilline/Acide clavulanique.

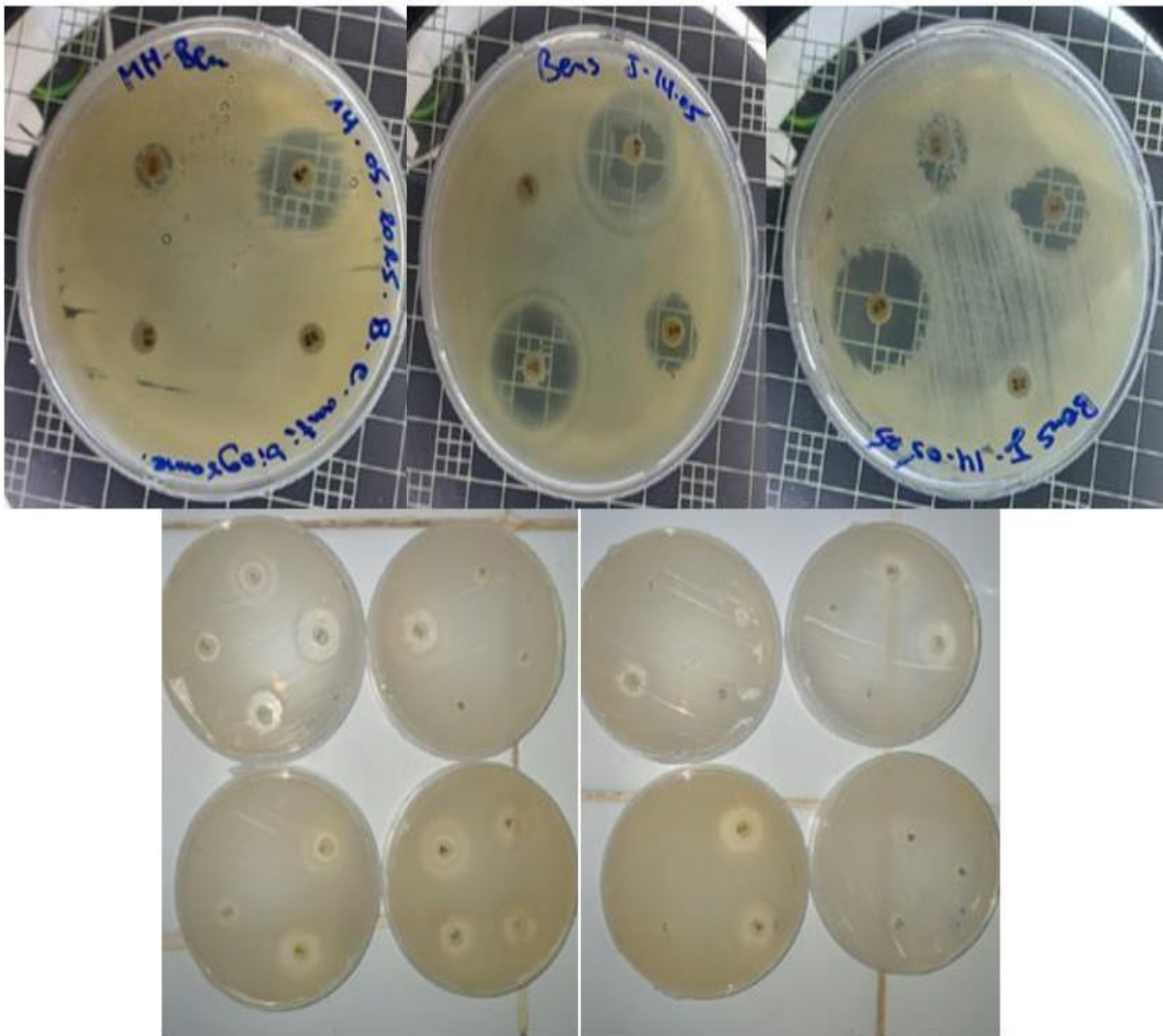


Figure 33: Les résultats de l'antibiogramme.

1.3.15. Résultat du test d'antagonisme

Le champignon isolé à partir des feuilles de blé infectées.

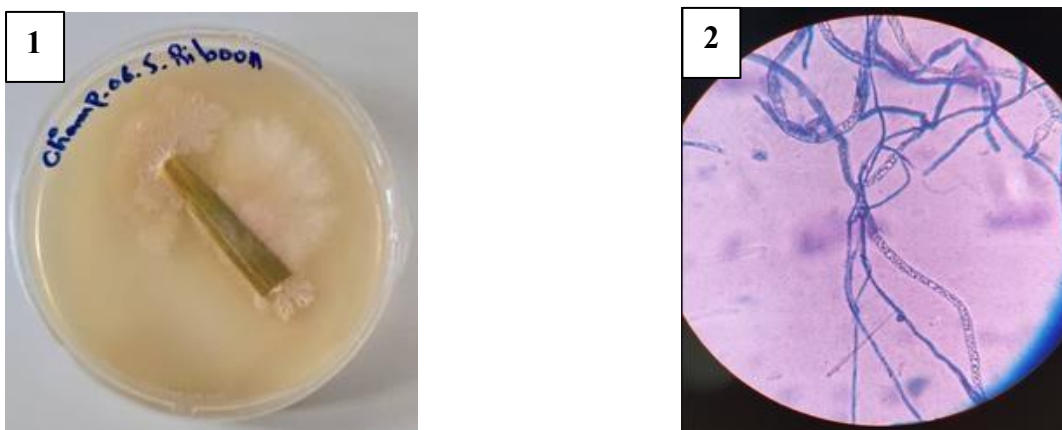
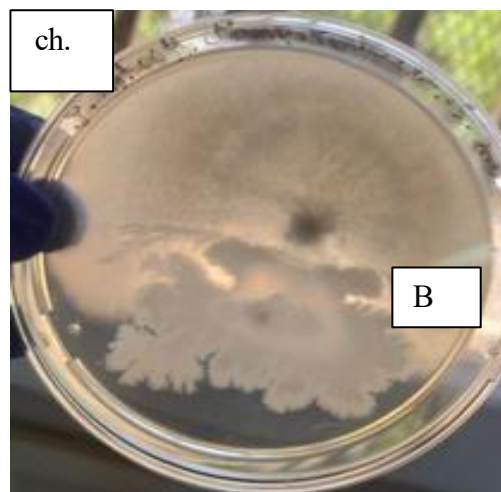


Figure 34: L'aspect macro et microscopique du champignon. (1: isolat 1, 2: isolat 2).

Tableau 10: Etude macroscopique de champignon.

Mycélium	Texture	La Taille	L'aspect
Blanche	Couche Mince	Grande	Filamenteux

Lors de la co-culture des bactéries utilisées pour la culture du blé avec le champignon isolé à partir de feuilles de blé infectées, nous avons observé une inhibition notable de la croissance du champignon. Cette inhibition est attribuée à l'activité antifongique des bactéries, manifestée par la dégradation de la paroi cellulaire fongique, notamment de la chitine. Ces résultats suggèrent que les bactéries étudiées pourraient jouer un rôle protecteur significatif contre les pathogènes fongiques du blé. comme le montre la figure 35.

**Figure 35:** Résultat du test d'antagonisme. (**B: Bactérie, ch: champignon**).

2. Résultats de la croissance du blé

2.1. Effet biofertilisant des isolats de 1er jour au 5ème jour:

2.1.1. Test Germination

Conformément aux observations faites par **Anuj Rana *et al.* (2011)**, nos propres résultats sur la phase initiale de germination et de croissance du blé, s'étendant sur les 15 premiers jours, révèlent une amélioration significative des performances des graines inoculées par l'isolat 2 ainsi que celles traitées avec du sulfate de NPK.

Plus précisément, il a été constaté que ces traitements ont induit une augmentation notable de la longueur et du nombre des racines, tel qu'illustré par la Figure 36. De même, le nombre de germes de blé a été supérieur comparativement aux graines non traitées et aux graines inoculées par l'isolat 2 (**Tableaux 11 et 12**).

La Figure 36 représente le Pourcentage de germination des graines de blé sur une période de cinq jours, en fonction de différents traitements appliqués : le témoin (non traité), les graines traitées par le NPK sulfate, les graines inoculées par l'isolat 1 et celles inoculées par l'isolat 2.

Dès le deuxième jour, un faible pourcentage de germination est observé pour l'ensemble des traitements. Cependant, les graines inoculées par l'isolat 2 montrent déjà une légère avance par rapport au témoin.

Au troisième jour, une différence significative apparaît : les graines inoculées par l'isolat 2 atteignent

Un taux de germination de 100 %, surpassant nettement les autres traitements. Les graines traitées par

le NPK sulfate et celles inoculées par l'isolat 1 présentent également des taux élevés, bien

qu'inférieurs à celui de l'isolat 2. Le témoin affiche une germination plus lente.

Au quatrième jour, la majorité des groupes traités dépassent les 80 % de germination. L'isolat 2

continue de maintenir son efficacité maximale. Le témoin, bien qu'en progression, reste en retrait.

Au cinquième jour, tous les groupes atteignent des taux de germination élevés (supérieurs à 90 %), y

compris le témoin. Toutefois, la germination rapide et complète observée dès le troisième jour chez les

graines traitées par l'isolat 2 confirme son efficacité notable en tant qu'agent bio-stimulant.

De plus, l'analyse du pourcentage de germination a montré que les graines inoculées par l'isolat 2 atteignaient le taux de germination le plus élevé (100 %) dès le troisième jour, surpassant les autres groupes de traitement dont la germination s'est achevée au cinquième jour (**Figure 36**). Ces observations soulignent le potentiel de l'isolat 2 et du traitement NPK pour optimiser les stades précoces du développement du blé.

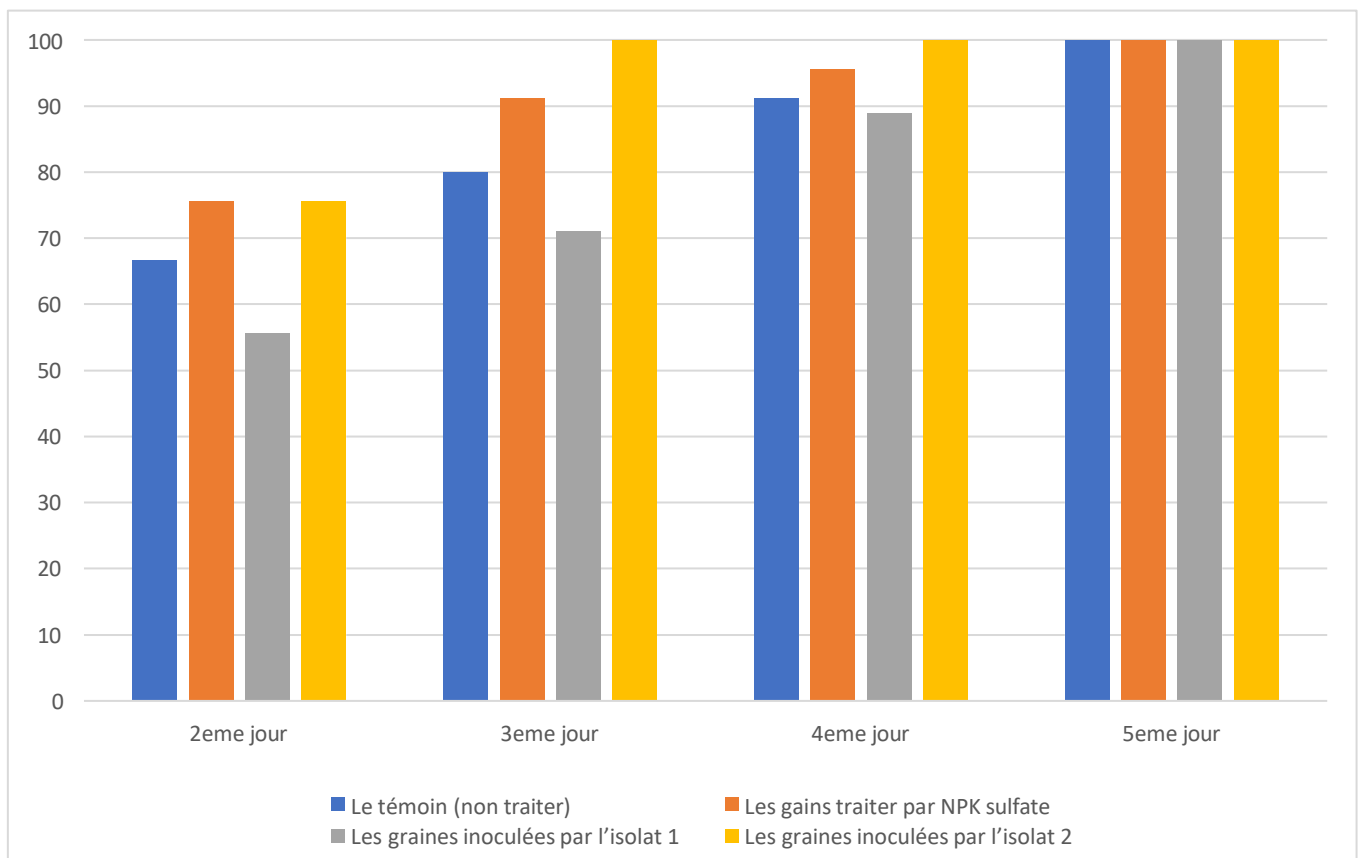


Figure 36: Histogramme représentant le pourcentage de germination des graines de blé en fonction des différents traitements.

2.1.2. Croissance des racines

Le **Tableau 11** représente les résultats de la croissance des racines (3ème jour de germination)

Dès le troisième jour, on observe une amélioration notable du nombre et de la longueur des racines chez les graines traitées, en comparaison avec le témoin.

Les graines inoculées par les isolats 1 et 2 affichent le nombre de racines le plus élevé (3 à 6), contre 1 à 5 pour le témoin.

En termes de longueur, l'isolat 2 permet d'atteindre la valeur maximale (4,1 cm), suivie de près par l'isolat 1 (4 cm).

Le traitement NPK sulfate montre aussi un effet bénéfique, mais légèrement inférieur à celui des isolats bactériennes.

Le témoin reste en retrait, indiquant que l'absence de traitement limite la croissance racinaire.

Les isolats bactériennes, notamment l'isolat 2, stimulent de façon précoce la formation et l'allongement des racines.

Tableau 11: les résultats de la croissance des racines (3eme jour).

Nombre des racines	
Le témoin	1 à 5
Les gains traiter par NPK sulfate	2 à 6
Les graines inoculées par <i>la souche 1</i>	3 à 6
Les graines inoculées par <i>la souche 2</i>	3 à 6
Longueur des racines(cm)	
Le témoin	0,5 à 2,3
Les gains traiter par NPK sulfate	0,3 à 3,5
Les graines inoculées par <i>la souche 1</i>	0,6 à 4
Les graines inoculées par <i>la souche 2</i>	0,5 à 4,1

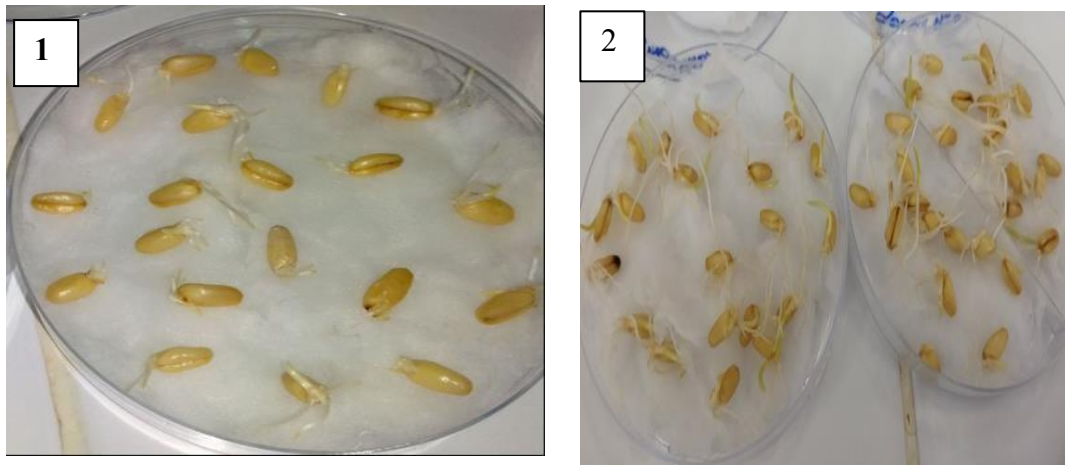


Figure 37: Graines de blé germées au troisième jour après traitement. (1: grain non traité, 2: grain inoculée par l'isolat 2).

Tableau 12 représente les résultats de la croissance des racines (4^{ème} jour de germination).

la croissance racinaire se renforce encore plus dans les groupes traités.

Le nombre de racines augmente légèrement pour toutes les modalités, avec une constance remarquable chez les graines inoculées par les souches 1 et 2 (4 à 6). La longueur des racines devient plus élevée.

L'isolat 1 permet d'atteindre une longueur maximale de 4,9 cm, la plus élevée de tous les traitements. L'isolat 2 et le NPK sulfate suivent de près avec des longueurs atteignant 4,5 cm. Le témoin reste limité à 2,6 cm, confirmant l'effet modeste de la croissance spontanée sans stimulation.

Le traitement par les isolats bactériennes, en particulier l'isolat 1, améliore significativement la croissance racinaire au quatrième jour, aussi bien en nombre qu'en longueur.

Tableau 12: les résultats de la croissance des racines (4eme jour).

Nombre des racines	
Le témoin	2 à 5
Les gains traiter par NPK sulfate	2 à 6
Les graines inoculées par <i>la souche 1</i>	4 à 6
Les graines inoculées par <i>la souche 2</i>	4 à 6
Longueur des racines(cm)	
Le témoin	0,5 à 2,6
Les gains traiter par NPK sulfate	1,5 à 4,5
Les graines inoculées par <i>la souche 1</i>	1 à 4,9
Les graines inoculées par <i>la souche 2</i>	1 à 4,5

Selon, **Kumar (2021)**, trois souches efficaces de PGPR isolées, ainsi qu'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* collectée, ont été sélectionnées pour élaborer différentes bioformulations visant à améliorer la croissance et le rendement du blé, tant en conditions de serre que sur le terrain. La combinaison de quatre souches (*Bacillus megaterium*, *Arthrobacter chlorophenolicus*, *Enterobacter* sp. et *P. aeruginosa*) a permis d'obtenir une augmentation significative de la hauteur des plantes (de 24,56 % en serre et 47,06 % au champ), du rendement en grains (75,80 % et 40,09 %) et du rendement en paille (76,55 % et 42,63 %) par rapport au témoin. Ces résultats ont été suivis par deux combinaisons tri-souches: *B. megaterium* + *A. chlorophenolicus* + *P. aeruginosa* et *A. chlorophenolicus* + *Enterobacter* spp. + *P. aeruginosa*. Les inoculations tri- et tétra-souches ont également entraîné une amélioration notable du poids spécifique des grains et de l'absorption des nutriments. Ainsi, l'inoculation combinée de *B. megaterium*, *A. chlorophenolicus*, *Enterobacter* spp. et *P. aeruginosa* constitue un consortium PGPR prometteur pour renforcer la productivité du blé.



Le témoin



Graine traitée par le NPK



Graine inoculée par l'isolat 1



Graine inoculée par l'isolat 2

Figure 38: Les racines des graines germées dans différents traitements.

2.2. Effet Biofertilisant des Isolats sur la Croissance Précoce du Blé (6ème au 9ème Jour)

L'étude des premiers stades de développement du blé, spécifiquement entre le 6ème et le 9ème jour post-plantation, a révélé une amélioration significative de la croissance chez les plants issus de graines inoculées par les isolats 1 et 2, ainsi que chez celles traitées avec du sulfate de NPK. Ces conditions ont entraîné un pourcentage de développement foliaire de 90 %, 95 % et 90 % respectivement pour les isolats 1, 2 et le NPK, contrastant avec le groupe témoin non traité qui affichait 85 %.

Ces observations s'alignent avec des données antérieures issues de la littérature scientifique. Par exemple, **Tatiana et al. (2020)** ont démontré que l'application de *P. mandelii* IB-Ki14 et de *B.*

subtilis IB-22 sur des semences de blé améliorait significativement la productivité des plants, avec des hausses de rendement de 21 % et 30 % respectivement par rapport aux contrôles non traités. Leurs analyses ont même mis en évidence une supériorité statistiquement significative de *B. subtilis* IB-22 dans l'accroissement du rendement ($p \leq 0,05$, test *t* pour échantillons appariés).

Ces résultats (représentés dans la Figure 38) corroborent l'hypothèse que les isolats étudiés possèdent des propriétés de promotion de la croissance végétale, agissant comme des biofertilisants efficaces dès les phases initiales de développement du blé.

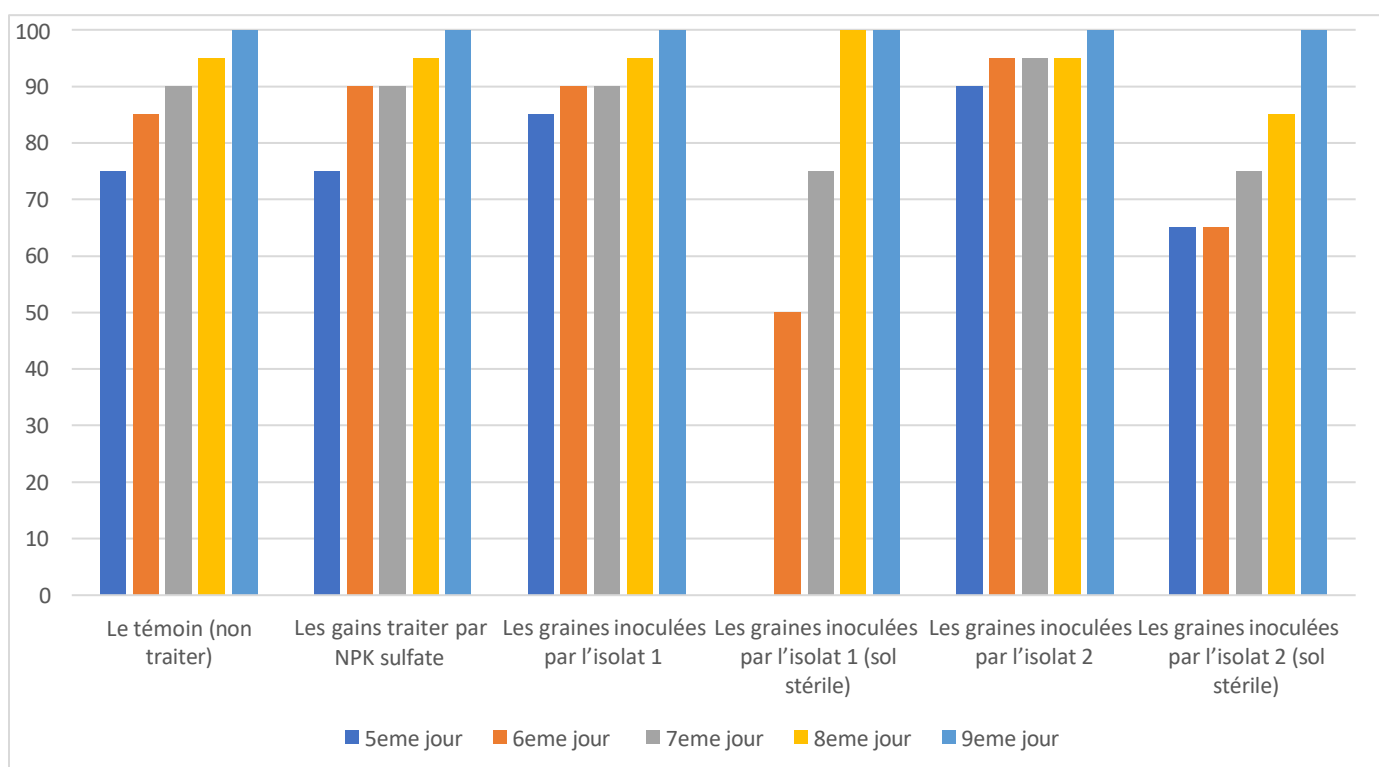


Figure 39: Histogramme de pourcentage l'apparition des feuilles du blé en fonction des différents traitements.

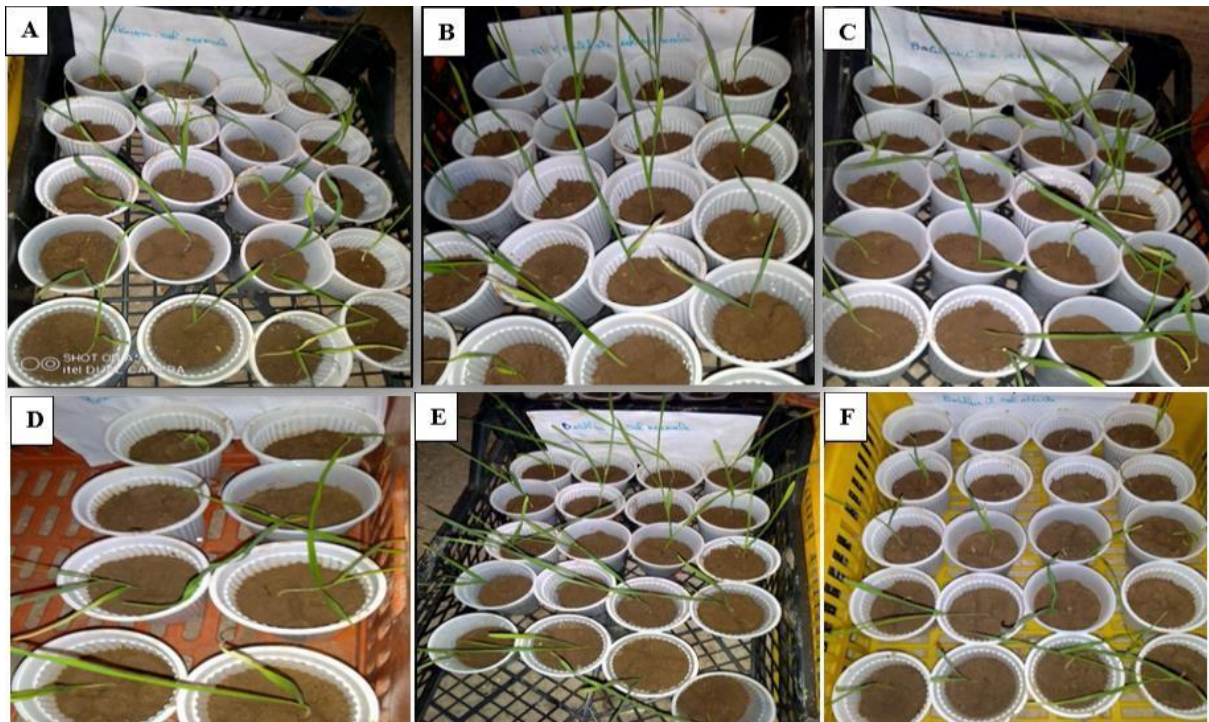


Figure 40: La longueur des feuilles 18 jours. (A) sol non traité, (B) sol traité par NPK sulfate, (C) sol traité par la souche 1, (D) sol stérile traité par la souche 1, (E) sol traité par la souche 2, (F) sol stérile traité par la souche 2.

2.3. Effet Biofertilisant des Isolats sur le Développement du Blé (11ème au 23ème Jour)

La deuxième phase du cycle de croissance du blé, couvrant la période du 11ème au 23ème jour après la plantation, a permis de mettre en évidence une contribution significative des isolats étudiés à l'amélioration des paramètres de développement végétatif. Nous avons notamment observé une stimulation marquée de l'apparition et de l'élongation des feuilles (**Tableau 13**), ainsi qu'une accélération de la croissance racinaire (**Tableau 14, Figure 42**).

Plus précisément, dès le quinzième jour, une émergence complète de deux feuilles était systématiquement notée chez les plants issus de graines inoculées avec l'isolat 2. L'isolat 1 a également montré une performance remarquable, avec un taux de 80 % d'apparition complète des deux feuilles, surpassant nettement les groupes témoins (graines non inoculées ou traitées avec des engrais agricoles conventionnels).

Ces effets bénéfiques sont principalement attribués à la capacité des deux isolats à stimuler la production d'hormones de croissance végétales, un mécanisme qui favorise directement le développement racinaire et, par conséquent, contribue à l'amélioration du rendement des cultures. Ces observations sont en accord avec des recherches antérieures approfondies.

Par exemple, **Ku et al. (2018)**, **Intham et al. (2021)** ont caractérisé *Bacillus cereus* souche YL6 pour son rôle dans la promotion de la croissance végétale. Leurs travaux ont révélé que cette souche est capable de solubiliser le phosphore (tant inorganique qu'organique) grâce à la production de divers acides organiques (notamment l'acide oxalique, malonique et succinique) et de phosphatases (acides, neutres et alcalines), dont l'activité maximale est observée après 48 heures. Ces processus biochimiques facilitent la conversion du phosphore insoluble en une forme biodisponible pour les plantes, ce qui, à son tour, favorise le développement racinaire et optimise le rendement des cultures. En outre, *B. cereus* YL6 est également connue pour sécréter des phytohormones, telles que l'acide indole-3-acétique (IAA) et les gibbérellines (GA), qui sont des régulateurs clés de la croissance végétale, renforçant ainsi son potentiel d'amélioration de la productivité agricole.

Parallèlement, d'autres études, comme celle de **Vimal et al. (2018)**, ont souligné la capacité de bactéries rhizosphériques tolérantes au sel à favoriser la croissance des plantes dans des environnements contraints. Ces chercheurs ont isolé de sols naturellement salins des souches prometteuses, *Bacillus* sp. (JG3) et *Pseudomonas* sp. (JG7), dont l'efficacité à améliorer la croissance du blé en conditions salines a été confirmée en laboratoire.

Tableau 13: La longueur des feuilles.

Les jours	Le témoin (cm)	Les gains traiter par NPK sulfate (cm)	Les graines inoculées par <i>L'isolat 1</i> (Sol non traiter) (cm)	Les graines inoculées par <i>l'isolat 1</i> (sol stérile) (cm)	Les graines inoculées par <i>l'isolat 2</i> (Sol non traiter) (cm)	Les graines inoculées par <i>l'isolat 2</i> (sol stérile) (cm)
6	0,5 à 4,1	0,4 à 4,8	0,5 à 6,3	0,4 à 4,7	0,6 à 6,3	0,6 à 5,2
7	0,7 à 5,3	0,5 à 5,7	0,6 à 7,8	0,8 à 5,4	0,8 à 6,7	0,8 à 5,8
8	0,9 à 6,2	1 à 7	1 à 8,9	0,9 à 5,7	1 à 8,2	0,7 à 6
9	0,7 à 7,9	1,5 à 8,6	0,5 à 11,5	1 à 6,7	2 à 9,7	0,5 à 6,7
10	0,4 à 8,3	0,3 à 9,6	0,7 à 12,7	1,3 à 8	0,9 à 11,1	0,5 à 7,3
11	0,9 à 9,4	1 à 10,2	1,9 à 13,2	1,5 à 8,2	2 à 12,2	0,3 à 7,5
12	1,5 à 12,7	2,2 à 10,9	2,5 à 14,5	1,7 à 8,5	3,9 à 13,5	4,4 à 8,9

13	2 à 13,9	3,7 à 12,2	4,2 à 15,7	3,2 à 9,7	4,3 à 14,5	1,3 à 9,3
14	2,9 à 14,2	4,9 à 13,9	5,3 à 17,2	4,1 à 10,2	6 à 15,6	1,5 à 9,7
15	3,2 à 15,9	5,1 à 14,7	6,1 à 18,9	4,9 à 11,4	7,3 à 17,1	1,7 à 10,1
16	3,9 à 16,1	5,9 à 15,3	6,9 à 20,3	5,6 à 12,9	7,9 à 18,9	1,9 à 11,2
17	4,5 à 16,9	6,2 à 16,8	7,2 à 20,7	6 à 13,3	8,2 à 19,6	2,3 à 12
18	5,7 à 17,8	7,9 à 17,3	7,9 à 21,4	6,1 à 14,1	8,9 à 20,2	2,6 à 13,4
19	6,3 à 18,2	8,3 à 18,9	8,3 à 21,9	6,5 à 15,3	9 à 21,3	3 à 13,7
20	6,9 à 19,6	9,1 à 20	8,8 à 22,3	7 à 16,6	9,4 à 22,6	3,2 à 15
21	7,2 à 20,3	9,8 à 21,9	9,1 à 23,5	7,7 à 17,9	9,9 à 23,4	3,5 à 16,4
22	8,1 à 21,7	10,2 à 22,6	9,5 à 24	8 à 218,4	10,5 à 24,1	3,7 à 17,9
23	9,4 à 22,3	10,2 à 23,1	10,1 à 24,3	8,3 à 19,1	11,2 à 25,5	4,1 à 18,4

La figure 41 représente l'histogramme de pourcentage d'apparition des deux premières Feuilles du blé en fonction des différents traitements."

Jours 11 à 13 :

Faible apparition pour tous les traitements.

Le traitement avec isolat 1 montre un léger avantage au 12e jour (>70%).

L'isolat 2 en sol stérile est inefficace à ce stade (proche de 0%).

Jour 14 :

Montée notable de tous les traitements.

NPK sulfate atteint environ 90%, devançant tous les autres.

L'isolat 2 non stérile suit de près.

Les traitements avec sol stérilisé restent en retard.

Jour 15-17 :

Tous les traitements montrent une forte croissance.

À partir du 16e jour, la majorité des traitements atteignent 90–100%.

Isolat 2 (non stérilisé) rivalise avec le NPK, parfois le dépasse.

Les traitements en sol stérile restent les moins efficaces.

Jours 18 à 20 :

Tous les traitements atteignent presque 100%.

La différence entre traitements devient moins significative à ce stade avancé.

Le témoins non traité reste légèrement en dessous (vers 90–95%).

Les deux isolats , surtout l'isolat 2, montrent une efficacité équivalente ou supérieure au NPK chimique

après 16 jours.

L'effet bénéfique des isolats est freiné en sol stérile, suggérant une interaction positive avec la microflore

naturelle du sol.

Le traitement NPK permet une émergence plus rapide, mais les traitements biologiques (isolats)

montrent une efficacité durable et comparable.

Le traitement témoin est toujours le moins performant.

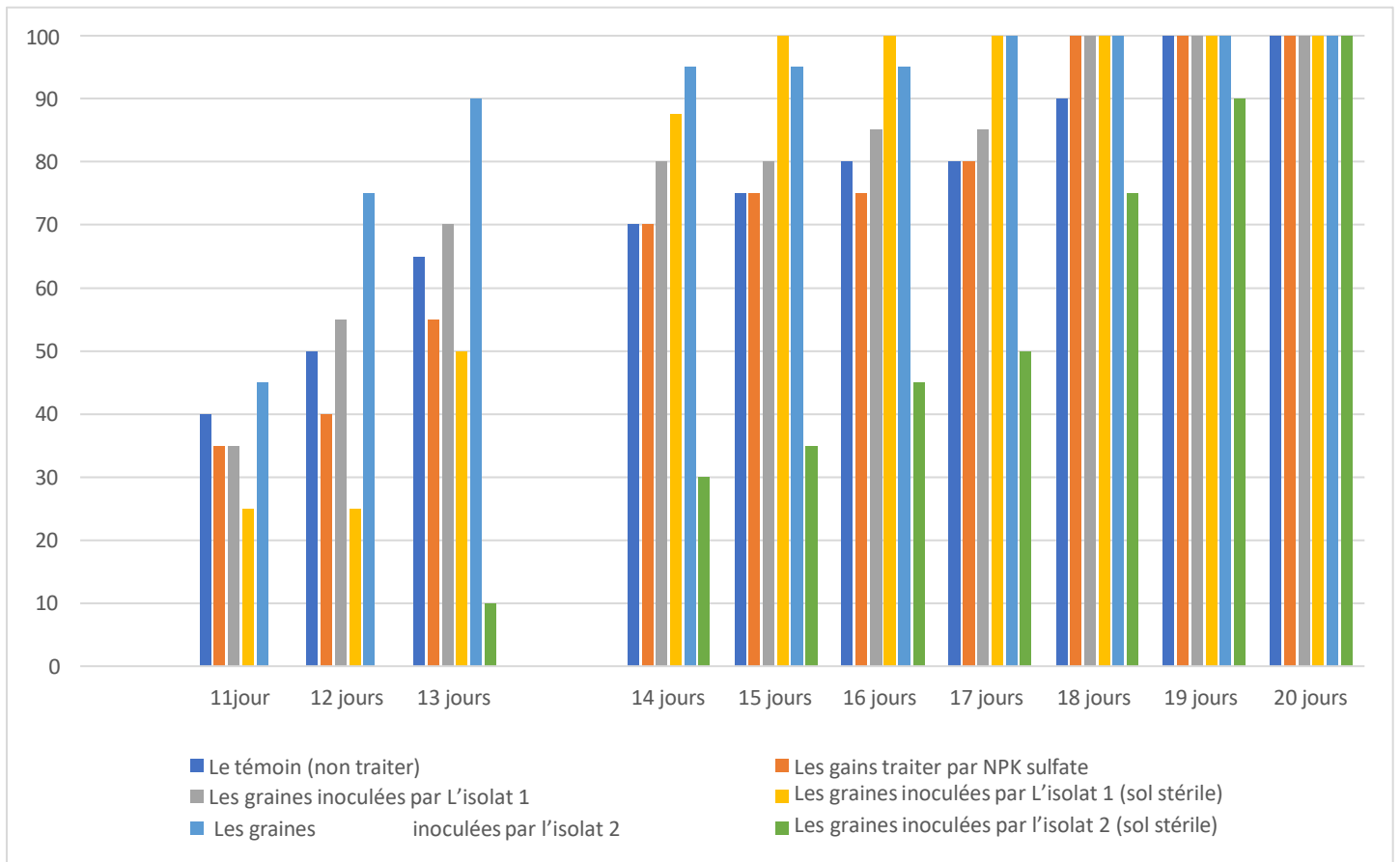


Figure 41: Histogramme représentant le pourcentage d'apparition des deux premières feuilles du blé en fonction des différents traitements.

La figure 42 représente l'histogramme de pourcentage de l'apparition de trois feuilles.

Jours 17 à 19 :

Faible apparition globale : toutes les conditions ont des pourcentages < 30%.

Isolat 1 + sol stérile (jaune) montre une apparition plus rapide (25% au jour 17).

Témoin et isolat 2 stérile : les plus faibles au début.

Jour 20 :

Augmentation nette pour NPK (orange) (~60%).

L'isolat 1 (gris) montre de bons résultats (~45%).

Témoin et isolat 2 + sol stérile restent < 40%.

Jour 21 :

NPK atteint ~85% : le plus performant.

Isolat 1 et Isolat 2 (non stérile) : > 60%, bons résultats.

Témoin reste en retard (~50%).

Jour 22 :

Convergence des résultats :

NPK, isolat 1 et isolat 2 (non stérile) entre 80–90%.

Sol stérile encore en retrait (surtout isolat 2 stérile).

Jour 23 :

Tous les traitements atteignent des valeurs élevées ($\geq 90\%$), sauf isolat 2 en sol stérile qui plafonne à ~70%.

Isolat 1 dépasse les 95%, comme le NPK, et isolat 2 non stérile atteint 100%.

Conclusion globale :

Le traitement NPK sulfate permet une apparition précoce et rapide des trois feuilles, atteignant 85% dès le 21^e jour.

Les isolats (isolat 1 et 2), surtout en sol non stérilisé, sont très efficaces et atteignent des

performances comparables au NPK à partir du 22^e jour.

En sol stérilisé, leur efficacité est fortement réduite, en particulier pour l'isolat 2, ce qui confirme l'importance de la synergie avec la microflore naturelle du sol.

Le témoin reste toujours en retard, bien que rejoignant les autres traitements à la fin (23^e jour)

L'apparition des trois premières feuilles du blé varie significativement selon les traitements. Le NPK chimique montre une efficacité rapide, atteignant 85% dès le 21^e jour. Toutefois, les inoculations biologiques, notamment avec l'isolat 2 en sol non stérile, égalent voire surpassent ces résultats à partir du 22^e jour, atteignant 100% au 23^e jour. La stérilisation du sol réduit notablement l'efficacité des isolats, ce qui souligne l'importance de la microflore native dans la réussite de la symbiose plante-microorganisme.

Ces résultats soutiennent l'utilisation de biofertilisants comme alternative durable aux intrants chimiques.

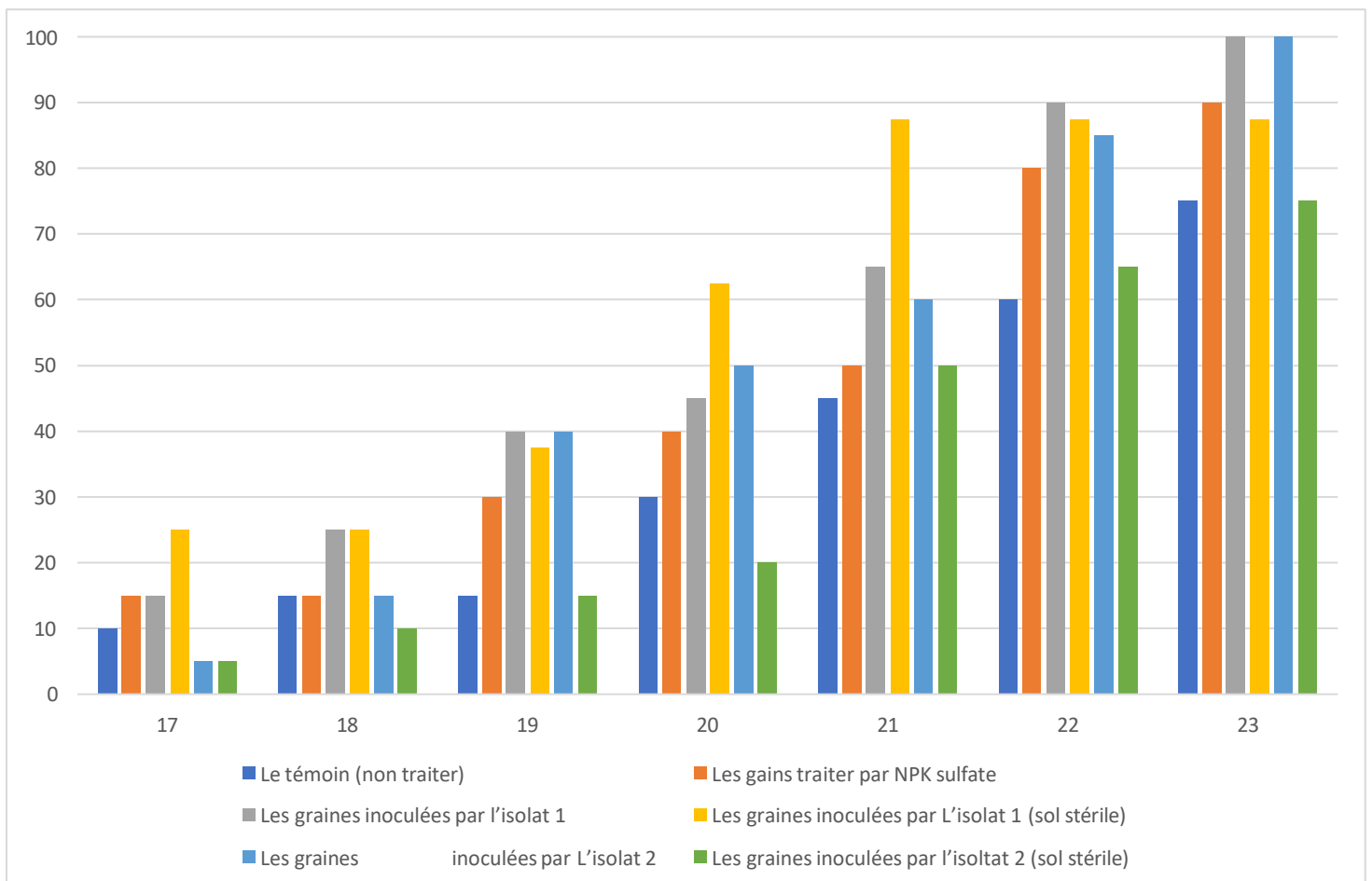


Figure 42: Histogramme de pourcentage de l'apparition de trois feuilles.

Selon les études de **Mahmoud A. Salem *et al.*, (2024)** ont montré que l'inoculation répétée avec des rhizobactéries promotrices de croissance (PGPR) contribue progressivement à améliorer la santé des sols et les rendements agricoles au fil des saisons. Par exemple, l'application prolongée de souches de *Bacillus* a permis d'enrichir le sol en carbone organique, de stimuler l'activité microbienne et d'augmenter la disponibilité des nutriments dans les systèmes de culture des céréales. L'accumulation progressive de communautés microbiennes bénéfiques peut également engendrer des effets positifs à long terme, appelés « effets résiduels », qui se maintiennent même après l'arrêt de l'inoculation.

Sur le plan économique, les méta-analyses ont démontré que l'utilisation des PGPR représente une solution rentable. En effet, ces bactéries améliorent durablement les rendements des cultures ainsi que la rentabilité des exploitations agricoles, grâce à leur double action: stimulation directe de la croissance des plantes et amélioration des propriétés du sol.

Selon (**Mondal *et al.*, 2020**). Bien que les PGPR se colonisent principalement au niveau ou à proximité des racines des plantes, leur impact bénéfique s'étend à l'ensemble des fonctions essentielles de la plante. Ces micro-organismes jouent un rôle crucial en améliorant divers aspects du développement végétal, tels que la vigueur de germination, la croissance des racines et des pousses, l'efficacité de la photosynthèse, la floraison, le rendement des cultures ainsi que la résistance aux maladies.



Figure 43: La longueur des racines de 23 jours de croissance (A: témoin, B: traiter par la souche1, C: traiter par la souche 2, D: traiter par NPK sulfate).

Selon (**Kapadia et al., 2021**). L'inoculation avec des consortiums microbiens a favorisé le développement de racines secondaires, capables d'absorber davantage de minéraux et de transporter efficacement les nutriments vers les différentes parties de la plante, ce qui s'est traduit par une croissance et une biomasse accrues. Les résultats montrent que ces consortiums peuvent atténuer les effets néfastes du stress salin et stimuler la croissance des plants de tomate en conditions salines. Ainsi, l'utilisation de consortiums microbiens apparaît comme une solution alternative, économique et durable pour lutter contre la salinité des sols et améliorer la croissance des plantes en situation de stress.

➤ **Dosage de chlorophylle**

Le **tableau 14** présente des données sur la teneur en chlorophylle (chlorophylle a et b, en microgrammes par gramme de masse fraîche) et la longueur des racines (en centimètres) dans diverses conditions de traitement. Voici un résumé détaillé :

Teneur en chlorophylle :

- Chlorophylle a :
- Témoin : 28,85 µg/g MF
- Feuilles traitées au NPK : 29,04 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol normal) : 56,65 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol stérile) : 58,73 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol normal) : 61,49 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol stérile) : 39,65 µg/g MF

- Chlorophylle b :
- Témoin : 25,32 µg/g MF
- Feuilles traitées au NPK : 25,94 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol normal) : 24,19 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol stérile) : 22,38 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol normal) : 29,43 µg/g MF
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol stérile) : 25,16 µg/g MF

Longueur des racines :

- Témoin : 14,5 cm
- Feuilles traitées au NPK : 14,7 cm
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol normal) : 16,5 cm
- Feuilles inoculées avec l'isolat 1 (sol stérile) : 9 cm
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol normal) : 17 cm
- Feuilles inoculées avec l'isolat 2 (sol stérile) : 10 cm

Interprétation :

- L'inoculation avec l'isolat 1 ou 2 augmente la teneur en chlorophylle et la croissance des racines longueur, par rapport au témoin et au traitement NPK.

- Les valeurs les plus élevées sont observées avec l'isolat 2 dans un sol normal, indiquant un fort effet positif sur la chlorophylle et la croissance des racines.

Tableau 14: Les Résultats de test de chlorophylle et de la longueur des racines.

	<i>Le témoin</i>	Les feuilles traiter par NPK sulfate	Les feuilles inoculées par l'isolat 1 (sol normale)	Les feuilles inoculées par l'isolat 1 (sol stérile)	Les feuilles inoculées par l'isolat 2 (sol normal)	Les feuilles inoculées par l'isolat 2 (sol stérile)
Chlorophylle (a) ($\mu\text{g} / \text{g MF}$)	28,85	29,04	56,65	58,73	61,49	39,65
Chlorophylle (b) ($\mu\text{g} / \text{g MF}$)	25,32	25,94	24,19	22,38	29,43	25,16
La longueur des racines (cm)	14,5	14,7	16,5	9	17	10

Selon (Glick, 2012; Vassilev et al., 2006). l'application de bactéries PGPR dans la culture du blé dur s'est révélée bénéfique, notamment par l'augmentation du taux de chlorophylle foliaire, indicateur d'un meilleur état nutritionnel et physiologique des plantes. Plusieurs travaux ont démontré que l'inoculation avec certaines souches de PGPR, telles que *Azospirillum*, *Pseudomonas* ou *Bacillus*, entraîne une hausse significative de la teneur en chlorophylle, traduisant une amélioration de la capacité photosynthétique .

Selon, (Kumar et al., 2017), (Beneduzi et al., 2012) Une meilleure assimilation des nutriments essentiels, en particulier l'azote, élément fondamental de la molécule de chlorophylle. Une diminution du stress physiologique, notamment hydrique ou d'origine abiotique, permettant le maintien d'un niveau de chlorophylle optimal.

Selon (Shah et al., 2013), Les mesures expérimentales, effectuées par SPAD ou spectrophotométrie, confirment une augmentation notable de la teneur en chlorophylle chez les plants de blé inoculés par rapport aux témoins non traités, notamment en conditions de stress modéré. Selon (Sharma et al., 2014). Cette amélioration est fréquemment associée à une croissance végétative renforcée, un meilleur rendement et une qualité accrue des grains

Conclusion et perspectives



Cette étude a mis en évidence l'intérêt agronomique des isolats bactériens appartenant au genre *Bacillus* pour l'amélioration de la qualité du blé tendre (*Triticum aestivum*). Les résultats obtenus révèlent un fort potentiel biologique de ces souches, leur conférant une capacité d'action à plusieurs niveaux au sein des systèmes agricoles.

Les deux isolats étudiés ont démontré une activité enzymatique remarquable. Les tests ont mis en évidence une activité protéolytique, chitinase ainsi qu'une production de lécithinase. Ces isolats sont capables de dégrader des substrats complexes tels que les protéines, la chitine et la lécithine grâce à la sécrétion d'enzymes spécifiques. Ces propriétés enzymatiques suggèrent un potentiel biotechnologique intéressant.

Par ailleurs, les tests d'antagonisme réalisés entre les bactéries et un champignon isolé à partir de feuilles de blé infectées ont montré une inhibition significative de la croissance fongique. L'activité antifongique semble liée à la dégradation de la paroi cellulaire du champignon, en particulier de la chitine, suggérant un mécanisme d'action direct. Ces observations mettent en lumière le potentiel des souches étudiées comme agents de biocontrôle naturels contre les pathogènes fongiques du blé, et ouvrent ainsi la voie à des stratégies de protection des cultures plus durables.

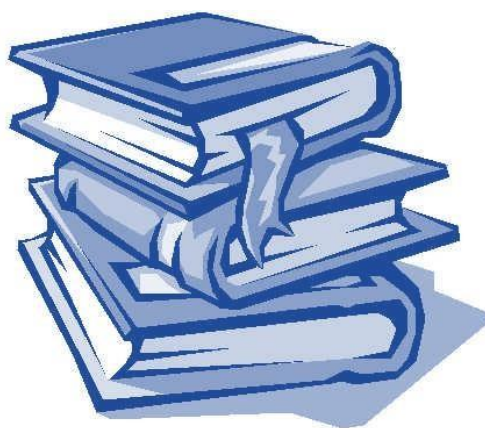
Sur le plan agronomique, les isolats ont également manifesté des propriétés avérées de biofertilisation, stimulant la croissance végétative et favorisant une meilleure absorption des éléments nutritifs. Cette action s'est traduite par un développement sain et équilibré des plantes, accompagné d'une amélioration notable des paramètres physiologiques et nutritifs du blé. En parallèle, leur effet antifongique positionne ces bactéries comme des biopesticides naturels, réduisant le besoin en produits phytosanitaires de synthèse et s'inscrivant pleinement dans les principes de l'agriculture durable.

Dans ce contexte, l'utilisation combinée de deux types distincts de *Bacillus* a démontré une efficacité remarquable à la fois pour stimuler la croissance des plantes et pour contrôler les agents pathogènes. Cette double fonctionnalité renforce l'intérêt de ces bactéries comme outils biologiques multifonctionnels. Au-delà de leur rôle en tant que biofertilisants et biopesticides, leur intégration dans les pratiques agricoles représente une alternative écologique, sûre et efficace aux intrants chimiques, contribuant à préserver la fertilité des sols et à maintenir l'équilibre écologique des agroécosystèmes.

En conclusion, cette étude confirme que les bactéries du genre *Bacillus* sont capables de jouer un rôle essentiel et complémentaire dans l'amélioration de la qualité du blé et dans sa protection contre les maladies fongiques. Elles apparaissent ainsi comme des solutions stratégiques et prometteuses pour répondre aux exigences de l'agriculture moderne.

Néanmoins, malgré ces résultats encourageants, il demeure nécessaire de poursuivre les recherches appliquées, notamment en conditions de terrain. Des études complémentaires seront essentielles pour évaluer l'efficacité des isolats dans différents contextes pédoclimatiques, et pour approfondir la compréhension des interactions complexes et durables entre les bactéries, la plante et le sol.

Références bibliographiques



1. **ABDELHAMID, M., HAMANA, B., AMAR, B., ABDELKARIM, H. S., et NADIR, H.** (2006). Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum Desf.*) au climat semi-aride. *Sécheresse*, 17(4), 507–513.
2. **ABÉCASSIS, J., et AUTRAN, J.-C.** (2012). Qualité du blé et de ses produits dérivés. In: CHOPIN, M. & GUILLERM, E. (éd.). *Agronomie et agroalimentaire : Sciences et innovations*. Paris: Lavoisier, p. 209–234.
3. **ABÉCASSIS, J., MASSÉ, J., et ALLAOUA, A. (Coord.).** (2021). *Blé dur. Synthèse des connaissances pour une filière durable*. Versailles: Éditions Quæ.
4. **AIT-SLIMANE-AIT-KAKI, S.** (2008). *Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologique chez le blé dur en Algérie*. Thèse de doctorat. Université d'Annaba, 28 p.
5. **AÏZI, Djamel Eddine et CHEBA, Ben Amar.** (2015). Influence of chitinous waste on soil bacterial community: biofertilizer effect and antifungal activity. *Procedia Technology*, 19, 965-971.
6. **ANDERSON, L. M., HALL, A. C., et JONES, M. K.** (2022). Recent Advances in Cereal Grain Biochemistry. *Journal of Cereal Science*, 104, 103432.
7. **ARKHIPOVA, T., MARTYNENKO, E., SHARIPOVA, G., KUZMINA, L., IVANOV, I., GARIPPOVA, M., et KUDOYAROVA, G.** (2020). Effects of plant growth promoting rhizobacteria on the content of abscisic acid and salt resistance of wheat plants. *Plants*, 9(11), 1429.
8. **ASHBY, M. N., LIESACK, W., et BODDY, L.** (2004). Nitrogen fixation in eukaryotic microorganisms. *BioEssays*, 26(1), 25–31.
9. **BACKER, R., SPAEPEN, S., VANDERLEYDEN, J., et DE MOT, R.** (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: more than biofertilizers. *Microbial Biotechnology*, 11(6), 955–977.
10. **BASHAN, Y., DE-BASHAN, L. E., PRABHU, S. R., et HERNANDEZ, J. P.** (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*, 378(1-2), 1–37.
11. **BASHAN, Y., BASHAN, L. E., et DE-BASHAN, L. E.** (2024). The use of Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) in agriculture: The long winding road to acceptance. *Plant and Soil*, 497, 269–290.
12. **BENEDUZI, A., AMBROSINI, A., et PASSAGLIA, L. M. S.** (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biofertilizers. *Genetics and Molecular Biology*, 35(S1), 1044–1051.
13. **BENMOUNAH HOUDA.** (2021). *Evaluation des réponses adaptatives, physiologiques, biochimiques et génotypiques d'un germoplasme de blé dur (Triticum durum Desf) sous stress hydrique*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba, 180 p.
14. **BENSON, H. J.** (2002). *Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology*. 8e éd. McGraw-Hill.
15. **BERGEY, D. H., WHITMAN, W. B., GOODFELLOW, M., KÄMPFER, P., BUSSE, H. J., TRUJILLO, M. E., ... et PARTE, A. C. (Eds.).** (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
16. **BERRGE, D. H., WHITMAN, W. B., GOODFELLOW, M., KÄMPFER, P., BUSSE, H. J., TRUJILLO, M. E., ... et PARTE, A. C. (Eds.).** (2015). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.
17. **BOUREMANI, N.** (2025). *Effets des PGPR sur l'amélioration de la Croissance végétale sous stress abiotique*. [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1]. Département de Microbiologie.
18. **BROWN, S. P., SMITH, J. L., et WILSON, K. C.** (2021). Structural Analysis of the Wheat Caryopsis Using Advanced Microscopy Techniques. *Plant Physiology*, 185(3), 1125-1138.

19. **CARPENTER, S. R., CARACO, N. F., CORRELL, D. L., HOWARTH, R. W., SHARPLEY, A. N., et SMITH, V. H.** (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8(3), 559–568.
20. **CHABANE, M., et BOUSSARD, J.-M.** (2012). La production céréalière en Algérie: Des réalités d’aujourd’hui aux perspectives stratégiques de demain. hal-02804678.
21. **CHEHAT.** (2007). Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation ». Alger: 7-9 avril 2007.
22. **CHEN, Q., ZHAO, L., ZHOU, R., et LI, G.** (2018). Environmental Signals and Hormonal Regulation of Wheat Development. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1015.
23. **CLARK, R. T., GAINS, W. A., LIU, S. H., SCHMALZRIED, B. M., MING, R., CHEN, J. Z., et ZHAO, L. P.** (2008). Genetic and Environmental Factors Affecting Grain Texture in Common Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 116, 479-491.
24. **Glick, B. R.** (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, 2012, 1-15.
25. **DECOUSSER, J.-W., ROMANO-BERTRAND, S., et POZZETTO, B.** (2023). L’antibiogramme : objectifs, méthodes et interprétation. *Hygiènes*, 31(3), 253-258.
26. **DJERMOUN, A.** (2009). La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. Département d’Agronomie, Université de Hassiba Benbouali de Chlef, 45–53.
27. **DUBEY, S. C., SURESH, A., et SRIVASTAVA, S.** (2017). Biofortification of wheat with micronutrients using plant growth-promoting *Bacillus* strains. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 42, 125-134.
28. **DUBOIS, M., TORRES, A. F., et POUTARAUD, A.** (2020). Molecular Mechanisms Underlying Spike Development in Wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 18(6), 1129-1145.
29. **DUPONT, J., BENNETT, M. J., et FOYER, C. H.** (2020). Novel Insights into Wheat Root System Architecture and Function. *Journal of Experimental Botany*, 71(10), 2741-2756.
30. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO).** (2020). *FAOSTAT database*.
31. **FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE.** (2011, February). *Grain world markets and trade (Circular Series)*.
32. **GARCIA, V., HIRAI, M. Y., et FERNIE, A. R.** (2019). Xylem and Phloem Transport Dynamics in Wheat Stems. *New Phytologist*, 222(3), 1234-1248.
33. **GLICK, B. R.** (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012(96), 34-01.
34. **GORDON R. E., HAYNES W. C., PANG C.H.N.** (1973). *The Genus Bacillus* (Agricultural Hand book no. 427). Washington DC: United States Department of Agriculture.
35. **GRAM, H. C.** (1884). Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin*, 2, 185-189.
36. **GUILLETTE, E. A., MEZA, M. M., AGUILAR, M., SOTO, P., et GARCIA-VARGAS, G.** (2006). An anthropological approach to the evaluation of preschool children exposed to pesticides in rural Mexico. *Environmental Health Perspectives*, 114(5), 691–696.
37. **GUIRAUD, J. P.** (1998). *Microbiologie Alimentaire*. Dunod.
38. **GUL, S., JAVED, S., AZEEM, M., AFTAB, A., ANWAAR, N., MEHMOOD, T., et ZESHAN, B.** (2023). Application of *Bacillus subtilis* for the alleviation of salinity stress in different cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agronomy*, 13(2), 437.
39. **HANG, Y., LIU, X., LI, Z., et ZHANG, W.** (2020). *Bacillus subtilis* inoculation improves nitrogen uptake and grain protein content in wheat. *Plant and Soil*, 447(1-2), 157-169.
40. **HARLEY-PRESCOTT.** (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition*. Companies.
41. **HASSAN, F., SMITH, J., LIU, Y., et KUMAR, R.** (2019). The role of the flag leaf in

- wheat grain filling under stress conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 205(5), 123-134.
42. **IDRIS, E. E., IGLESIAS, D. J., TALON, M., et BORRISS, R.** (2007). Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects colonization of *Arabidopsis thaliana* roots by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(6), 619–626.
 43. **Inthama, P., Pumas, P., Pekkoh, J., Pathom-Aree, W., et Pumas, C.** (2021). Plant Growth and Drought Tolerance-Promoting Bacterium for Bioremediation of Paraquat Pesticide Residues in Agriculture Soils. *Frontiers in microbiology*, 12, 604662.
 44. **Kapadia, C., Sayyed, R. Z., El Enshasy, H. A., Vaidya, H., Sharma, D., Patel, N., ... et Zuan, A. T. K.** (2021). Halotolerant microbial consortia for sustainable mitigation of salinity stress, growth promotion, and mineral uptake in tomato plants and soil nutrient enrichment. *Sustainability*, 13(15), 8369.
 45. **KHAN, A. R., IRFAN, M., GUL, B., et KHAN, M. A.** (2019). Nutrient uptake efficiency in diverse wheat genotypes. *Plant and Soil*, 435(1), 123-135.
 46. **KHAN, M. A., AHMAD, R., et LEE, D. J.** (2015). Integrated use of *Bacillus subtilis* and reduced nitrogen fertilization for enhanced wheat yield and protein content. *Agronomy Journal*, 107(4), 1452-1461.
 47. **KIM, J. Y., LEE, S. H., et PARK, C. S.** (2020a). Genetic and Physiological Basis of Lodging Resistance in Wheat. *Crop Science*, 60(4), 1203-1215.
 48. **KIM, J. Y., ZHANG, L., et THOMAS, R.** (2020b). Genetic and physiological basis of lodging resistance in wheat. *Crop Science*, 60(3), 345-360.
 49. **Kumar, P., et al.** (2017). Rhizobacteria enhance chlorophyll content and photosynthesis in wheat. **Journal of Plant Growth Regulation**, 36(3), 597-609.
 50. **KU, Y., XU, G., TIAN, X., XIE, H., YANG, X., CAO, C., et CHEN, Y.** (2018). Root colonization and growth promotion of soybean, wheat and Chinese cabbage by *Bacillus cereus* YL6. *PLOS ONE*, 13(11), e0200181.
 51. **LAL, R.** (2015). Soil health and sustainable agriculture. *Journal of Environmental Quality*, 44(2), 328–339.
 52. **LEE, H. J., KIM, J. K., et PARK, C. S.** (2023a). Developmental Biology of the Wheat Flower. *Planta*, 257(4), 89.
 53. **LEE, H. J., KIM, S., et ZHAO, Y.** (2023b). Developmental biology of the wheat flower. *Planta*, 258(4), 115-126.
 54. **LI, Q., ZHANG, X., LI, H., et WANG, J.** (2021). Bacillus-mediated modulation of gluten protein genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(9), 3021-3035.
 55. **LI, W., ZHANG, X., LI, H., DENG, X., et FENG, H.** (2017). Genetic control of root development in cereals. *Trends in Plant Science*, 22(3), 123-135.
 56. **LOGAN, N. A., BERGE, O., BISHOP, A. H., BUSSE, H. J., DE VOS, P., FRITZE, D., HEYNDRIKX, M., KAAMPFER, P., SALKINOJA-SALONEN, M. S., SELDIN, L., RABINOVITCH, L. et VENTOSA, A.** (2009). Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2114–2121.
 57. **LUGTENBERG, B., et KAMILOVA, F.** (2009a). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541–556.
 58. **LUGTENBERG, B., et KAMILOVA, F.** (2009b). Plant-rhizosphere interactions. *Anton Van Leeuwenhoek*, 96(1), 21–27.
 59. **MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT (MEA).** (2005). *Ecosystems and human well-being: synthesis*. Island Press.
 60. **MOORE, C. D., EVANS, D. E., et KING, R. A.** (2023). Metabolic Profiling of the Wheat Embryo During Germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(12), 4890-4902.
 61. **Mondal, S., Halder, S. K., Yadav, A. N., et Mondal, K. C.** (2020). Microbial consortium with multifunctional plant growth-promoting attributes: Future perspective in agriculture. *Advances in plant microbiome and sustainable agriculture: functional*

- annotation and future challenges, 219-258.
62. **MORITA, T., YAMAMOTO, K., et CHEN, Y.** (2010). Effect of bacterial metabolites on wheat gluten viscoelasticity. *Food Chemistry*, 122(3), 567-574.
 63. **MOULE, C.** (1971). *Céréales, Phytotechnie Spéciale II*. Paris : La maison rustique, 94 p.
 64. **MÜLLER, S., SCHMIDT, M., et WALTER, A.** (2021). Morphological and Anatomical Characterization of Wheat Leaves. *Annals of Botany*, 127(5), 721-734.
 65. **NEDJAH, I.** (2015). *Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb)* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba].
 66. **NGUYEN, T. T., PARK, J., et SINGH, D.** (2020a). Quantitative trait loci associated with spike morphology in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 133(7), 1899-1912.
 67. **NGUYEN, T. T., TRAN, T. T., et HOANG, T. H.** (2020b). Quantitative Trait Loci Associated with Spike Morphology in Wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 133(8), 2459-2472.
 68. **NICHOLSON, W. L., MUNAKATA, N., HORNCK, G., MELOSH, H. J., et SETLOW, P.** (2000). Spores with extremely high resistances to the multiple extreme stresses of outer space: results from the EXPOSE experiment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 548–572.
 69. **OCDE/FAO.** (2021). *Céréales : Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO de 2021 à 2030*. Organisation de Coopération et de Développement Economiques.
 70. **ONGENA, M., et JACQUES, P.** (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115–125.
 71. **OSBORNE, T. B.** (1924). *The vegetable proteins*. Longmans, Green and Company.
 72. **OTEINO, N., LOJÁN, P., SUÁREZ-ESTRELLA, F., PLAZA, C., VIERNA, J., et GUTIÉRREZ-MAÑERO, F. J.** (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation to enhance the rhizoremediation of heavy metals contaminated soils. A review. *Environmental Pollution*, 198, 101–118.
 73. **PATEL, R. K., SHARMA, N., et LI, X.** (2017). Leaf anatomy and photosynthetic efficiency in wheat. *Photosynthesis Research*, 132(2), 101-115.
 74. **PRETTY, J.** (2008). Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491), 447–465.
 75. **RAAIJMAKERS, J. M., LEEMAN, M., VAN OORSCHOT, V. M., VAN DER SLUIS, I., SCHIPPERS, B., et BAKKER, P. A. H. M.** (2002). Dose-response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish with *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 92(2), 136–142.
 76. **RAMESH, K., PATEL, N., et LIU, S.** (2018). Effect of *Bacillus* spp. on amino acid profile of wheat grain. *Journal of Agricultural Science*, 156(2), 210-218.
 77. **RANA, A., SAHARAN, B., JOSHI, M., PRASANNA, R., KUMAR, K., et NAIN, L.** (2011). Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. *Annals of Microbiology*, 61(4), 893–900.

78. **RAO, P., SMITH, T., et ZHANG, L.** (2019). Yield component analysis in modern wheat varieties. *Field Crops Research*, 236(4), 123-138.
79. **REGANOLD, J. P., et WACHTER, J. M.** (2016). Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature Plants*, 2(12), 1–8.
80. **RODRÍGUEZ, H., et FRAGA, R.** (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4-5), 319–339.
81. **RYAN, R. P., GERMAINE, K. J., FRANKS, A. H., DOWLING, D. N., et SHEEHAN, D.** (2009). Bacterial endophytes: a common strategy for enhancing plant growth and suppressing disease. *Microbial Biotechnology*, 2(1), 1–16.
82. **SAHARAN, B. S., et Nehra, V.** (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 27(5), 999–1012.
83. **SALEM, M. A., ISMAIL, M. A., RADWAN, K. H., et ABD-ELHALIM, H. M.** (2024). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria to enhance drought tolerance in Egyptian wheat (*Triticum aestivum*). *Sustainability*, 16(11), 4605.
84. **SASAKI, Y., SUZUKI, K., et TANAKA, A.** (2021). Impact of Soil Structure on Wheat Root Growth and Function. *Soil Science Society of America Journal*, 85(2), 456-468.
85. **SCHMIDT, U., MARTIN, A., et CHEN, L.** (2018). Genetic regulation of floret development in the wheat spike. *The Plant Journal*, 94(2), 245-258.
86. **SCHNEPF, E., CRICKMORE, N., VAN RIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J., FEITELSON, J., ... et WHITELEY, H. R.** (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 775–806.
87. **SHAH, S. A. A., et al.** (2013). Effect of PGPR on chlorophyll content and yield of wheat. **International Journal of Agriculture & Biology**, 15(4), 761–767.
88. **SHARMA, T. R., et al.** (2014). Impact of PGPR on wheat crop: growth, yield, and biochemical parameters. **Journal of Plant Nutrition**, 37(10), 1574-1584.
89. **SHARMA, P., SHARMA, A., SHARMA, M. K., et SHARMA, S. K.** (2016). *Bacillus circulans*-mediated zinc biofortification of wheat grains. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16(2), 245-255.
90. **SHEWRY, P. R., et TATHAM, A. S.** (1999). The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochemical Journal*, 340(Pt 2), 313–324.
91. **SIERRA G.A.** (1957). Simple method for the selection of lypolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates.
92. **SILVA, F. A., OLIVEIRA, C. M., et RAMOS, A. P.** (2023). Light Harvesting and Energy Conversion in Wheat Photosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 230, 112445.
93. **SINGH, R., KAUR, S., et SHARMA, A.** (2019). Impact of *Bacillus* inoculation on rheological properties of wheat flour. *Cereal Chemistry*, 96(4), 512-520.
94. **SPAEPEN, S., VANDERLEYDEN, J., et REMANS, R.** (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448.
95. **TEINA, N., et al.** (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation to enhance the rhizoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Environmental Pollution*, 198, 101-118.
96. **TILMAN, D., CASSMAN, K. G., MATSON, P. A., NAYLOR, R., et POLASKY, S.** (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671–677.
97. **VAN LOON, L. C., BAKKER, P. A. H. M., et PIETERSE, C. M. J.** (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 453–483.
98. **Vassilev, N., et al.** (2006). Plant growth-promoting bacteria and their potential for use in crop production. **Plant and Soil**, 287(1-2), 1-32.
99. **VESSEY, J. K.** (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and*

- Soil*, 255(2), 571–586.
100. **VIMAL, S. R., GUPTA, J., et SINGH, J. S.** (2018). Effect of salt tolerant *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth under soil salinity: A comparative study. *Microbiology Research*, 9(1), Article 7462.
 101. **WANG, X., LI, Y., ZHANG, J., et WANG, Z.** (2018). Biomechanics of the wheat stem and its contribution to lodging resistance. *Journal of Biomechanics*, 72(2), 145-153.
 102. **WANG, Y., ZHANG, L., et SUN, Q.** (2020). High-Resolution Imaging of Wheat Grain Pericarp Layers. *Journal of Microscopy*, 278(3), 123-135.
 103. **WATT, M., KIRKEGAARD, J. A., et PASSION, C.** (2020). Advances in Understanding Root System Development in Wheat. *Plant Physiology*, 182(2), 450-465.
 104. **WELCH, R. M., et GRAHAM, R. D.** (2004). Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 353–364.
 105. **WHITE, L. M., BIRD, A. R., et JENKINS, C. L.** (2020). Composition and Functional Properties of Wheat Grain Outer Layers. *Cereal Chemistry*, 97(5), 789-801.
 106. **WIESER, H.** (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115–119.
 107. **ZHAO, H., LI, Y., et ZHANG, Q.** (2022). Environmental and Genetic Control of Plant Height in Wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(3), 1450-1462.
 108. **ZHANG, Y., LI, Y., CHEN, Y., et LIU, X.** (2020). *Bacillus subtilis* inoculation improves nitrogen uptake and grain protein content in wheat. *Plant and Soil*, 449(1-2), 287-301.

Site internet:

- **CHEFBRASSART.WORDPRESS.COM.** (s. d.). Le blé. [En ligne]. Disponible sur : <https://chefbrassart.wordpress.com/wp-content/uploads/2016/02/le-blc3a9.pdf> [Consulté le 10 juin 2025].

Annexes

Annexe 1: Matériel utilisé

➤ **Appareillage**

- Agitateur- plaque-chauffante.
- Ph mètre.
- Etuve.
- Spectrophotomètre.
- Vortex.
- Bain marie.
- Microscope optique.
- Bec Bunsen.
- Four Pasteur.
- Autoclave.
- Balance.

➤ **Verrerie**

- Boite de Petrie en plastique.
- Pipette Pasteur.
- Anse de platine.
- Lames et lamelles.
- Tubes à essais.
- Pincés.
- Micro pipette.
- Flacons en verre de :200 ml et 250 ml.
- Becher de : 100 ml, 250 ml et 500 ml.

Annexe02: Composition des milieux de culture

Gélose nutritive	
L'eau distillée	2L
Gélose poudre	56g

Bouillon nutritive	
L'eau distillée	1L
Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	8g
Glucose	1g

Viande-Foie (VF)	
L'eau distillée	1L
Viande-Foie poudre	34g

Protéase	
Gélose nutritive	100 ml
Lait écrémé	10 ml

Cellulase	
Gélose nutritive	100ml
Cellulose	1g

Cellulase	
Gélose nutritive	100ml
Cellulose	1g

Chitine -Agar	
Extrait de sol	100ml
Chitine	1g
Agar	1,5g

Mueller Hinton	
MH	31,5g
Agar	30g
Eau distillée	1,5L

Eau physiologie	
Nacl	9g
Eau distillée	1L

Le cithinase	
Gélose nutritive	100ml
Jaune d'œuf	1

Le gélatinasse	
Peptone	1g
Extrait de viande	0,4g
Nacl	0,25g
Gélatine	12g
L'eau distille	100ml

PDA	
Pomme de terre	200g
Eau distillée	1L
Agar	20g
Glucose	20g

Annexe 03: Les produits et les réactifs utilisés.

➤ **Les produits**

- Ethanol.
- Acétone.

➤ **Les réactifs**

- Violet de gentiane au cristal.
- Lugol.
- Fuchsine.
- Alcool.
- Disque oxydase.
- Peroxyde d'hydrogène.
- Bleu de méthylène.
- Réactif de Kovacs.
- Réactif de vert de malachite.
- Réactif Vp1 et Vp2.
- Réactif RM.
- Réactif NIT I et NIT II.
- Huile de paraffine.
- Huile à immersion.