



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

### MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

### THEME

## Effet des déchets chitineux sur la microflore de la rhizosphère du blé

Réalisé par:

KECHICHE Roufaida

BEKKA Asma

SAHNOUNE Noura

Soutenu le 30/06/2024 devant le jury composé de :

<b>Président(e)</b>	Mme SAADI W	MCA	U. Khemis Miliana
<b>Promoteur</b>	Mr AIZI D	MCB	U. Khemis Miliana
<b>Examineur</b>	Mr BOUSSOUBEL A	MCB	U. Khemis Miliana

# *Remerciement*

*Louange soit à Dieu, qui nous éclaire sur le chemin de la science et de la connaissance et nous a aidé à accomplir ce devoir et nous accorder pour accomplir ce travail.*

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu, qui nous a donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre promoteur consultant, **Mr Aizi Djamel Eddine** de nous avoir orienter tout au long de ce travail, et pour ses explications, remarques et conseils et qui nous ont été précieux pour la réalisation de ce travail.*

*Nous présentons nous chaleureux remerciements au **Mme Saadi W**; président de jury et **Mr Boussoubel A**; membre de jury d'avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions également chaque enseignant qui nous a enseigné et tous ceux qui nous ont aidé et contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimerons également nos remerciements et notre respect à l'ingénieure **Mme Wassila** pour avoir pris la peine de sacrifier son temps précieux afin de nous aider et de nous prodiguer des conseils pour mener à bien.*

# *Dédicace*



*À mes chers parents : Sources de mes joies, secrets de ma force, Vous êtes toujours le modèle, Papa, par ta détermination, ta force et ton honnêteté. Maman, par ta bonté, ta patience et ton dévouement envers nous. Merci pour tous vos sacrifices afin que vos enfants grandissent et prospèrent, Merci de travailler sans relâche malgré les aléas de la vie, Merci d'être tout simplement mes parents, C'est à vous que je dois cette réussite, Et je suis fière de vous l'offrir.*

*À mes frères et sœurs, Nesrine ,Rabia, Hicham, Mohamed, Salah Eddin, Hanane, Je suis profondément reconnaissant pour leur encouragement et leur gentillesse, et je leur témoigne tout mon respect.*

*À mon trinôme, Farida, et à Roufaïda qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

*À toute ma famille mes amis et à tout ce que j'aime.*

*Assma*

# *Dédicace*



*Avant tout chose, je remercie Dieu, Le Tout Puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À la plus forte et patiente femme au monde ma très chère maman **Aïcha** pour ses grands sacrifices et qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. C'est grâce à elle que je suis arrivée à ce stade et à mon très cher tendre père **Tayeb** pour tout l'amour qu'il m'a donné... Si je dois consacrer tout ma vie pour eux je ne peux pas rendre ce qu'ils m'ont fait, qu'ALLAH les garde et leurs accorde une longue vie.*

*À Mes chers frères **Djemal Eddine** et **Abdelwahab** et Mes soeurs **Hadil** et **Chaïma**.*

*À mon fiancé **Karim** Pour le soutien moral.*

*À Mes oncles, Ma tante **Fatima***

*À mes amies, **Nour El Houda**, **Rabab**, **Bouthaina** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

*À mes trinômes **Asma** et **Noura** et leurs familles*

*À tous mes collègues de la promotion de 2ème année Master Biotechnologie,  
Spécialité «Biotechnologie microbienne »*

*À tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et  
Leurs compétences, la réalisation de ce mémoire.*

**Roufaïda**

# *Dédicace*



*À mes chers parents : Sources de mes joies, secrets de ma force,  
Vous êtes toujours le modèle, Papa, par ta détermination, ta force et ton honnêteté,  
Maman, par ta bonté, ta patience et ton dévouement envers nous.  
Merci pour tous vos sacrifices afin que vos enfants grandissent et prospèrent,  
Merci de travailler sans relâche malgré les aléas de la vie,  
Merci d'être tout simplement mes parents,  
C'est à vous que je dois cette réussite,  
Et je suis fière de vous l'offrir.*

*À mes frères et sœurs, qui ont été mes complices, mes confidents et mes meilleurs  
supporters. Votre présence a été un réconfort constant.*

*À mes meilleurs amies **Hakima, wafaa, Amina, Linda, Sakina, Rabab.***

*À mon trinôme, **Assma**, et à **Roufaïda** qui ont contribué à la réalisation de ce  
modeste travail.*

*À toute ma famille, mes amis et à tout ce que j'aime.*

*Farida*

## Résumé

De nombreuses entreprises exploitent actuellement les déchets de chitine pour produire deux sous-produits à action différentes : la chitine et le chitosane, qui sont utilisés dans diverses applications biotechnologiques, en particulier dans le domaine de l'agriculture. Les déchets chitineux sont à la fois un engrais biologique et un biopesticide, puisqu'ils favorisent le développement des microorganismes connues sous le nom de (BRFC), qui sont des bactéries promotrices de la croissance des plantes. Elles améliorent non seulement la qualité des nutriments présents dans la zone racinaire, mais assurent également la protection des plantes contre les agents phytopathogènes.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet des résidus chitineux sur la dynamique microbienne de la rhizosphère du blé de la variété de « Oued Bard », en mélangeant le sol dédié à la céréaliculture (blé) avec des résidus chitineux à différentes concentrations, dont le suivi a été effectué durant une période qui s'étale sur 20 jours d'observation. Les résultats obtenus ont montré un effet significatif à la fois sur la composition de la microflore et ~~au même temps~~ sur la variation du pH du sol. Les dix premiers jours de traitement ont révélé une augmentation du nombre de bactéries et l'absence totale de champignons, qu'ils soient saprophytes ou pathogènes pour le blé. En revanche, les résultats des cinq derniers jours ont montré l'apparition BRFC, notamment le genre *Bacillus*, qui est une bactérie fixatrice d'azote avec un pouvoir antagoniste contre les agents.... En parallèle, l'influence des déchets chitineux sur la qualité du blé a été évaluée en termes de germination des graines de blé et par rapport aussi à la teneur en chlorophylle des feuilles de blé.

**Mots clés :** Résidus chitineux, blé, BRFC, bio-engrais, bio-pesticide.

تستغل العديد من الشركات حاليًا نفايات الكيتين لإنتاج منتجين فرعيين لهما تأثيرات مختلفة؛ الكيتين والكيروزان، واللذين يُستخدمان في تطبيقات بيولوجية متنوعة، خاصة في مجال الزراعة. تُعتبر النفايات الكيتينية كلاً من سماد بيولوجي ومبيد حشري بيولوجي، حيث إنها تشجع تطور الكائنات الحية الدقيقة المعروفة باسم (BRFC)، وهي بكتيريا تعزز نمو النباتات. فهي لا تحسن فقط جودة العناصر الغذائية في منطقة الجذور، بل تضمن أيضاً حماية النباتات من مسببات الأمراض النباتية.

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير بقايا الكيتين على الديناميكية الميكروبية في جذور القمح من صنف "وادي بارد"، من خلال خلط التربة المخصصة لزراعة الحبوب (القمح) ببقايا الكيتين بتركيزات مختلفة، وتمت متابعة هذا الخليط على مدار فترة تمتد 20 يوماً من المراقبة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تأثيراً كبيراً على كل من تركيب الميكروفلورا وعلى تغيير درجة حموضة التربة في نفس الوقت. أظهرت الأيام العشرة الأولى من المعالجة زيادة في عدد البكتيريا وغياب تام للفطريات، سواء كانت رمية أو ممرضة للقمح. على العكس، أظهرت نتائج الأيام الخمسة الأخيرة ظهور بكتيريا BRFC، وخاصة جنس *Bacillus*، وهي بكتيريا مثبتة للنيتروجين ولها قدرة مضادة ضد العوامل الممرضة. بالتوازي، تم تقييم تأثير النفايات الكيتينية على جودة القمح من حيث إنبات بذور القمح ومن حيث محتوى الكلوروفيل في أوراق القمح.

**الكلمات المفتاحية:** بقايا الكيتين، القمح، BRFC، السماد البيولوجي، المبيد الحيوي.

## **Abstract**

Many companies are currently utilizing chitin waste to produce two by-products with different actions; chitin and chitosan, which are used in various biotechnological applications, particularly in agriculture. Chitinous waste acts as both a biological fertilizer and a biopesticide, as it promotes the development of microorganisms known as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). These bacteria not only enhance the quality of nutrients in the root zone but also ensure the protection of plants against phytopathogens.

The objective of this work is to study the effect of chitin residues on the microbial dynamics of the wheat rhizosphere of the "Oued Bard" variety by mixing soil dedicated to cereal cultivation (wheat) with chitin residues at different concentrations. This observation was carried out over a period of 20 days. The obtained results showed a significant effect on both the composition of the microflora and the variation of the soil pH. The first ten days of treatment revealed an increase in the number of bacteria and the total absence of fungi, whether saprophytic or pathogenic to wheat. In contrast, the results of the last five days showed the appearance of PGPR, particularly the *Bacillus* genus, which is a nitrogen-fixing bacterium with antagonistic power against pathogens. Additionally, the influence of chitin waste on wheat quality was evaluated in terms of seed germination and chlorophyll content in wheat leaves.

**Keywords:** Chitin residues, wheat, PGPR, bio-fertilizer, bio-pesticide.

## Liste des figures

Figure 1:Structure de la chitine.....	3
Figure 2:Structure chimique du chitosane. ....	6
Figure 3:Mécanismes d'action des bactéries solubilisant les phosphates. ....	14
Figure 4:Coupe longitudinale présentant les constituants du grain de blé dur .....	20
Figure 5:Les feuilles de blé infecté.....	31
Figure 6: Opération de prétraitement des carapaces de crevettes. ....	32
Figure 7:Concentration des mélanges déchets chitineux/sol dans chaque pot . ....	33
Figure 8: Méthode d'extraction de chitine .....	35
Figure 10:Diversité microbienne de Témoin.....	38
Figure 11:Fiche des résultats de galerie API 20 E.....	40
Figure 12:Variation du pH du sol selon les concentration des mélanges(sol/ déchets chitineux).....	42
Figure 13: Aspect de bactérie <i>Bacillus</i> dans le milieu CA. ....	43
Figure 14:Présence des genres <i>Bacillus</i> et <i>Pseudomonas</i> du jour 15 au jour20. ....	44
Figure 15:Effet biofertilisant des déchets chitineux:(a) sol non traité,(b) sol traité par 1.8 g des déchets chitineux,(c) sol traité par 0.6 g des déchets chitineux.....	45
Figure 16:Effet biofertilisant des déchets chitineux (4.2 g).....	46
Figure 9:Observation microscopique de champignon " <i>Alternaria</i> " .....	46
Figure 17: Test d'antagonisme. ....	47

## Liste des tableaux

Tableau 1:Source de chitine.....	4
Tableau 2:Traitement des eaux usées.....	5
Tableau 3:Les applications de la chitine dans le domaine biomédicales.....	6
Tableau 4:Domaines d'applications de chitosane.....	7
Tableau 5:Classification botanique de blé.....	19
Tableau 6:Composition globale de graine.....	21
Tableau 7:Les principales maladies du blé .....	21
Tableau 8 : La différence entre les fertilisants chimiques et les biofertilisants.....	26
Tableau 9:Matériel biologique.....	29
Tableau 10 :Matériel végétal.....	29
Tableau 11: Caractéristiques du sol utilisé.....	30
Tableau 12: La composition chimique des milieux de culture utilisés.....	30
Tableau 13: Concentration des mélanges déchets chitineux/sol dans chaque pot.....	33
Tableau 14: Aspect macroscopique des différents isolats bactériens.....	38
Tableau 15:Aspect Macroscopique de isolat de champignon.....	39
Tableau 16:Aspect microscopique des différents isolats bactériens.....	39
Tableau 17: Aspect macroscopique de isolat de champignon.....	40
Tableau 18: Evolution de microflore entre 5 et 10 et 15 jour.....	41
Tableau 19:Résultats de test de chlorophylle et de germination et de la croissance végétale.....	45

## Liste des abbreviations.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

RFPCP : Rhizobactéries Favorisent Croissance Plantes.

ACC :1-Amino-Cyclopropane-1-Carboxylate.

ISR : Induite Systémique Résistances.

N<sub>2</sub> :Azote Atmosphérique.

AIA : Acide Indole Acétique.

PSB: Les Bactéries Solubilisatrices de Phosphate.

P: Phosphore.

TDA :Tryptophan Désaminase.

VP: Voges-Proskauer.

HN: Cyanure d'Hydrogène.

CA: Chitine –Agar.

PDA: Potato Dextrose Agar.

GN: Gélose Nutritive.

BN : Bouillon Nutritive.

pH : Potential d'Hydrogène.

Na Cl : Chlorure de Soduim.

Kcl : Chlorure de Potassuim.

B : Bactérie.

Ch : Champignon.

# Table des matières :

Remerciement

Dédicace

ملخص

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 1 :déchets chitineux.

<b>I.1.Chitine.....</b>	<b>3</b>
I.1.1 Définition .....	3
I.1.2 Structure de chitine .....	3
I.1.3 Historique de la chitine .....	3
I.1.4 Source de la chitine .....	4
I.1.5 Production mondiale .....	4
I.1.6 Utilisation de chitine .....	5
I.1.6.1 Les applications agricoles .....	5
I.1.6.2 Les applications cosmétiques .....	5
I.1.6.3 Traitement des eaux usées .....	5
I.1.6.4 Le domaine agroalimentaire .....	5
I.1.6.5 Les domaines biomédicales .....	6
<b>I.2.Chitosane .....</b>	<b>6</b>
I.2.1 Définition Structure de la chitosane .....	6

I.2.2 Historique de chitosane .....	6
I.2.3 Production mondiale de chitosane :.....	7
I.2.4 Domaines d’application de chitosane .....	7
<b>I.3.Chitinase :.....</b>	<b>8</b>
I.3.1 Définition :.....	8
I.3.2 Utilisation de chitinase .....	8
I.3.2.1 Gestion des déchets .....	8
I.3.2.2 Agents de bio contrôle .....	8
I.3.2.3 Application médicale .....	8
I.3.2.4 Applications diverses .....	8
<b>Chapitre 2 : Rhizobacteries favorisant la croissance des plantes.....</b>	<b>10</b>
II.1.Définition .....	11
II.2.Historique .....	11
II.3. Différents genres des PGPR .....	11
II.3.1 <i>Azospirillum</i> : .....	11
II.3.2 <i>Rhizobia</i> : .....	12
II.3.3 <i>Bacillus</i> : .....	12
II.3.4 <i>Pseudomonades</i> : .....	12
V.2.Mode d’action de PGPR.....	13
II.4.1 Mode d’action direct . .....	13
II.4.1.1 Fixation de l’azote .....	13
II.4.1.2 Solubilisation de phosphore .....	13
II.4.1.3 Production de phyto hormone .....	14
II.4.2 Mode d’action indirect.....	14
II.4.2.1 Production des antibiotiques .....	14

II.4.2.2	Enzymes lytiques .....	14
II.4.2.3	Compétition dans la rhizosphère .....	16
II.4.2.4	Résistances systémique induite(ISR) .....	16
II.5.	Caractéristique d'une PGPR idéal.....	16
II.6	Effet des PGPR sur la croissance végétale .....	17
II.6.1	Rendement .....	17
II.6.2	Enracinement des boutures .....	17
II.6.3	Absorption des nutriments .....	17
<b>Chapitre 3 : Blé.....</b>	<b>19</b>	
III.1.	Définition.....	19
III.2.	Origine .....	19
III.3.	Classification botanique : .....	19
III.4.	Structure et composition de la graine de ble: .....	19
III.4.1	Structure histologique du grain de blé dur: .....	19
III.4.1.1	Les enveloppes:.....	20
III.4.1.2	L'albumen :.....	20
III.4.1.3	L'embryon :.....	20
III.4.2	Composition globale du grain :.....	21
III.5	Les principales maladies du blé :.....	21
<b>Chapitre 4 : Bio pesticides et le bio engrais.....</b>	<b>23</b>	
IV.1	Les biopesticides :.....	23
IV.1.1	Définition :.....	23
IV.1.2	Classification des biopesticides :.....	23
IV.1.2.1	Biopesticides d'origine microbienne :.....	23
IV.1.2.1.1	Les bactéries :.....	23

IV.1.2.1.2 Les virus :.....	23
IV.1.2.1.3 Les Champignons :.....	24
IV.1.2.2 Biopesticides d'origine végétale :.....	24
IV.1.2.3 Biopesticides d'origine animaux :.....	24
IV.1.3 Avantages et inconvénients des biopesticides :.....	25
IV.1.3.1 Avantages :.....	25
IV.1.3.2 Les inconvénients :.....	25
<b>IV.2 Les bioengrais (les biofertilisant) :.....</b>	<b>25</b>
IV.2.1 Définition .....	25
IV.2.2 Comparaison entre les engrais chimiques et les biofertilisant.....	26
IV.2.3 Les intérêts des biofertilisants.....	27
IV.2.4 Les inconvénients des biofertilisants.....	27
<b>Chapitre 5 : Matériels et Méthodes.....</b>	<b>29</b>
V.1 Matériels.....	29
V.1.1 Matériel utilisé.....	29
V.1.2 Matériel biologique .....	29
V.1.3 Matériel végétal.....	29
V.1.4 Milieux de culture .....	30
V.1.5 Matériel fongique .....	31
<b>V.2 Méthodes :.....</b>	<b>32</b>
V.2.1 Prétraitement des carapaces des crevettes:.....	32
V.2.2 Effet biofertilisant des déchets chitineux.....	33
V.2.3 Dilution de l'échantillon.....	33
V.2.4 Isolement des microorganismes.....	33
V.2.5 Etude macroscopique.....	33

V.2.6	Etude microscopique.....	33
V.2.7	Test de chlorophylle.....	33
V.2.8	Isolement et purification de l'isolat.....	34
V.2.9	Identification biochimique de l'isolat par la galerie API 20 E.....	34
V.2.10	Extraction de chitine.....	35
V.2.11.	Activités chitinolytique.....	35
V.2.12.	Test d'antagonisme .....	35

**Chapitre 6 :Résultats et discussion..... 38**

VI.1.	Isolement des microorganismes.....	38
VI.1.1.	Etude macroscopique et microscopique de témoin.....	38
VI.1.2.	Etude macroscopique des différents isolats.....	38
VI.1.3.	Etude microscopique des différents isolats.....	39
VI.2.	galerie API 20 E.....	40
VI.3.	Effets biofertilisant des déchets chitineux de 5eme jours aux 15 eme jours.....	40
VI.4.	Activités chitinolytique.....	43
VI.5.	effet biofertilisant des déchets chitineux du 15eme aux 20 eme jours.....	43
VI.6.	test d'antagonisme.....	46

**Conclusion**

**Références Bibliographiques**

**Annexe**

# INTRODUCTION

# INTRODUCTION :

La croissance démographique rapide a conduit à une demande accrue de nourriture et donc à une utilisation accrue d'engrais chimiques pour parvenir à des rendements plus élevés des cultures et d'autres produits agricoles (**Mosalaei rad et al., 2022**). La consommation mondiale d'engrais et de pesticides chimiques continue à augmenter dans les pays développés. Selon (**Dupont, 2023**) environ 120 millions de tonnes d'engrais chimiques sont utilisées annuellement, et comme la demi-vie de ces pesticides dans l'environnement dépasse souvent 20 ans, ils se sont répandus d'une manière très inquiétante dans la biosphère depuis leur découverte (**Génération futures, 2021**).

L'utilisation intensive d'engrais chimiques et l'utilisation systématique des pesticides ont considérablement augmenté le rendement agricole. Mais malheureusement, cette hausse de productivité s'est accompagnée d'une augmentation de la pollution environnementale, notamment de l'eau, puisque des concentrations très élevées, dépassant même les limites maximales ont été découvertes dans les puits d'eau à travers le monde entier (**Mosalaei Rad et al., 2022**). Les engrais chimiques qui sont utilisés dans l'agriculture ne sont pas tous absorbés par les racines des plantes, une partie est soit accumulée dans les sols, soit elle s'infiltre dans les nappes souterraines (**Djehiche, guergouri, 2020**). Un excédent d'azote avec un excédent de phosphore provoque une eutrophisation, une asphyxie des milieux aquatiques.

Les engrais chimiques peuvent être avantageusement remplacés par des engrais organiques d'origines animales ou végétales, puisque ils ont l'avantage de renforcer la vie et la structure des sols et d'atténuer notamment les risques d'érosion (**Djehiche et Guergouri, 2020**). L'agriculture durable vise à lutter contre les espèces nuisibles sans avoir recours à des pesticides ; produits toxiques nocifs pour la santé humaine et l'environnement naturel (**Belén, 2023**).

Lavoisier dans son théorème rapporte que dans la nature : « **Rien ne se perd, rien ne se crée, tout se transforme** ». De ce point de vue, nous avons initié une étude sur la valorisation des résidus de chitine dans la fertilisation du sol destiné à la céréaliculture ainsi que dans la lutte biologique.

# *Chapitre 1: Les déchets chitineux.*

### Chapitre 1 : Déchets chitineux.

#### I.1. Chitine :

##### I.1.1. Définition et structure de chitine :

La chitine est le biopolymère le plus abondant dans la nature après la cellulose (Hassainia, 2018), c'est le composant principal des exosquelettes, des arthropodes comme les crustacés et les insectes et des parois cellulaires de champignons (Arbia, 2014). Sur le plan biochimique, la chitine est un polymère composé d'unités saccharidiques de type N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) liées en  $\beta(1-4)$  (Boufas, 2021). La chitine est insoluble dans de nombreux solvants, mais en présence des milieux aqueux, ce produit une phénomène de gonflement de la molécule (Bornet et Teissedre, 2005). Elle est biodégradable en présence de l'enzyme de chitinase. La Chitine possède plusieurs propriétés, notamment, des propriétés thérapeutiques, telles que le pouvoir cicatrisant et immunostimulant (Bornet et Teissedre, 2005).

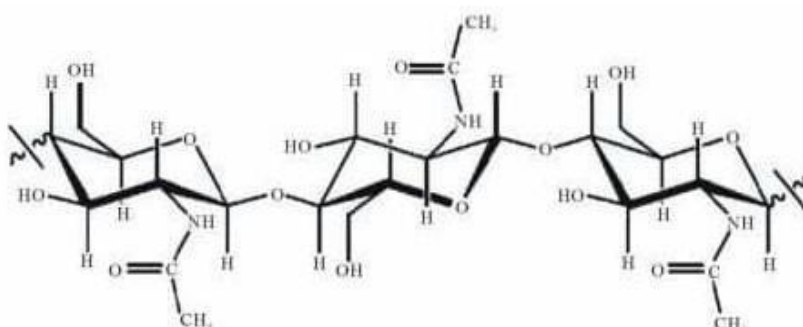


Figure 1: Structure de la chitine (Arbia, 2014).

##### I.1.2. Historique de la chitine :

La chitine a été découverte en 1811 par un naturaliste français nommé Nancy Henri Braconnot, qui a isolé des résidus impurs des parois cellulaires des champignons, et elle les a appelés «fongine» (Crini et al., 2009).

En 1823, en étudiant la cuticule des coléoptères, Odier isole le même polymère et le nomme «chitine» du mot grec « χιτών » signifiant tunique (manteau). En 1843, Lassen découvrit la présence d'azote dans la chitine, alors qu'il travaillait sur l'exosquelette du papillon du ver à soie, *Bombix morii*. Par la suite, Lederhose en 1879 a identifié la glucosamine comme structure de la chitine, cette même constatation a été faite par Gilson en 1894 (Hassainia, 2018).

La production de chitine a commencé en 1920, mais la structure de ces biopolymères n'a été identifiée que 50 ans plus tard grâce à la cristallographie et à la spectroscopie infrarouge. L'intérêt pour ce biopolymère et ses dérivés comme le chitosane et les chito-oligopolysaccharides s'est accru ces dernières années en raison de leurs propriétés biologiques et physico-chimiques. La recherche sur

## Partie bibliographique

la chitine a réellement commencé dans les années 30, et plus récemment à partir des années 70 (Arbia, 2014).

### I.1.3. Source de la chitine :

Dans le règne animal, la chitine est un composant structurel important des téguments de certains invertébrés. Il existe uniquement sous forme de complexes contenant des protéines et des minéraux. On le trouve principalement dans les coquilles des mollusques, dans les cuticules des insectes et dans les coquilles des crustacés (Zeroual et Kellali, 2019). La quantité de chitine dans ces déchets peut varier de 20 % en poids sec pour certaines carcasses de crabe jusqu'à 40 % pour les crevettes brunes (Ballouti et Hajdjilani, 2018). La chitine se retrouve dans les parois de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité cellulaire, il contribue au contrôle de la pression osmotique (Zeroual et Kellali, 2019).

**Tableau 1:** Source de chitine.

Végétaux inférieurs	Champignon	Annélides	Mollusques	Arthropodes		
				Crustacés	Arachnides	Insectes
Algues	Levures	Lombrique	Seiche	Homards	Scorpions	Fourmis
Lichen	Ascomycètes (classe)	Sangsue	pieuvre	Crabes	araignées	Coléoptères
	Pénicillium			Crevettes		
	Blastocladiacés (famille)			Langoustines		
	chytridiacés			krill		

### I.1.4. Production mondiale :

La chitine est extraite à partir de déchets de crustacés produits par les industries de conserves alimentaires. En fait, ces industries sont nombreuses au Japon et aux États-Unis, et les stocks de coquilles sont importants, notamment ceux du grand crabe arctique *Paralithodes*, le « crabe royal ». La production mondiale de ces déchets est estimée à environ 500 000 tonnes/an (Jeuniaux *et al.*, 1990). Cependant, l'utilisation de ce type de matière première n'est pas sans inconvénients : plusieurs auteurs ont constaté qu'il était difficile de contrôler les propriétés et les caractéristiques du chitosane produit à partir de ces déchets, qui sont hétérogènes et de qualité variable. De plus, ils sont très chargés en sels minéraux (CaCO<sub>3</sub> : jusqu'à 80% du poids sec) (Jeuniaux *et al.*, 1990).

## Partie bibliographique

### I.1.5. Utilisation de chitine :

#### I.1.5.1. Les applications agricoles :

La chitine est capable de stimuler les mécanismes de défense des plantes contre les infections et les attaques parasitaires à très faibles doses (Hassainia, 2018), l'ajout de chitine a plusieurs fonctions, notamment celle de retenir les nutriments dans le sol et de contribuer au cycle de l'azote. En fait, la chitine, en particulier, pourrait devenir à l'avenir un engrais et un pesticide naturel. L'utilisation de biopesticides se développe et représente une alternative prometteuse (Arbia, 2014).

#### I.1.5.2. Les applications cosmétiques :

La chitine peut être utilisée comme agent hydratant dans divers produits tels que les vernis à ongles, les lotions pour le corps ou les crèmes pour les mains (Rym, 2005).

#### I.1.5.3. Traitement des eaux usées :

Tableau 2: Traitement des eaux usées (Arabia 2014).

Application	Utilisation spécifique
Traitement des eaux usées	<ul style="list-style-type: none"><li>-Élimination /récupération des ions métallique : cuivre(<math>\text{Cr}^{2+}</math>), chrome(<math>\text{Cr}^{+6}</math>), cadmuim, plomb(<math>\text{pb}^{2+}</math>), Nickel(<math>\text{Ni}^{2+}</math>), mercure,fer,argent,zinc, cobalt,et l'arsenic.</li><li>-Élimination et fixation des colorants.</li><li>-Traitement et déshydratation des boues.</li><li>-Dénitrification biologique.</li></ul>

#### I.1.5.4. Le domaine agroalimentaire :

Dans l'industrie agroalimentaire, la chitine est utilisée d'une part pour désacidifier les extraits de café et les jus de fruits ou de légumes, et d'autre part pour conserver les aliments grâce à sa capacité à immobiliser les cellules microbiennes ou fongiques. Grâce à sa propriété coagulante, la chitine peut être utilisée comme agent stabilisant de cellules microbiennes, animales ou végétales, d'enzymes, etc., par exemple pour filtrer les jus de fruits ou éliminer les composés phénoliques du vin (Hassainia, 2018).

## Partie bibliographique

### I.1.5.5. Les domaines biomédicales :

Tableau 3: Les applications de la chitine dans le domaine biomédicales(Arabia 2014).

Application	Utilisation spécifique
Biomédicale	<ul style="list-style-type: none"><li>● Biomédecine, brûlure et cicatrisation</li><li>● Vecteur de médicament et de gène</li><li>● Peau artificielle, pharmacie</li><li>● Propriétés adjuvant (augmentation de l'immunité spécifique) et stimule la production de cytokine</li><li>● En ophtalmologie comme collyre</li><li>● Régénération des nerfs</li><li>● Agent thérapeutique pour les tumeurs</li></ul>

## I.2. Chitosane :

### I.2.1. Définition et structure de la chitosane :

Le chitosane est un matériau biodégradable d'origine naturelle obtenu par la désacétylation de la chitine présente dans l'exosquelette des crustacés (Truang *et al.*, 2007), est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy-B-D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy-B-D-glucopyranose liés en  $\beta$  (1-4) (Boufas, 2021).

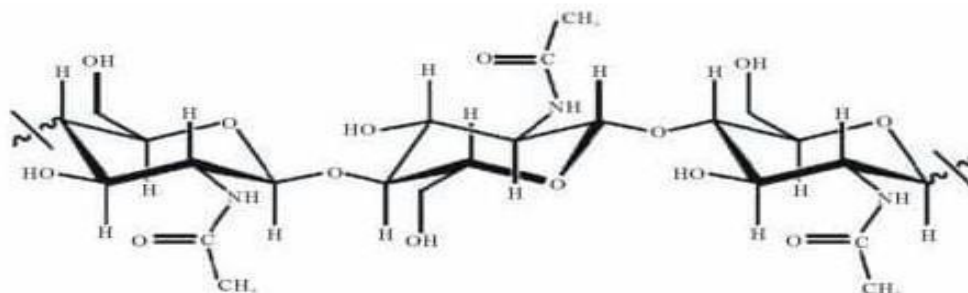


Figure 2: Structure chimique du chitosane (Benzerrouk, 2013).

### I.2.2. Historique du chitosane :

Le chitosane a été isolé et identifié pour la première fois sous le nom de « chitine modifiée » en 1859 par Roget qui, après avoir soumis la chitine à un traitement primaire par une solution concentrée d'hydroxyde de potassium, a constaté que le produit ainsi obtenu avait des propriétés physiques et chimiques complètement différentes de celles du chitine. Il a fallu attendre le siècle suivant (1934)

## Partie bibliographique

pour que le procédé de fabrication du chitosane à partir de son origine naturelle, la chitine, soit décrit par Rigby dans un brevet (Mansoura, 2007) .

### I.2.3. Production mondiale du chitosane :

Le marché mondial du chitosane est segmenté en fonction de trois paramètres (The insight partners ,2023) :

- a) **la qualité** :Le segment de la qualité industrielle représentait une part importante ; qualité industrielle, qualité alimentaire et qualité pharmaceutique.
- b) **la source** : Crevettes, insectes, crabes et autres. Les crabes et les crevettes des grands fonds sont les matières premières utilisées pour produire du chitosane synthétique.
- c) **Les applications** : Traitement de l'eau, aliments et boissons, biomédical, pharmaceutique, cosmétique et autres.

### I.2.4. Domaines d'application de chitosane :

Tableau 4:Domaines d'applications du chitosane(Essabti, 2018).

Domaines D'application	
<b>Agriculture</b>	Enrobage des semences Alimentation des volailles fertilisant
<b>Alimentaire</b>	Additifs alimentaires(liant,émulsifiant,stabilisant...) Clarification des boissons Anticoagulant
<b>Biomédical</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>● Agent hémostatique</li><li>● Bactériostatique,spermicide</li><li>● Lentille cristalline(ophtalmologie)</li><li>● Membrane pour dialyse</li><li>● Capsules pour les relargage des médicaments</li><li>● Réduction du taux de cholestérol</li><li>● Peaux artificielles</li><li>● Pansements</li><li>● Accélération de la cicatrisation des blessures</li><li>● Fils de suture chirurgicaux biorésorbables</li></ul>

### I.3. Chitinase :

#### I.3.1. Définition :

Les chitinases sont des protéines de stress (protéine PR-3) qui ont une activité hydrolytique sur la chitine présente dans la paroi de la plupart des champignons pathogènes. Plus précisément, les

## Partie bibliographique

---

enzymes chitinase hydrolysent les liaisons  $\beta$ -(1-4) des résidus N-acétyl-B-D-glucosaminide présents dans la chitine et la chitodextrine. Chez les plantes, les chitinases jouent un rôle important dans le mécanisme de défense contre les organismes contenant de la chitine, tels que les champignons pathogènes (Bouhalit et Gouadjelia, 2015).

### I.3.2. Utilisation de chitinase :

#### I.3.2.1. Gestion des déchets :

Les chitinases peuvent être utilisées pour convertir la biomasse de chitine, c'est-à-dire les déchets chitineux provenant d'organismes marins, en composants dépolymérisés utiles plus simples, réduisant ainsi la pollution de l'eau. Les chitooligomères obtenus par l'action des chitinases ont un large éventail d'applications biotechnologiques dans les industries biochimiques, alimentaires et chimiques diverses. La chitinase peut également être utilisée pour convertir les déchets de chitine en biofertilisants (djebbari et Guemas, 2019) .

#### I.3.2.2. Agents de biocontrôle :

La surexpression d'une combinaison de différents types de chitinases dans une plante génétiquement modifiée peut aider à combattre les champignons pathogènes, et la chitinase peut également être utilisée directement comme biocide contre divers champignons et insectes qui peuvent constituer une alternative aux pesticides chimiques (Djebbari et Guemas, 2019).

#### I.3.2.3. Application médicale :

La chitinase est utilisée avec des médicaments antifongiques pour augmenter l'efficacité du traitement des infections fongiques (Salli Roopavathi *et al*, 2015). La chitinase est également utilisée comme additif dans les lotions pour la peau et les crèmes antifongiques (Salli Roopavathi *et al*, 2015).

L'activité antifongique et la haute qualité biocompatible rendent la chitinase utile pour les applications biomédicales, telles que la cicatrisation des plaies (Salli Roopavathi *et al*, 2015).

#### I.3.2.4. Applications diverses :

Les chitinases ont été exploitées pour isoler des protoplastes fongiques utilisés comme méthode expérimentale pour étudier la synthèse de la paroi cellulaire, la synthèse et la sécrétion d'enzymes. Eliminer la biomasse fongique présente dans le sol (Djebbari et Guemas 2019).

La chitinase est utilisée pour dégrader la paroi cellulaire fongique, ce qui permet *Aspergillus niger* de libérer la tannase de la paroi cellulaire d'augmenter sa production (Djebbari et Guemas 2019).

*Chapitre 2 : Les  
rhizobactéries favorisant la  
croissance des plantes.*

### Chapitre 2 : Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.

#### II.1. Définition :

Les bactéries de la rhizosphère, connues sous le nom de RFCP ou PGPR( Plant Growth Promoting Rhizobacteria), sont des bactéries favorisent la croissance et la santé des plantes. Le PGPR se divise en deux grandes catégories : les substances stimulantes pour les plantes ( les phytostimulatrices ) et les substances protectrices des végétaux (les phytoprotectrices) (**Garcia et al., 2003**).

**Selon Beneduzi et al., (2012)**, Les PGPR ont un effet bénéfique sur la croissance des plantes en utilisant à la fois des mécanismes directs et indirects. Les PGPR peuvent agir de différentes façons directs pour favoriser la croissance des plantes, notamment en fixant l'azote atmosphérique, en libérant des minéraux essentiels tels que le phosphore (P), le zinc (Zn) et le fer (Fe), ainsi qu'en produisant des phytohormones. Néanmoins, les PGPR jouent un rôle indirect dans la lutte biologique contre les agents pathogènes en synthétisant de l'ACC-désaminase, des sidérophores, des antibiotiques, des enzymes lytiques et induisent à la fois une résistance systémique (ISR) ainsi qu'une résistance aux stress abiotique

#### II.2. Historique :

Le terme PGPR a été introduit pour la première fois à la fin des années 1970, lorsqu'il a été démontré par Kloepper et Schroth, que des souches *pseudomonas fluorescens* ont amélioré le rendement des cultures de pommes de terre en produisant des sidérophores et des chélateurs de fer, privant les bactéries pathogènes indigènes de fer (**Garcia et al., 2003**).

#### II.3. Différentes genres des PGPR :

##### II.3.1. Azospirillum :

Le genre *Azospirillum* sont des bactéries à gram négatif, en forme de batonnet incurvé, qui peuvent fixer l'azote dans des conditions de vie libre ou en association avec des graminées ( **De Zamaroczy et al., 1993** ) . Par adhésions, ce genre peut coloniser la surface racinaire ou les espaces intercellulaires des racines des plantes hôte. Ce groupe de rhizobactéries libres comprend dix espèces: *Azospirillum lipoferum* et *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum halopraeferens*, *Azospirillum irakene*, *Azospirillum largimobile*, *Azospirillum doebereinae*, *Azospirillum oryzae*, *Azospirillum melinis* et plus récemment *Azospirillum canadensis*, chacune classée selon ses caractéristiques biochimiques et moléculaires particulières (**Bashan et al., 2004**).

## Partie Bibliographique

---

### II.3.2. Rhizobia :

Les *Rhizobiums*, ou *rhizobia*, sont des bactéries aérobies du sol appartenant à la famille des *Rhizobiaceae* (Sahgal et Johri, 2006). Ces bactéries sont capables de former une association symbiotique qui fixe l'azote avec des plantes de la famille des légumineuses. Cette symbiose se traduit par la formation sur les racines de la plante hôte des nodules (nodosités). Les nodosités sont le lieu d'une activité symbiotique : la plante fournit les substances carbonées aux bactéries, tandis que les bactéries fournissent à la plante les substances azotées synthétisées à partir de l'azote atmosphérique (Downie, 2005).

L'inoculation par *Rhizobium sp*, conduit à une amélioration la croissance, le rendement et le nombre de nodules formé au niveau des racines par rapport aux plantes non inoculées. Parallèlement à leur activité bénéfique de fixation d'azote avec les légumineuses, les *Rhizobium* sont capables d'optimiser la nutrition des plantes par la mobilisation du phosphate organiques et inorganiques (Akhtar et Siddiqui, 2009).

### II.3.3. Bacillus :

Les *Bacillus* font partie du genre de bactéries à Gram positif appartenant à la famille des *Bacillaceae*, l'ordre des *Bacillales*, la classe des *Bacilli*. Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. C'est le groupe le plus abondant dans la rhizosphère. L'activité PGPR de certaines de ces souches a été connue depuis plusieurs années (Probanza *et al.* 2002). Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique (Nagórska *et al.*, 2007). Ils peuvent dissoudre le phosphate, fabriquer de l'AIA, du séderophore et agir comme antifongique (Charest *et al.*, 2005).

### II.3.4. Pseudomonades :

Les *Pseudomonas* et plus précisément les *Pseudomonas fluorescenes* sont des bactéries partout présentes, trouvées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (Saharan et Nohra, 2011). Les effets bénéfiques de la bactérisation des graines sont constatés lors de l'inoculation des graines de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) par *Pseudomona fluorescens* et *Pseudomonas putida* (Laradj zazou, 2017).

Alabouvette *et al.*, (1993) ont montré que lors de l'utilisation de souches non pathogènes *Fusarium oxysporum*, combinée avec *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* se manifestent comme principales candidates de contrôle biologique du flétrissement fusarien, avec une application bénéfique pour la suppression des fusarioses chez plusieurs espèces des plantes.

## Partie Bibliographique

---

### II.4. Mode d'action des PGPR :

Les méthodes d'action du PGPR sont regroupées en deux modes: direct et indirect. Malgré que La différence entre les deux n'est pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur des plantes et influencent directement la nutrition, le métabolisme et son développement, alors que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui ils sont produits à l'extérieur des plantes et affectent particulièrement tout ce qui touche au bio-contrôle. Les processus de biofertilisation (nutrition de la plante) et de biostimulation (production de phytohormones pour la croissance) font partie des mécanismes directs. Procédés de biocontrôle (production de métabolites antifongiques, production de composés volatils...); ils forment des mécanismes indirects, parce qu'ils assurent un environnement sain pour la croissance des plantes, ce qui en assure un bon développement (**Amour, 2018**).

Ces différents mécanismes d'actions peuvent tous contribuer à un meilleur développement de la plante et à une amélioration du rendement.

#### II.4.1. Mode d'action direct :

Les PGPR participent à augmenter la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ceci stimule directement le développement et la croissance de la plante, les mécanismes les plus importants sont cités ci-dessous :

##### II.4.1.1. Fixation de l'azote :

L'Azote est un élément indispensable du système vivant qui est nécessaire pour la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Les rhizobactéries du sol ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique et faciliter son assimilation et son utilisation par les plantes sous forme d'ammoniac dans le processus de fixation de l'azote. Les PGPR sont capables de fixer l'azote de manière symbiotique (*Azotobacter spp.*, *Bacillus spp.*, etc.) et d'une façon non symbiotique (*diazotrophes* libres, *Azospirillum*). chez les plantes légumineuses la fixation de l'azote est aidée par les rhizobiums qui permet un changement important de bactéroïde libre en bactéroïde fixateur d'azote vivant dans les nodules racinaires. L'inoculation commerciale de ces micro-organismes rhizosphériques a confirmé son efficacité dans l'augmentation de la formation de nodosités et dans l'augmentation du rendement des cultures (**Bhat et al., 2023**).

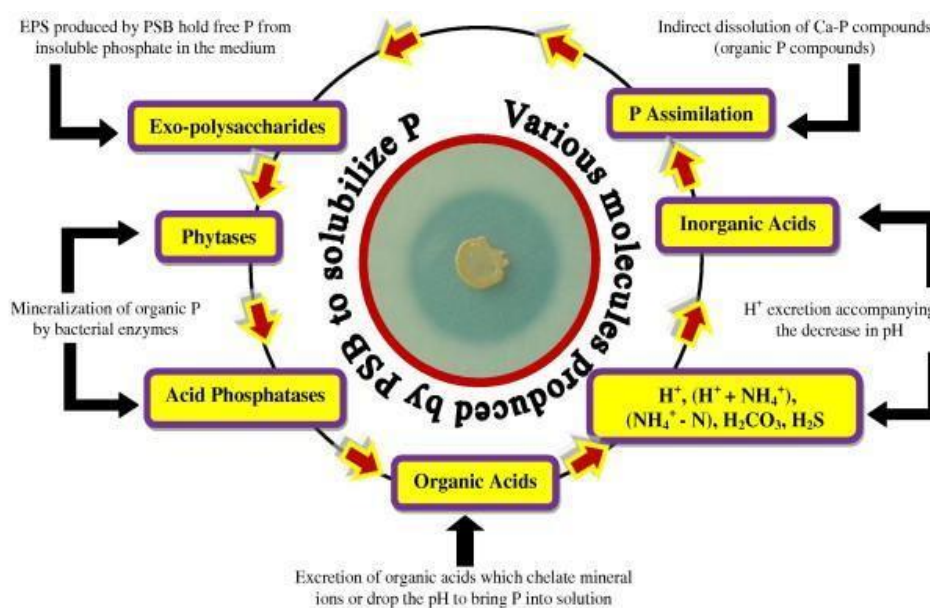
##### II.4.1.2. Solubilisation de phosphore :

À côté de l'azote (N) et du potassium (K), le phosphore (P) est considéré comme l'un des composants essentiels de la vie végétale et animale, car il est un élément largement répandu dans la nature. Le phosphore a un rôle important dans le métabolisme de la plante, et il est l'un des éléments nutritifs

## Partie Bibliographique

essentiels pour la croissance et le développement des végétaux. Pourtant, le phosphore se trouve dans une forme non disponible pour la plante, il reste donc de le mobiliser dans le sol (Qureshi *et al.*, 2012). Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétale et, par la suite, la majeure partie du phosphore absorbée est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction. Toutefois, les plantes manquant de phosphore montrent un ralentissement de la croissance (réduction de la croissance des cellules et des feuilles, perturbation de la respiration et de la photosynthèse) (FAO., 2004).

Les bactéries solubilisatrices de phosphates (BSP) utilisent plusieurs stratégies pour convertir le phosphore insoluble en forme solubles, aidant ainsi les plantes à absorber cet élément nutritif essentiel, et c'est ce que montre la **figure 3**.



**Figure 3:** Mécanismes d'action des bactéries solubilisant les phosphates (Khan *et al.*, 2009).

### II.4.1.3. Production de phyto hormone :

Un nombre important de microorganismes trouvés dans la rhizosphère est capable de produire des substances qui régulent la croissance et l'évolution des plantes. Les rhizobactéries stimulent la croissance des plantes et produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène, ce qui affecte la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau (Arora, 2013).

## Partie Bibliographique

---

### II.4.2. Mode d'action indirect :

Les PGPR agissent comme promoteurs de croissance des plantes de manière indirecte en utilisant leurs propriétés de biocontrôle et en stimulant la résistance systémique des plantes contre les phytopathogènes. Ces organismes favorisant la croissance des plantes déploient diverses stratégies de lutte biologique, notamment (Jeyanthi *et al.*, 2018):

1. La production d'antibiotiques.
2. Sécrétion de sidérophores permettant l'absorption du fer privant les agents pathogènes fongiques à proximité.
3. Production d'enzymes lytiques telles que la chitinase, l' $\alpha$ -1, 3 glucanase, la protéase et la lipase qui lysent les parois cellulaires pathogènes fongiques et bactériennes.
4. Induit une résistance systémique chez les plantes par les métabolites.

#### II.4.1.1. Production des antibiotiques :

Les microorganismes telluriques produisent des antibiotiques qui sont des éléments clés pour la vie dans un environnement aussi concurrentiel que la rhizosphère. La production des antibiotiques est un facteur crucial de compétitivité des microorganismes aux autres communautés microbiennes. C'est un critère de performance pour favoriser indirectement la croissance végétale. Il consiste à contrer les agents phytopathogènes présents dans le sol. La sélection des souches rhizobactériennes performantes pour la production des antibiotiques doit tenir compte de l'influence du stade de développement de la plante à inoculer et les conditions environnementales de sa rhizosphère (Kirdi et Zermane, 2010).

#### II.4.1.2. Enzymes lytiques :

Le PGPR produit de nombreuses enzymes hydrolytiques dont les plantes bénéficient. Les enzymes extracellulaires telles que les cellulases, les lipases, les protéases et les chitinases jouent un rôle important dans le contrôle biologique (Markovich *et al.*, 2003). Ces enzymes hydrolytiques peuvent dégrader une variété de déchets végétaux et autres déchets présents dans le sol, convertissant ces déchets de molécules complexes en molécules plus simples, telles que les déchets de cellulose qui sont dégradés par les cellulases, de plus elle permet la lyse des parois cellulaires fongiques (Mabood *et al.*, 2014). l'importance de la  $\beta$ -1,3-glucanase pour l'activité de biocontrôle de la souche *Lysobacter enzymogenes* contre la tache bipolaire induite par *Phytium sp.* Ces propriétés protègent les plantes des maladies. Les chitinases produites par les champignons parasites et les espèces de *Trichoderma* exercent des effets de contrôle biologique sur *Rosellinia necatrix* et d'autres organismes végétaux (Harman *et al.*, 2004). Les PGPR jouent un rôle important grâce à l'action de multiples enzymes lytiques qui les protègent contre les facteurs de stress biotiques et abiotiques causés par *Phytophthora*, *Rhizoctonia solani* et *Pythium ultimum* (Nadeem *et al.*, 2013). L'agent de biocontrôle

## Partie Bibliographique

---

PGPR induit la lyse des parois cellulaires fongiques en produisant des enzymes telles que la chitinase, la cellulose, la  $\beta$ -1,3 glucanase, la protéase ou la lipase (Chet *et al.*, 1994).

### II.4.1.3. Compétition dans la rhizosphère :

En plus de leur compétitivité par rapport aux autres populations microbiennes présentes dans la rhizosphère, les PGPR démontrent une capacité à occuper efficacement l'espace et à exploiter les ressources nutritionnelles disponibles dans cet environnement. Cette aptitude leur permet de contribuer à la réduction des phytopathogènes du sol par le biais de la compétition (Lemanceau 1992; Lucy *et al.*, 2004). La compétitivité des PGPR est considérablement renforcée lorsqu'elles possèdent des capacités particulières pour assimiler des nutriments spécifiques ou inhiber leur assimilation par d'autres microorganismes (Kempf et Wolf, 1989). Par exemple, certaines souches de *Streptomycètes* et d'*Actinomycétales* parviennent à s'établir dans la rhizosphère en capturant le fer disponible (Tokala *et al.*, 2002). En revanche, d'autres souches sont capables de produire des enzymes extracellulaires qui facilitent l'utilisation de composés organiques comme sources d'énergie ou qui dégradent les phytotoxines (Mccarthy et Williams, 1992).

### II.4.1.4. Résistances systémique induite (ISR) :

La reconnaissance par les plantes de certaines bactéries de la rhizosphère conduit à une réponse immunitaire, lui permettant de mieux se protéger contre les micro-organismes pathogènes. L'immunité de cette plante s'appelle ISR. La résistance systémique induite est une forme de résistances stimulées par les PGPR, car elles peuvent induire des effets indirects pour sensibiliser les plantes afin de se protéger contre les attaques microbiennes. L'ISR peut être induite par divers micro-organismes à Gram positif ou des bactéries à Gram négatif telles que *Bacillus* et *Pseudomonas* (Emmanuel *et al.*, 2008).

### II.5. Caractéristique d'une PGPR idéal :

Une souche rhizobactérienne est considérée comme une PGPR supposée si elle possède des caractères spécifiques favorisant la croissance des plantes et peut améliorer la croissance des plantes lors de l'inoculation. Une souche PGPR idéale doit remplir les critères suivants (Basu *et al.*, 2021) :

1. Elle devrait être hautement rhizosphère-compétent et respectueuse de l'environnement
2. Elle devrait coloniser les racines des plantes en nombre significatif lors de l'inoculation.
3. Elle devrait pouvoir favoriser la croissance des plantes.
4. Elle devrait présenter un large éventail d'actions.
5. Elle devrait être compatible avec d'autres bactéries de la rhizosphère.
6. Elle devrait être tolérante des facteurs physico-chimiques comme la chaleur, la dessiccation, les

radiations, et oxydant.

7. Elle devrait démontrer de meilleures compétences concurrentielles sur les communautés rhizobactériennes existantes.

### **II.6. Effet des PGPR sur la croissance végétale :**

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent :

#### **II.6.1. Rendement :**

L'amélioration de la productivité agricole est essentielle et importante, les applications du PGRR sont les pratiques les plus fiables pour améliorer le rendement des cultures (**Lee et al., 2008**)

#### **II.6.2. Enracinement des boutures :**

Plusieurs éléments physiologiques et environnementaux exercent une influence à la formation des racines, les traitements exogènes des boutures étant particulièrement importants (**Couvillon 1998**). L'utilisation des PGPR comme *Azospirillum. rubi*, *Bacillus. subtilis*, *Bacillus. gladii*, *Pseudomonas. putida*, *Bacillus. megaterium*, *Bacillus. simplex*, *Pseudomonas. polymyxa*, et *Comamonas acidovorans* ont montré leur efficacité à obtenir des pourcentages élevés d'enracinement des kiwis (**Ercisli et al., 2003**), des roses, de la pistache, du thé, et de la menthe (**Kaymak et al., 2008**).

#### **II.6.3. Absorption des nutriments :**

Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles (**Yang et al., 2009**). Le phosphore et l'azote sont les nutriments majeur-clé limitant la croissance des plantes (**Kumar ,1999**). En outre, certaines PGPR améliorent l'absorption de ces éléments nutritifs en favorisant le développement des racines par la production de phytohormones (**Mantelin, 2004 ; Kloepper et al., 2007**).

# *Chapitre 3 : Le Blé.*

### Chapitre 3 : Blé.

#### III.1. Définition :

Les céréales d'origine orientale sont essentielles à l'alimentation humaine en tant que source de protéines et d'énergie. Auparavant, le terme « blé » désignait toutes les céréales comestibles, mais les romains ont introduit le terme « blé » pour désigner spécifiquement le blé utilisé dans la fabrication du pain. Plus tard, le terme « blé » est redevenu populaire, car les céréales telles que le riz, l'orge et le blé étaient initialement consommées sous forme de grains entiers avant d'être cultivées pour être utilisées comme céréales moulues dans l'alimentation humaine (Armand et germain, 1992).

Le blé est aujourd'hui la céréale la plus cultivée et la plus consommée au monde. Il a été domestiqué au moyen-orient à partir d'une herbe sauvage il y a environ 10 000 ans. Il existe actuellement environ 30 000 formes cultivées, ce qui a fait que la production mondiale a vu une croissance fulgurante ainsi que les échanges internationaux ont fait que le blé soit l'une des principales composantes de l'économie mondiale (Ait-Slimane-Ait-Kaki, 2008).

#### III.2. Origine :

La plupart des recherches archéologiques confirment que l'origine du blé se situe dans les régions du croissant fertile. Le blé est arrivé en Europe occidentale dès l'an 5000 avant J-C. En même temps, elle est diffusée en Asie et en Afrique. Mais son introduction en Amérique, notamment le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), est beaucoup plus récente, survenue en 1529 par les Espagnols au Mexique. Quant à l'Australie, son introduction s'est produite en 1788 par les Anglais, à partir des pools génétiques européens (Bachiri, 2020).

#### III.3. Classification botanique :

Tableau 5: Classification botanique de blé (Morsli, 2010).

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Monocotylédones
ordre	Poales
Sous ordre	Comméliniflorale
Famille	Gramminacées ou poacées

#### III.4. Structure et composition de la graine de blé:

##### III.4.1. Structure histologique de la graine de blé dur:

Les graines de blé sont des fruits d'une forme ovale appelés caryopse, ils présentent une rainure longitudinale sur une de ses faces. L'extrémité opposée de l'embryon est constituée des touffes de poils « en brosse ».

Le caryopse se forme de 03 parties:

### III.4.1.1. Les enveloppes:

Selon **Godon et Willem (1991)**, les enveloppes confèrent un son à la semoule, variant en épaisseur et composées de trois groupes d'intégrations soudées :

La coquille de fruit se compose de trois couches de cellules:

- Epicarpe, protégé par la cuticule et les poils.
- Mésocarpe, formé de cellules transversales.
- Endocarpe, constitué par des cellules tubulaires.

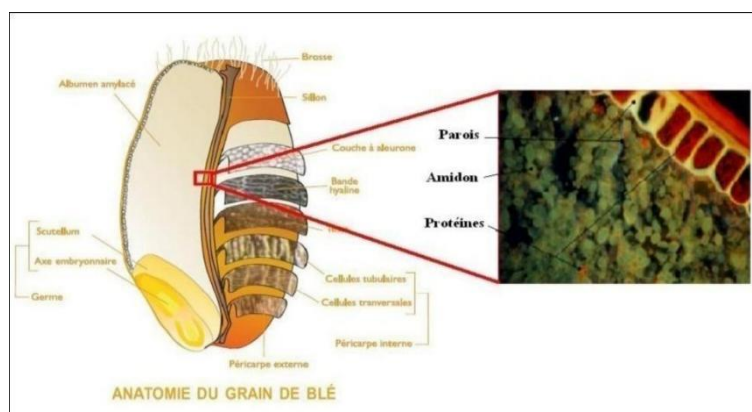
### III.4.1.2. L'albumen :

principalement féculent et vitreux dans le blé dur, cette couche est riche en protéines, lipides, pentosanes, hémicelluloses et minéraux, ce qui la rend importante sur le plan nutritionnel et dans le processus de réforme alimentaire (**Godon et Willm, 1991**).

### III.4.1.3. L'embryon :

Selon **Godon et Willem (1991)**, le fœtus comprend :

- Le cotylédon unique ou scutellum est riche en graisses et en protéines.
- La racine embryonnaire protégée par le cône.
- La gemmule contient un nombre variable de feuilles visibles, chacune enfermée dans un étui protecteur.



**Figure 4** :Coupe longitudinale présentant les constituants de graine de blé dur(**Paul, 2007**).

## Partie Bibliographique

### III.4.2. Composition globale de graine :

**Tableau 6:** Composition globale de graine(Morsli, 2010).

Amidon glucide	Protéine	Lipide	Cellulose et hémicellulose	Sels minéraux
75,6 (+5)	14,5 (+4)	14,5 (+4)	5,7 (+1)	5,7 (+1)

### III.5. Les principales maladies du blé :

**Tableau 7:** Les principales maladies du blé(Ezzahiri , 2001).

Mode de conservation	Agents pathogènes	Maladies
<b>Sol</b>	Fusarium culmorum Fusarium graminearum Cochliobolus sativus	Pourritures racinaires
	Urocystis agropirii	Charbon foliaire
<b>Semence</b>	Ustilago nuda	Charbon nu
	Tilletia caries	Carie commune
	Septoria nodorum	Septorioses des épis  (Glume Blotch)
<b>Chaumes</b>	Erysiphe graminis f.sp.  Tritici	Oïdium
	Septoria tritici	Septoriose des feuilles (leaf blotch)
	Septoria nodorum	Septoriose des épis (Glume blotch)
	Pyrenophora tritici-repentis	Tache bronzée
<b>Feuilles +hôtes alternatifs</b>	Puccinia triticina	Rouille brune
<b>Repousses des plantes hôtes</b>	Puccinia graminis f.sp.tritici	Rouille noire
	Puccinia striiformis	Rouille jaune

*Chapitre 4 : Les  
biopesticides et le  
bioengrais.*

### Chapitre 4 : Biopesticides et bioengrais.

#### IV.1. Biopesticides.

##### IV.1.1. Définition :

Les biopesticides sont des organismes vivants, ou des produits qui en dérivent, qui ont la capacité de supprimer ou de réduire les ravageurs. Les agriculteurs utilisent des biopesticides depuis des siècles et ces produits offrent de nombreux avantages (**Jovana , 2013**).

##### IV.1.2. Classification des biopesticides :

Les biopesticides peuvent être classés en trois catégories principales, en fonction de leurs caractéristiques nature: biopesticides microbiens, biopesticides végétaux, biopesticides animaux (**Deravel et al., 2013**).

##### IV.1.3. Biopesticides d'origine microbienne :

Cette classe comprend les bactéries, les champignons, oomycètes, les virus et les protozoaires. L'efficacité d'un grand nombre d'entre eux dépend de substances actives issues de micro-organismes. En principe, ce sont ces substances actives qui agissent contre l'agresseur biologique plutôt que contre le micro-organisme lui-même (**Jovana, 2013**).

##### IV.1.3.1. Les bactéries :

Les biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* sont en effet largement utilisés pour leur action insecticide, grâce aux protéines cristallines qu'ils produisent. D'autres espèces de *Bacillus*, comme *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus subtilis*, utilisent des mécanismes différents pour protéger les plantes. Par exemple, *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus subtilis* peuvent coloniser les racines et produire des molécules lipopeptidiques telles que les surfactines, les iturines et les fengycines, qui peuvent activer les défenses des plantes ou avoir des effets antibactériens ou antifongiques directs (**Deravel et al., 2013**).

##### IV.1.3.2. Les virus :

Les *Baculoviridae* sont des virus à ADN double brin circulaire, avec un génome de 100 à 180 kb, enveloppés dans une capsid protéique. Ils infectent les arthropodes ou les larves d'insectes sans poser de risque pour la santé des vertébrés ou des plantes. Leur potentiel bioinsecticide est notable car ils peuvent éliminer leur hôte en quelques jours. Ils sont classés en fonction de la morphologie de l'hôte infecté, comme les granulovirus, tels que *Cydia pomonella granulosis*, trouvés dans des granules ovales, et les nucléopolyhédrovirus, comme *Helicoverpa zea (HZNPV)* et *Spodoptera exigua*

## Partie bibliographique

---

*nucleopolyhedrosis*, contenus dans des polyèdres de différentes formes (ronde, cubique, hexagonale) (Chen *et al.*, 2002).

### IV.1.3.3. Les champignons :

Plusieurs souches de champignons filamenteux du genre *Trichoderma spp.* Utilisé pour la protection biologique des plantes. Ils ont généralement une activité antifongique contre de nombreux pathogènes du sol ou contre les pathogènes foliaires (Dodd *et al.*, 2003). *Trichoderma atroviride* est notamment utilisé pour la protection biologique de la vigne (Longa *et al.*, 2009). L'activité de biocontrôle de cette souche est attribuée à plusieurs mécanismes d'action qui fonctionnent en synergie. Parmi ces mécanismes d'action figurent la compétition pour les nutriments, les antibiotiques ou encore la production d'enzymes spécifiques de dégradation de la paroi cellulaire comme les chitinases ou les protéases (Brunner *et al.*, 2005).

### IV.1.4. Biopesticides d'origine végétale :

Les plantes produisent effectivement une variété de substances actives aux propriétés insecticides, antiseptiques et de régulation de la croissance. L'huile de neem, extraite des graines d'*Azadirachta indica*, est l'un des biopesticides d'origine végétale les plus utilisés. Les molécules comme l'azadirachtine, la nimbidine, la nimbidinine, la solanine, le déacétylazadirchtinol et le méliantriol présentes dans l'huile de neem sont biologiquement actives. L'azadirachtine, principale composante de l'huile de neem, perturbe la morphogenèse et le développement embryonnaire des insectes (Deravel *etal.*, 2013).

### IV.1.5. Biopesticides d'origine animaux :

Les biocides d'origine animale sont des signaux chimiques produits par un organisme qui modifient le comportement d'individus de la même espèce ou d'une espèce différente, et sont également répertoriés sous le nom de semi-chimiques ». Les produits sémiochimiques ne sont pas des « insecticides » au sens strict du terme. En fait, non seulement elles provoqueront la mort des agresseurs biologiques, mais elles créent plutôt la confusion parmi eux. Cette confusion les empêchera de se propager dans la zone traitée. Les phéromones d'insectes sont de bons exemples de molécules semi-chimiques utilisées comme alternative à l'utilisation d'insecticides. Ce sont de petites molécules que les insectes produisent naturellement et qui sont détectées dans les antennes de leurs congénères. Ces molécules peuvent être éphémères ou persistantes, mais dans tous les cas elles transmettent un message. Ils peuvent marquer un territoire, avertir de la disponibilité de nourriture ou servir de signal d'accouplement. Les phéromones d'insectes sont largement utilisées pour réduire les insectes nuisibles par des techniques de piégeage ou de confusion sexuelle et pour surveiller leur nombre (Jovana, 2013).

## Partie bibliographique

---

### IV.1.6. Avantages et inconvénients des biopesticides :

#### IV.1.6.1. Avantages :

Selon (Meksem, 2018) les biopesticides présentent plusieurs avantages, notamment :

- Restreindre ou éliminer l'utilisation d'insecticides chimiques
  - Ils sont favorisés lors d'une utilisation en serre
  - Ils diminuent les risques de développer de la résistance
  - Ils sont favorisés par le nombre restreint d'insecticides homologués en serre
  - ils ont une plus grande spécificité d'action
  - ils améliorent la qualité de vie des travailleurs agricoles
  - les fruits issus de la cultures biologiques sont mieux prises par les consommateurs .
- Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution. Les biocides, tels que le pyréthre, un insecticide extrait de la plante *Tanacetum cinerariaefolium*, ont une action rapide, une faible toxicité contre les mammifères et une faible persistance après application (Silverio *et al.*, 2009).

#### VI.1.6.2. Les inconvénients :

Certains avantages environnementaux des biopesticides, comme leur manque de persistance ou le fait que le produit est efficace contre un faible nombre de ravageurs, peuvent être considérés comme des inconvénients. En fait, ces deux caractéristiques environnementales, combinées à leur activité dépendant souvent des conditions climatiques et environnementales, rendent les biopesticides moins efficaces que leurs homologues chimiques. Certains professionnels agricoles estiment que les biopesticides ne leur conviennent pas car pas assez efficaces. Ce dernier évalue les résultats à court terme du biocide, comme s'il s'agissait d'une alternative aux produits phytosanitaires chimiques. Cependant, la mise en œuvre et l'efficacité de la lutte biologique doivent être évaluées dans le temps (Popp *et al.*, 2013).

### IV.2. Bioengrais (les biofertilisant) :

#### IV.2.1. Définition :

Les biofertilisants sont des solutions contenant des micro-organismes, appliquées au sol ou directement sur les plantes, dans le but de remplacer en partie ou totalement les engrais chimiques, contribuant ainsi à réduire la pollution résultant de l'utilisation de produits agrochimiques (Zuang, 1982). Les micro-organismes utilisés dans les biofertilisants sont généralement classés en deux

## Partie bibliographique

catégories distinctes. Le premier groupe comprend ceux qui ont la capacité de synthétiser des substances favorisant la croissance des plantes, de fixer l'azote atmosphérique, de solubiliser des composés tels que le fer et le phosphore inorganique, ainsi que d'améliorer la résistance des plantes au stress causé par des facteurs tels que la sécheresse, la salinité, les métaux lourds et les pesticides. Le second groupe est constitué de micro-organismes capables de réduire ou de prévenir les effets néfastes des agents pathogènes. Certains micro-organismes peuvent appartenir aux deux groupes, en stimulant la croissance des plantes tout en inhibant les effets des organismes pathogènes (Faessel *et al.*, 2015).

### IV.2.2. comparaison entre les engrais chimiques et les biofertilisants:

Tableau 8 : La différence entre les fertilisants chimiques et les biofertilisants (Laouedj,2020).

Les biofertilisants	Les fertilisants chimiques
<p>Dans le sol, des millions d'espèces d'organismes vivants agissent chaque jour comme une véritable "usine de la vie". Ils fournissent aux plantes des nutriments assimilables, favorisant ainsi leur développement. Les agriculteurs ancestraux appliquaient déjà ces principes pour éviter l'appauvrissement des sols et augmenter la teneur en matière organique, en pratiquant la rotation des cultures ou les jachères. Les produits biofertilisants s'inspirent de ces méthodes : ils favorisent les micro-organismes bénéfiques pour la vie du sol et des cultures, tout en respectant la flore existante.</p> <p>Il est essentiel de réintégrer les biofertilisants au cœur de votre mode d'agriculture, car ils constituent des alternatives aussi efficaces, voire meilleures. Ils présentent des avantages tant sur le plan environnemental que pour le bien-être des individus.</p>	<p>Les fertilisants chimiques sont très dangereux pour la qualité de l'environnement, la biodiversité et la santé humaine. Certains contiennent des concentrations élevées d'acides, comme l'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique, qui détruisent les bactéries fixatrices d'azote, essentielles pour fournir l'azote aux plantes en croissance. Ainsi, la première conséquence de l'utilisation de fertilisants chimiques dans le jardin est l'appauvrissement du sol.</p> <p>Certains éléments des fertilisants chimiques sont très polluants et se retrouvent directement dans les cours d'eau. En effet, les substances non assimilées par les plantes sont emportées par les pluies et se déversent dans notre environnement. Ainsi, en raison de leurs produits chimiques nocifs, les engrais chimiques ont un impact à la fois écologique et sur notre santé.</p>

## Partie bibliographique

---

### IV.2.3. Les intérêts des biofertilisants :

Beaucoup d'agriculteurs s'engagent dans une agriculture respectueuse de l'environnement. Afin de réussir leurs cultures, ils ont recours à des solutions alternatives, telles que les biofertilisants, qui offrent de nombreux avantages :

- Amélioration de l'état nutritionnel des cultures
- Meilleure structuration des sols
- Production de molécules bénéfiques au développement de la plante
- Meilleure résistance aux stress abiotiques
- Rendre les plantes plus actives
- Amélioration de la qualité du sol et du rendement en vue de cultiver des légumes et des fruits de bonne qualité.
- Stimuler les processus naturels pour améliorer l'absorption des nutriments
- Permet d'apporter une réponse concrète aux enjeux actuels, et constitue une
- Alternative naturelle à l'utilisation d'engrais chimiques,
- Stimuler la croissance des plantes, ils agissent notamment sur les réserves de nutriments immobilisés dans le sol.
- Répondre aux contraintes environnementales
- Stimuler le potentiel nutritif du sol
- Conserver la rentabilité de votre exploitation (**Demoulin et leymergie, 2009 ; mohanty et al., 2013**).

### IV.2.4. Les inconvénients des biofertilisants :

- Les biofertilisants nécessitent des soins particuliers pour être stockés à long terme, car ils sont vivants.
- Ils doivent être utilisés avant leur date limite d'utilisation. Si d'autres micro-organismes se retrouvent dans le milieu de support, ou si les producteurs utilisent la mauvaise souche, ils ne sont pas aussi efficaces.
- Il est crucial que le sol contienne des nutriments adéquats pour permettre aux organismes de biofertilisation de prospérer et de se développer.
- Les biofertilisants viennent compléter d'autres engrais, mais ils ne peuvent pas les substituer complètement.
- Les biofertilisants diminuent leur efficacité si le sol est trop chaud ou sec.
- La croissance réussie des micro-organismes bénéfiques est également entravée par des sols excessivement acides ou alcalins, ce qui les rend moins efficaces s'ils contiennent trop d'ennemis microbiologiques(**Bossy,2013**).

# *Chapitre 5 : Matériel et Méthode.*

## Chapitre 5 :Matériel et méthodes.

### V.1. Matériel :

Notre travail à été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Djilali Bounaama Khemis miliana.

#### V.1.1. Matériel utilisé :

##### Appareillage :

- pH mètre (CRISON).
- Microscope optique (ZEISS).


#### V.1.2. Matériel biologique :

**Tableau 9:** Matériel biologique.

Déchets chitineux		Origine
Carapace de crevettes		Poissonnerie, traiteur Khemis Miliana


#### V.1.3. Matériel végétal :

**Tableau 10 :** Matériel végétal.

Espace	Blé dur	
Variété	Oued bard	
Catégorie	R1	
Année de récolte	Juin2023	
Source	CCLS khemis miliana	

#### V.1.4. Source de sol :

**Tableau 11:** Caractéristiques du sol utilisé.

<b>Localisation</b>	<b>Région de Bourajaa , Tarek Ibn Ziad ,Ain Defla.</b>	
<b>Texture</b>	Limoneux	
<b>pH</b>	9.04	
<b>Utilisation on actuelle</b>	Agricole (cultivé en blé)	
<b>Humidité</b>	Humide	
<b>Pesticides (présence)</b>	Oui	

#### V.1.5. Milieux de culture :

**Tableau 12:** La composition chimique des milieux de culture utilisés.

	<b>Milieux de culture</b>	<b>Compositions chimique</b>
<b>Pour les champignons</b>	PDA	250g de pomme de terre coupées en petits morceaux 1000 ml d'eau distillée 30 g d'agar
<b>pour les bactéries</b>	GN	5 g de peptone 3 g d'extrait de bœuf 1000 ml d'eau distillée 30 g d'agar
	CA	1 %de chitine extrait de sol 15 g/L d'agar

### V.1.6. Matériel fongique :

Le prélèvement a été réalisé au sein de l'université (la ferme d'expérimentation).

Des feuilles de blé suspectes d'être infectées ont été désinfectées par l'eau de javel, et à l'aide d'un bistouri et une pince stérile on les a mis sur milieu PDA pour enfin les mettre dans l'étuve à 25 °C pendant 3 jours.



**Figure 5:**Les feuilles de blé infecté.

## V.2. Méthodes :

### V.2.1. Prétraitement des carapaces :

Après avoir éliminé la partie molle des crevettes, la tête et la carapace sont lavées avec de l'eau de robinet, ensuite séchées à une température ambiante avant d'être broyées mécaniquement.

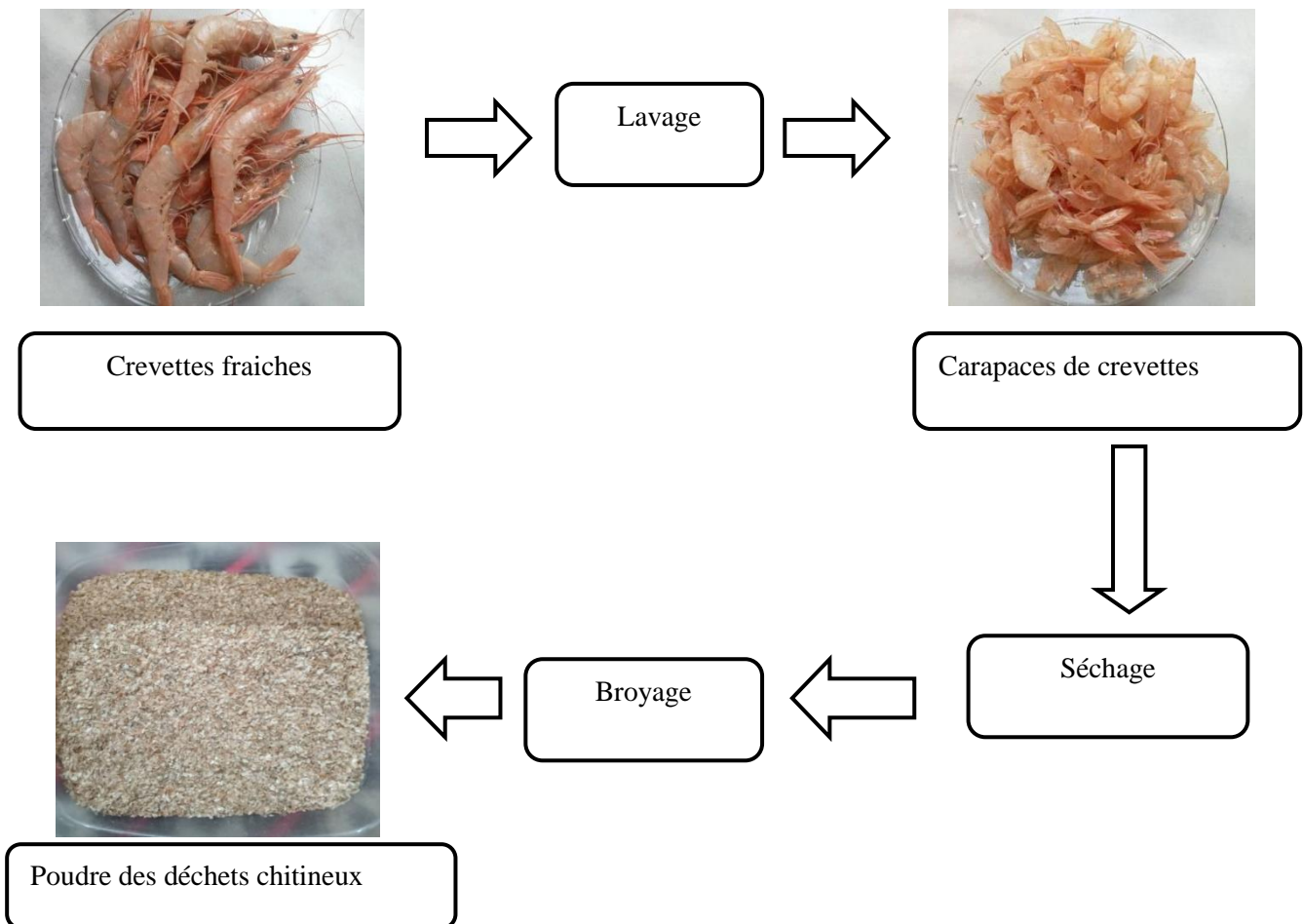


Figure 6:Prétraitement des carapaces de crevettes (Aizi et Cheba ,2014).

### V.2.2. Effet biofertilisant des déchets chitineux :

Nous avons procédé à sept mélanges (déchets chitineux/sol) à des concentrations différentes (Poid/Poid) dans des pots contenant 10 graines de blé dans chaque pot, plus un pot contient uniquement de 100g de sol et 10g graines de blé, a été utilisé comme témoin. Les modifications de la microflore et du pH ont été évaluées tous les 5 jours pendant 20 jours (4 fois), comme le montrent le tableau 13 et la figure 7.

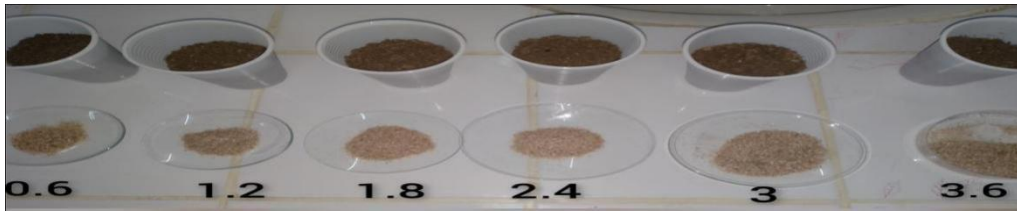


Figure 7: Concentration des mélanges déchets chitineux/sol dans chaque pot.

Tableau 13: Concentration des mélanges déchets chitineux/sol dans chaque pot.

	Test0	Test1	Test2	Test3	Test4	Test5	Test6	Test7
Quantité de déchets chitineux(g)	0	0.6	1.2	1.8	2.4	3.0	3.6	4.2

### V.2.3. Dilution de l'échantillon :

Afin de réaliser une dilution décimale, 10 g de notre échantillon de sol a été ajouté à 90 ml d'eau physiologique (solution mère).

### V.2.4. Isolement des microorganismes :

0,1 ml de la dilution  $10^{-7}$  a étéensemencé en surface sur le milieu (GN), incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  à pendant 72h, et 0,1 ml de la dilution  $10^{-4}$ ensemencé en surface sur le milieu (PDA) , incubées à  $28^{\circ}\text{C}$  durant 5 jour .

Nous effectuons ce processus pour le premier jour de plantation pour le test (T0) uniquement, et nous répétons le même processus pour le reste des tests tous les 5 jours pendant 20 jours.

### V.2.5. Etude macroscopique :

Nous avons étudié les colonies et les champignons à l'aide d'une loupe.

### V.2.6. Etude microscopique :

Nous avons étudié les champignons à l'aide de microscope photonique. Le prélèvement du champignon a été effectué par la technique du scotch avant d'être coloré par le bleu de Méthylène. En outre les bactéries ont été coloré par la méthode de Gram.

### V.2.7. Test de chlorophylle :

L'extraction de la chlorophylle (a), (b) et caroténoïdes a été réalisée selon la méthode de **Francis et al., 1970** .

L'extraction de la chlorophylle (a), (b) et (c) consiste en une macération des feuilles (0,1g) dans 10 ml d'un mélange de l'acétone et de l'éthanol (75% et 25%) de volume et de (80% et 40%) de concentration. Les feuilles sont coupées en petits morceaux et mises dans des boîtes ambrées afin d'éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. Nous procédons à la lecture des densités

optiques 48 heures plus tard. L'absorbance est enregistrée au niveau de spectrophotomètre, à des longueurs d'ondes de 645 et 663 nm.

#### **V.2.8. Isolement et purification de l'isolat :**

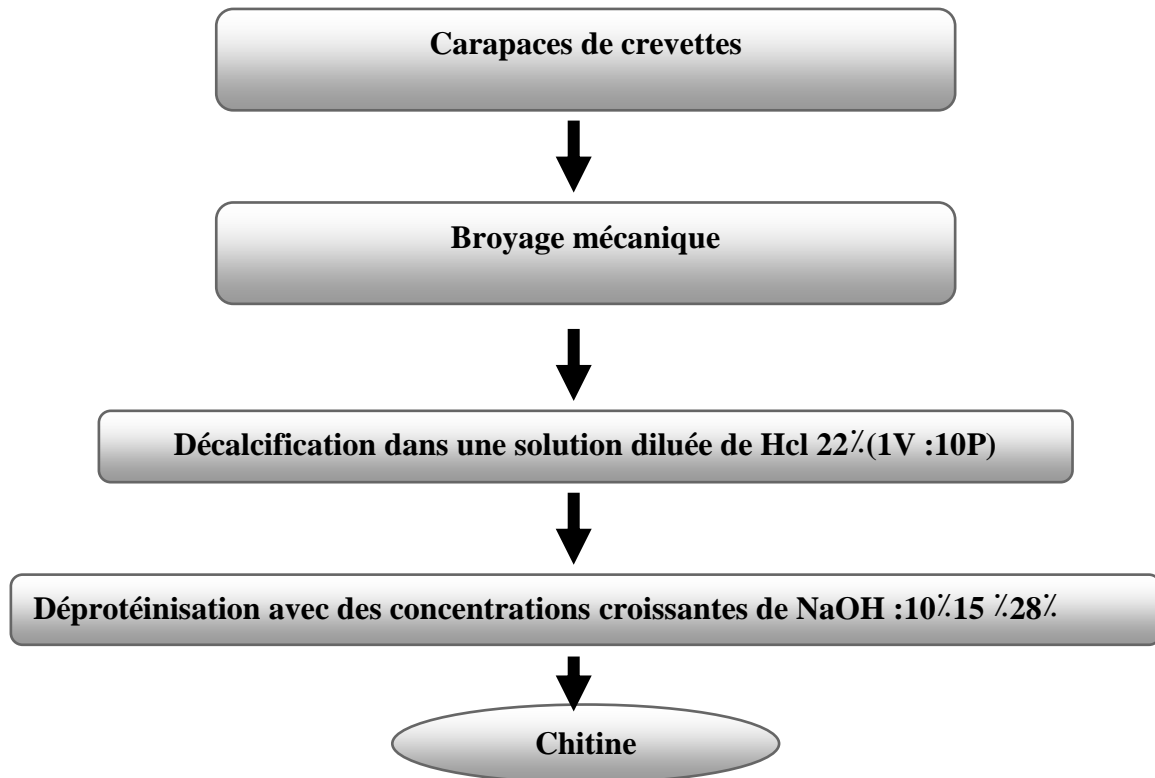
On a identifié un isolat bactérien très dominant présent dans la totalité des pots à chaque prélèvement réalisé durant notre travail.

Isoler et purifier plusieurs fois dans des boîtes contenant le milieu GN, après avoir la même forme macroscopique et microscopique de notre l'isolat on la teste par galerie biochimique pour identifier espèce bactérienne.

#### **V.2.9. Identification biochimique de l'isolat par la galerie API 20 E :**

- Préparer la suspension bactérienne de 18h à 24h.
- Déposer la suspension dans chaque tube+cupule de la galerie en suivant sa fiche technique (API 20E).
- Incuber à 37° pendant 24 heures.
- Après incubation, on réalise la lecture de ces réactions (positives / négatives) qui se fait en fonction des variations des couleurs par lecture directe et par lecture en présence des réactifs comme suit: TDA, Kovacs et VP1+VP2.
- Nous enregistrons sur la fiche nos résultats trouvés (voir photo 10).
- Après l'identification par logiciel ("UPBM" lab).

#### V.2.10.Extraction de chitine:



**Figure 8:** Méthode d'extraction de chitine (Aizi et Cheba, 2014).

- Nous broyons les carapaces de crevettes puis décalcification dans une solution d'Hcl diluée à 22% (1V:10P).
- Agitation pendant une heure.
- Filtrez les carapaces, les laver à l'eau distillée puis les sécher dans l'étuve 90 °C.
- Déprotéinisation avec le NaOH à concentration croissante: 10%, 15% et 28% pour avoir la chitine
- Après désacétylation avec le NaOH 40% (1P:10V), on a eu la Chitosane après lavage avec eaux distillée, filtration puis séchage.

#### V.2.11.Activités Chitinolytique :

Pour étudier l'activité chitinolytique, on ensemence l'isolat purifié dans le milieu CA avant incubation à 37°C pendant 72h.

#### V.2.12.Test d'antagonisme :

Le champignon isolé à partir des feuilles de blé infectées a été soumis au test d'antagonisme. On a prit une boîte de Pétri contenant le milieu GN et nous avons ensemencé en surface notre isolat

bactérien purifié, après cela on ajoute sur le milieu un disque de notre champignon ,puis incubées à 28°C pendant une semaine.

# *Chapitre 6 : Résultats et Discussion.*

## Partie expérimentale

### Chapitre 6 : Résultats et discussion.

#### VI.1. Isolement des micro-organismes :

##### VI.1.1. Etude macroscopique et microscopique de Témoin :

Après 48 heures d'incubation, les résultats obtenus montrent que la microflore du sol utilisé dans cette étude est composée de 5 genres bactériens, 1 levure et 02 genres de champignons, comme le montre la figure 9 :

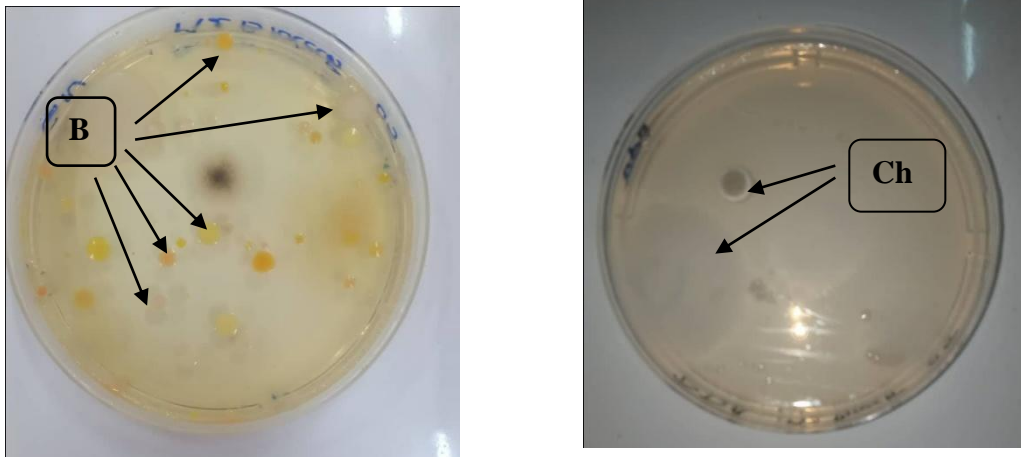


Figure 9: diversité microbienne dans le témoin.

##### VI.1.2. Etude macroscopique des différents isolats

Les résultats de l'étude macroscopique sont résumés dans les (tableaux 14 et 15).

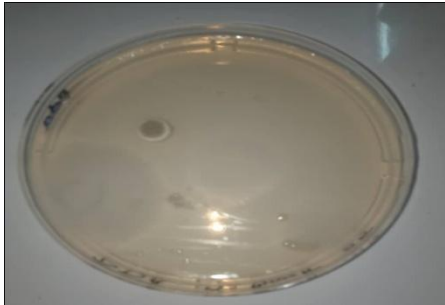
Tableau 14: L'aspect macroscopique des différents isolats bactériens.

	Isolat (A)	Isolat (B)	Isolat (C)	Isolat (D)	Isolat (E)
<b>la forme</b>	circulaire	circulaire	circulaire	Irrégulier	circulaire
<b>le relief</b>	bombé	bombé	bombé	plate	bombé
<b>le contour</b>	ondulé	Régulier	Régulier	ondulé	ondulé
<b>la taille</b>	colonies moyennes	colonies ponctiformes	colonies moyennes	petites colonies	colonies Grosses
<b>la surface</b>	lisses	lisses	lisses	lisses	lisses
<b>couleur</b>	orange	rose	jaune	jaunâtre	blanche
<b>consistance</b>	crémeuses	crémeuses	crémeuses	crémeuses	crémeuses

## Partie expérimentale

---

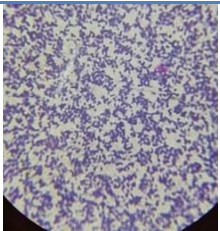
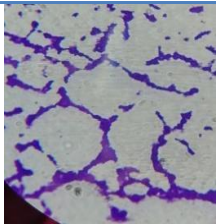
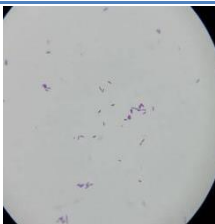
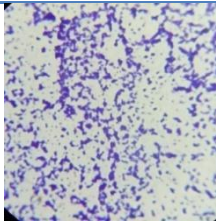
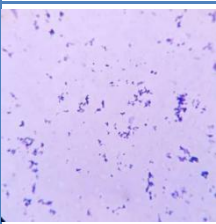
**Tableau 15:** Aspect Macroscopique de isolat de champignon.

L'étude macroscopique	La photo correspondante
<p><b>Champignon: culture surélevée cotonneux de couleur soit vert et ou blanche</b></p> <p><b>Levure: colonies grosse, bombée blanche et lisse</b></p>	

### VI.1.3. Etude microscopique des différents isolats :

Les résultats de l'étude microscopique sont résumés dans les (**tableau 16 et 17**).

**Tableau 16:** L'aspect microscopique des différents isolats bactériens (x 100).

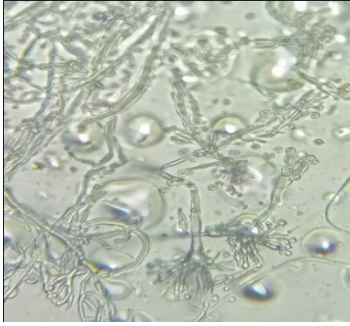

Isolat(A)	Isolat (B)	Isolat (C)	Isolat (D)	Isolat (E)
<b>Cocci / Gram +</b>	Cocci/ Gram+	Bacille / Gram-	Cocci/ Gram+	Bacille / Gram+
				

D'après **Couderc , 2006** la classification microscopique des champignons se base sur:

- Mode de cloisonnement (présence ou absence des cloisons dans le mycélium=hyphe).
- Structure type des hyphes.
- Forme et ou couleur des spores.

## Partie expérimentale

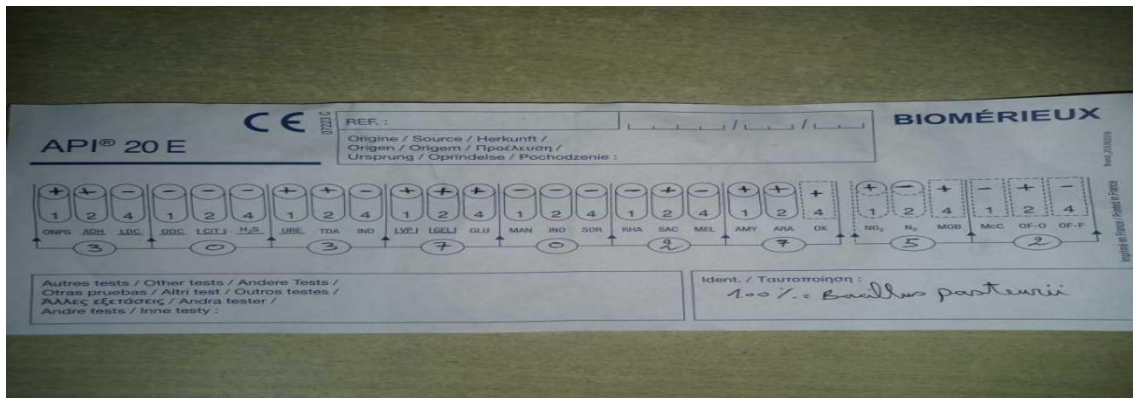
**Tableau 17:** Aspect microscopique des isolats de champignons(x 40).

<b>Les photos correspondantes</b>		
<b>Etude microscopique</b>	-Hyphes septés. -Spores circulaires très petites.	-Spores circulaires très petites

### VI.2. La galerie API 20 E :

Selon la fiche des résultats, on insère le code obtenu dans le logiciel, on a eu Genre: *Bacillus* , l'espèce bactérienne: *Bacillus pasteurii* (Isolat E).

On a pu identifier le Genre seulement du *Pseudomonas* (Isolat C) des bacilles Gram négative.







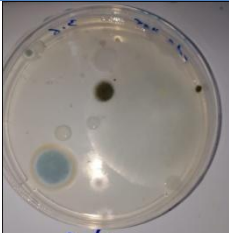
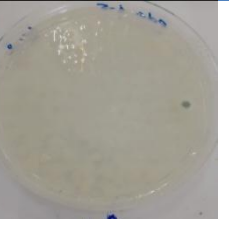
**Figure 10:** Fiche des résultats de galerie API 20 E.

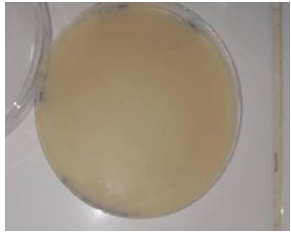
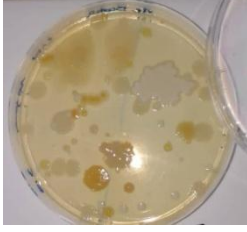

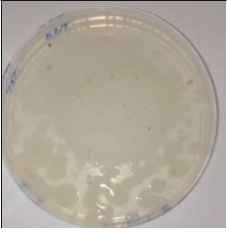
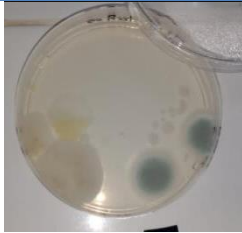

### VI.3. Effet biofertilisant des déchets chitineux de 5<sup>ème</sup> jours au 15<sup>ème</sup> jours:

Au cours de la première phase, qui dure 15 jours, il a été observé que les résidus chitineux affectent l'activité biologique de la rhizosphère en exerçant un effet inhibiteur sur les champignons présents dans le sol, ainsi que la stimulation de la croissance dominante des bactéries du genre *Bacillus*. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par **Laradj zazou en 2017**, qui a déclaré que les déchets chitineux ont la capacité d'éliminer complètement les champignons (activité antagoniste contre les champignons), comme le montrent le tableau 18. A ces mêmes résultats est associé un autre paramètre qui est celui du pH. Ce dernier a été affecté d'une manière remarquable, puisque en 10 jours l'indice de pH est passé de 9,04 à 8 comme le montre la figure 11.





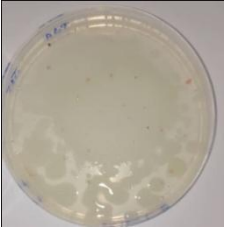
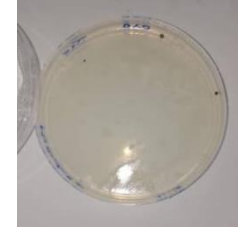
## Partie expérimentale

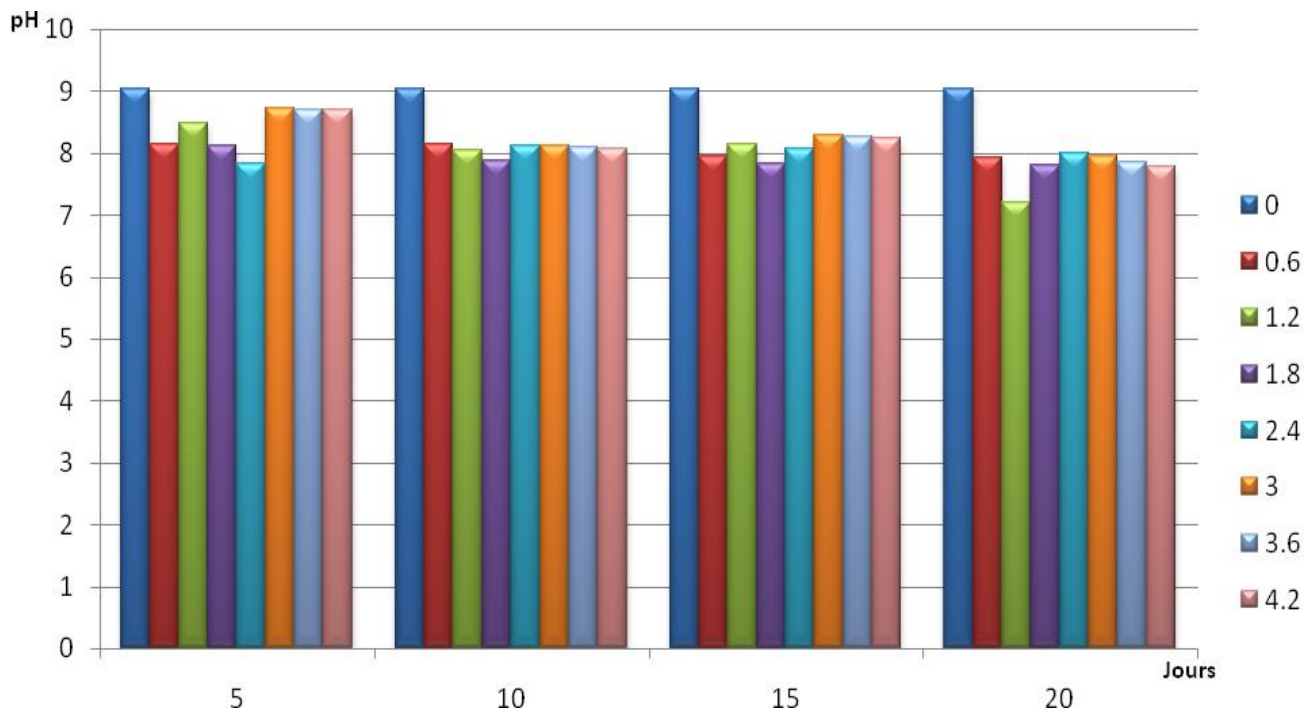
**Tableau 18:** Evolution de microflore entre 5 et 10 et 15 jours.

Jour de plantation	05 <sup>ème</sup> jour		
Quantité des déchets chitineux	1.8g	3.6g	4.2g
Isolat bactérien			
Isolat de Champignon			

Jour de plantation	10 <sup>ème</sup> jour		
Quantité des déchets chitineux	1.8g	3.6g	4.2g
Isolat bactérien			
Isolat de Champignon			

## Partie expérimentale

Jour de plantation	15 <sup>ème</sup> jour		
Quantité des déchets chitineux	1.8g	3.6g	4.2g
Isolat bactérien			
Isolat de Champignon			



**Figure 11:** Variation du pH du sol selon les concentrations des mélanges (sol/ déchets chitineux) durant 20 jours d'expérimentation.

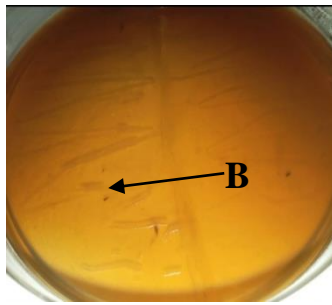
Selon **Aïzi et Cheba,(2014)**, la première étape de la fertilisation par les résidus chitineux est la décomposition, induite par une activité bactérienne élevée il existe une corrélation positive entre le

## Partie expérimentale

niveau de présence bactérien dominé par le genre *Bacillus* et la quantité de déchets chitineux. le tableau 18 montre que la concentration 1.8 g de déchets chitineux / sol permet d'éradiquer la présence des champignons dans le sol tout en stimulant la croissance des *Bacillus*. A l'inverse de résultat obtenus par **Aïzi et Cheba** qu'on trouvé les mêmes résultats avec une concentration de 2.4 g donne le meilleur résultat D'après la quantité 2.4g.

### VI.4. Activité Chitinolytique :

Selon **Aïzi et Cheba, (2014)**, la présence de bactéries *Bacillus* est due à leur capacité à décomposer la chitine grâce à une activité chitinolytique. **Jeyanthi et al., 2018**, Ils ont déclaré que les bactéries *Bacillus* sécrètent l'enzyme chitinase capable de dégrader la paroi cellulaire fongique et de décomposer les composants de la paroi cellulaire des agents pathogènes, comme le montre la figure 12, qui montre un résultat positif que la bactérie *Bacillus* (PGPR) a la capacité de sécréter l'enzyme chitinase dans le milieu de (CA).

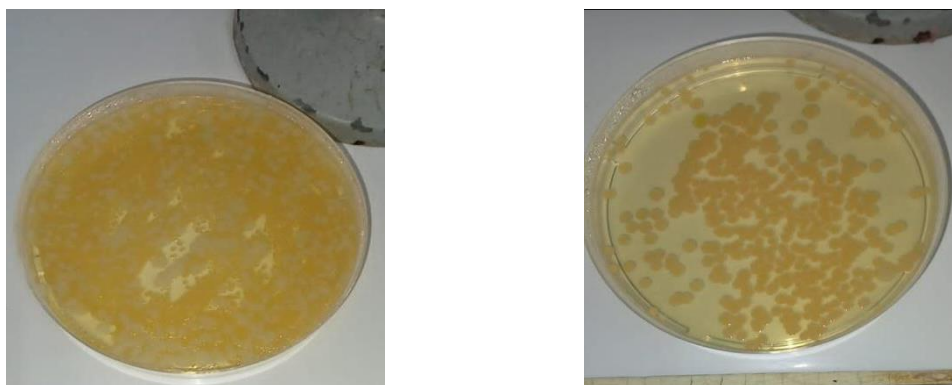


**Figure 12:** Aspect de bactérie *Bacillus* dans le milieu CA, B :Bactérie *bacillus*.

### VI.5. Effet biofertilisant des déchets chitineux du 15<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jours :

La deuxième étape commence du 15 au 20<sup>ème</sup> jour et elle se caractérise par la domination de la croissance des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* ; induite par la chitine, qui joue le rôle de bioengrais. Ce résultat est cohérent avec celui d'**Aïzi et Cheba, 2014**, les résultats sont présentés dans la figure 13:

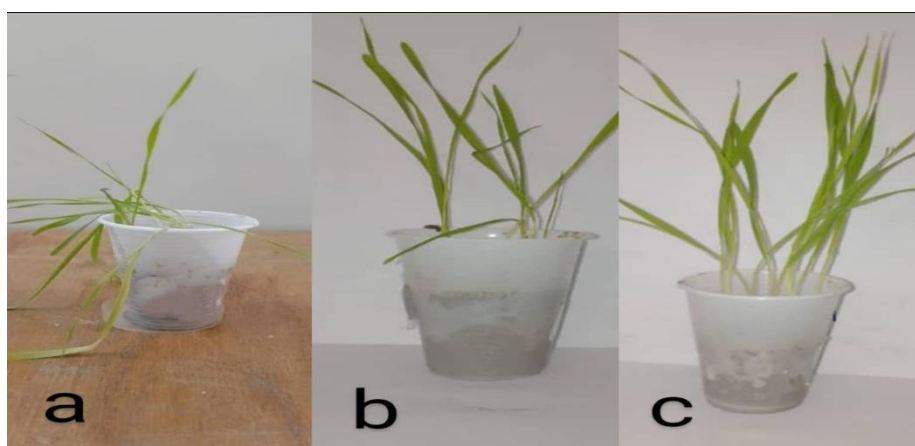
## Partie expérimentale



**Figure 13:**Présence des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* du jour 15 au jour20.

Les engrais organiques ont un effet significatif sur le pH du sol. **Amadji et al., (2017)** rapportent que l'utilisation des déjections de poulet comme engrais organique affecte le pH de sol, ce qui se répercute bénéfiquement sur la production de carottes qui a atteint 30 tonnes par hectare. C'est également ce que nous avons observé dans notre expérience, où les déchets chitineux (les engrais organiques) ont affecté le pH du sol. On remarque également sur la figure 11 que le pH dans la zone racinaire a diminué d'un pH basique de 9,04 à un pH neutre de 7,20. Selon **Margaret et al., 1991**, dans un milieu où le pH est compris entre 7 et 7,5, la nitrification atteint son activité maximale. Cette enzyme aide à convertir l'azote atmosphérique en composé azoté utilisable par les plantes.

**Ahmed et al., (2022)** *Bacillus* et *Pseudomonas* vivent dans la « rhizosphère » des racines d'une plante et stimulent son développement en renforçant ses régulateurs de croissance. Ces bactéries connues sous le nom de PGPR, jouent un rôle important en tant que biofertilisant et stimulant, ainsi que dans le développement d'une résistance aux maladies.



**Figure 14:** Effet biofertilisant des déchets chitineux:(a) sol non traité,(b) sol traité par 1.8 g des déchets chitineux,(c) sol traité par 0.6 g des déchets chitineux.

## Partie expérimentale

**Tableau 19:** Résultats de test de chlorophylle et de germination et de la croissance végétale.

	T0	0.6g	1.8g
<b>Chl (a) (<math>\mu\text{g} / \text{g MF}</math>)</b>	<b>0.117</b>	<b>0.249</b>	<b>0.197</b>
<b>Chl (b) (<math>\mu\text{g} / \text{g MF}</math>)</b>	<b>0.162</b>	<b>0.292</b>	<b>0.524</b>
<b>Caroténoïdes (<math>\mu\text{g} / \text{g MF}</math>)</b>	273.068	593.123	1156.223
<b>Germination (%)</b>	50	70	100
<b>La longueur (cm)</b>	12	13.78	20.35

A partir de tableau 19, la concentration de 1.8 a permis d'optimiser la production de blé ou cette concentration on permet atteindre une taux de germination de 100% de associé à une moyenne de croissance végétale que a atteindre un longueur de plus de 20 cm et une taux de chlorophylle de plus de 1156.223 ( $\mu\text{g} / \text{g MF}$ ), cependant le témoin a montré une taux de germination que ne pas dépasser 50% dans la croissance végétale était de 12 cm et la taux de chlorophylle 273.068 ( $\mu\text{g} / \text{g MF}$ ). Nos résultats sont concordants avec ceux de **Lee et al., 2008**, où l'application des souches *Pseudomonas* et *Bacillus* aux feuilles et aux fleurs de pommiers a entraîné une augmentation notable de la superficie de la section coupe transversale du tronc (13,3 à 118,5%), poids des fruits (4,2 à 7,5%), longueur des tiges (20,8 à 30,1%), diamètre des tiges (9,0 à 19,8%) par rapport au témoin. Le poids moyen des tomates par plant traité avec *Rhodopseudomonas sp* (82,7 g) était plus élevé que celui des plants témoins non inculé. La teneur en lycopène des tomates matures a augmenté de 48,3% avec l'application *Rhodopseudomonas sp*.

Selon **Houles et al., 2006**, la quantité de chlorophylle détermine l'efficacité du processus de photosynthèse. Comme on peut l'observer à partir des résultats du tableau 19, plus le processus de photosynthèse augmente, meilleure est la qualité du blé. Cela est dû à la conversion de la lumière en sucre (glucose), qui est stocké sous forme d'amidon dans le graine de blé et dans d'autres parties de la plante. L'amidon est une source importante d'énergie pour les plantes, mais aussi pour l'alimentation humaine.

## Partie expérimentale

---



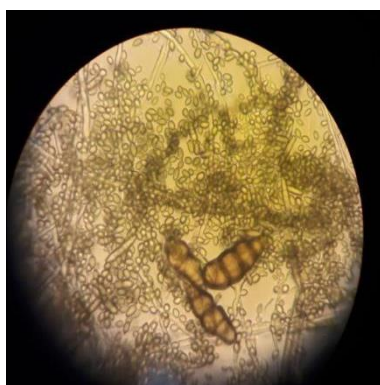
**Figure 15:** Effet biofertilisant des déchets chitineux (4.2 g).

A des concentration supérieure de 1.8 g des déchets chitineux on a remarqué une diminution dans la taux de germination comme dans la croissance végétale et la taux de chlorophylle que été de 90%, 14cm et de 424.346 ( $\mu\text{g} / \text{g MF}$ ) respectivement .

on arrivons a un concentration de 4.2 g on a remarqué un flétrissement de la plantation, dans la figure 15 nous remarquons que la plante est fanée, en raison de la grande quantité de déchets chitineux (4,2g dans 100g du sol); cela signifie la présence d'une grande quantité de nutriment dans le sol, par exemple l'azote en excès peut entraîner des retards de maturité et s'avérer responsable de la fragilité des fruits à la récolte (**Naimi, 2014**). Le zinc peut également devenir toxique lorsqu'il est en excès dans le sol, comme cela s'est produit dans l'expérience **Paul et Annicet en 2018**.

### VI.6. Test d'antagonisme :

Nous avons procédé à la purification et à l'identification microscopique de leurs spores et de leurs hyphes comme appartenant à *Alternaria*.

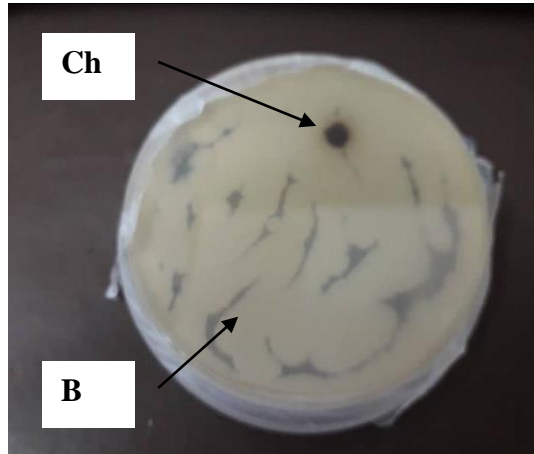


**Figure 16:** Observation microscopique de champignon "*Alternaria*".

En plaçant des bactéries isolées du sol traité avec des résidus chitineux avec des champignons collectés sur des feuilles de blé infectées, nous constatons un fort effet antibactérien contre les

## Partie expérimentale

champignons, car ils préviennent et inhibent leur propagation. Comme a été mentionné par **Aïzi et Cheba, 2014**. Le traitement du sol avec les résidus chitineux, stimulent les bactéries qui jouent un rôle dans la fertilisation du sol et dans la prévention de la propagation des champignons pathogènes pour les maladies des plantes, ce qui confirme également que la chitine est considérée comme un pesticide en stimulant les bactéries pour inhiber les champignons.



**Figure 17:** Test d'antagonisme ;(B) : Bactérie *Bacillus* ,(Ch) :Champignon.

# *Conclusion*

## **Conclusion :**

Les études et expériences que nous avons menées dans le cadre de cette recherche ont prouvé que les déchets chitineux ont une activité biologique efficace pour les plantes, car ils peuvent être utilisés comme engrais organique en raison de leur effet sur l'activation des PGPR, qui jouent un rôle dans la régulation de la croissance et la stimulation de l'autodéfense des plantes.

L'ajout des déchets chitineux dans le sol modifie la composition microbienne de la rhizosphère du blé dur. Dans un premier temps, cela favorise la présence accrue des bactéries du genre *Bacillus*, suivies par une dominance ultérieure des *Pseudomonas*. Les *Pseudomonas*, lors de cette phase, ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique en présence d'une source de carbone et démontrent une activité antifongique en éliminant les champignons phytopathogènes. Ceci est rendu possible par leur sécrétion de l'enzyme de la chitinase, responsable de la dégradation de la paroi cellulaire des champignons. En outre, cette activité chitinolitique favorise la germination des graines de blé.

L'amélioration de la qualité des plantes est associée à l'utilisation de déchets chitineux bénéfiques pour plusieurs raisons. Ces dispositifs augmentent l'accumulation des réserves dans les plantes, réduisent l'impact des agents pathogènes fongiques, stimulent la production d'hormones de croissance, améliorent la production de récepteurs antimicrobiens et influencent positivement les communautés microbiennes des racines, tout en contribuant globalement au maintien de la santé des plantes.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques :

- Ait-Slimane-Ait-kaki, Sabrina. "Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie." Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 2008.
- Aïzi, Djamel Eddine et Cheba, Ben Amar. "Influence of chitinous waste on soil bacterial community: biofertilizer effect and antifungal activity." *\*Procedia Technology\**, vol. 19, 2015, pp. 965-971.
- Akanza, Paul Kouadjo, et Annicet Hugues N'Da. "Effets de l'engrais sur la fertilité, la nutrition et le rendement du maïs: incidence sur le diagnostic des carences du sol." *\*Soc. Quest-Afr. Chim.\**, vol. 045, 2018, pp. 54-66. ISSN 0796-6687. Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 1740 Abidjan 01 Côte d'Ivoire.
- Akhtar, M.S. et Siddiqui, Z.A. "Use of plant growth-promoting rhizobacteria for the biocontrol of root-rot disease complex of chickpea." *\*Australasian Plant Pathology\**, vol. 38, no. 1, 2009, pp. 44-50.
- Aloub, Ahmed A. A., Ahmed E. Elesawy, et Esraa E. Aminar. "Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their role in plant-parasitic nematodes control: a fresh look at an old issue." *\*The A\**, vol. 2022, no. 1281305, 2022, pp. 1321-1348.
- Amadji, G. L., Saïdou, A., Sogbedji, J. M., et Igué, A. M. "Effet de l'apport de différents types d'engrais organiques sur la fertilité du sol et la production de la carotte (*Daucus carota* L.) sur sol ferrallitique au sud Bénin." *\*Revue internationale des sciences biologiques et chimiques\**, vol. 11, no. 5, 2017, pp. 203-214.
- Arabia, Wassila. "Étude de l'optimisation de la récupération de la chitine par fermentation de déchets marins." Mémoire de Magister en Génie de l'Environnement, École Nationale Polytechnique d'Alger, 2014.
- Armand, B., et Germain, M., eds. *\*Le blé: éléments fondamentaux et transformation\**. Preface by K.H. Tipples. Sainte-Foy: Les Presses de l'Université Laval, 1992.

## Annexe

---

- Arora, N.K., Tewari, S., et Singh, R. "Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs." In *\*Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances\**, pp. 411-449. New Delhi: Springer India, 2013.
- Bachiri, H. "Comportement de quelques génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) sous différents niveaux de régime hydrique et dans deux zones agro-climatiques contrastées en Algérie (subhumide et semi-aride)." Thèse de doctorat, ENSA, 2020.
- Bashan, Y., Holguin, G., & De-Bashan, L.E. (2004). Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *\*Canadian Journal of Microbiology\**, 50(8), 521-577.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., & El Enshasy, H. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*, 13, 1140.
- Bélan, A. (2023). Lutte biologique : définition, avantages, inconvénients. *\*ProjetEcolo\**, 26 June. Available at: <https://projetecolo.com/lutte-biologique-definition-avantages-inconvenients>.
- Belouti, F., & Hndi Djilani, S. (2018). Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes : étude et caractérisations. Mémoire de Master. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, Faculté des sciences et de la technologie, Département des sciences et de la technologie.
- Bendjida, H., & Aouadi, S. (2019). Effet promoteur des bactéries PGPR sur la croissance de la fève (*Vicia faba* L). Mémoire de fin d'étude. Université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie.
- Benduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L.M.P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *\*Genetics and Molecular Biology\**, 35, 1044-1051.

## Annexe

---

- Benzerrouk, K. (2013). Production des chitosanes et leur caractérisation. Mémoire de Master en Chimie de l'Environnement, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- Bornet, A., & Teissedre, P.-L. (2005). Intérêt de l'utilisation de chitine, chitosane et de leurs dérivés en œnologie. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 39(4), 199-207.
- Boufas, S. (2012). Étude des fluides à rhéologie complexe : Cas des biopolymères à base de chitosane/cellulose/alginate. Mémoire de Doctorat en Science, Université 8 Mai 1945 Guelma.
- Bouhachicha, G., Frifet, A.L., & Bouaroudj, K. (2023). Effets PGPR des bactéries endophytes isolées à partir des nodules du pois. Mémoire de Master. Université Frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Microbiologie.
- Bouhalit, S., & Gouadjelia, S. (2015). Étude structurale et fonctionnelle sur la chitinase famille 17 en utilisant des outils de bioinformatique. Mémoire de Master en Phytopathologie et Phytopharmacie, Université 8 Mai 1945 Guelma.
- Brunner, K., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S. L., Lorito, M., Kubicek, C. P. (2005). Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3959-3965.
- Charest, M. H., Beauchamp, C. J., & Antoun, H. (2005). Effects of the humic substances of de-inking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 52(2), 219-227.
- Chen, Y soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, 34(1), 33-41.
- Liang, C., Lin, X., Huang, J., Tang, Y., et al. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical Chet, I., & Inbar, J. (1994). Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 48(1), 37-43.
- Couvillon, G. A. (1998). Rooting Responses to Different Treatments. *Acta Horticulturae*, 227, 187-196.
- Crini, Grégorio, Badot, Pierre-Marie, Roberts, George A. F., et al. (2009). Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application. Presses Univ. Franche-Comté.

## Annexe

---

- De Zamaroczy, M., Liang, Y. Y., Kaminski, A., Arsene, F., & Elmerich, C. (1993). Régulation de la synthèse et de l'activité de NifA dans *Azospirillum brasilense* Sp7. In: Palacios, R., Mora, J., & Newton, W. E. (Eds.) *New Horizons in Nitrogen Fixation. Science végétale actuelle et biotechnologie dans l'agriculture*, vol. 17.
- Bossy, D. (2013). Avantages et inconvénients des engrais. *Journal of Environmental Quality. Futura-Sciences*. Publié initialement le 3 mai 2013.
- Demoulain, G., & Leymergie, C. (2009). Les algues, le trésor de la mer. Haute école de santé (heds), Filière Nutrition et diététique, pp. 1-7.
- Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2013). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biopesticides, alternatives aux produits phytosanitaires chimiques*, 18(2), 220-232.
- Djebbari, C., & Guemas, A. (2019). Production de l'enzyme chitinase par des champignons entomopathogènes cultivés sur deux milieux à base de déchets alimentaires (écorce de citrouille et d'escargot). Mémoire de Master en Sciences de la nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine 1, Département de Microbiologie, spécialité Mycologie et Biotechnologie Fongique, soutenu le 09/07/2019.
- Djehiche, Maroua, et Guergour, Noria. Synthèse sur l'effet des fertilisants chimiques et organiques sur la production du blé dur et la durabilité des sols. [Mémoire de master] Département de Biologie Et Ecologie Végétale, Université des Frères Mentouri Constantine, 2020.
- Dodd, S., Lieckfeldt, E., & Samuels, G. *Hypocrea atroviridis* sp. nov., the teleomorph of *Trichoderma atroviride*. *Mycologia*, 2003, vol. 95, no 1, pp. 27-40.
- Downie, J.A. Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Current Biology*, 2005, vol. 15, no 6, pp. R196-R198.
- Emmanuel, J., Marc, O. et Philippe, T. Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 2008, vol. 12, no 4, pp. 437-449.
- Ercisli, S., Esitken, A., Cangı, R. et Sahin, F. Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. *\*Plant Growth Regulation\**, 2003, vol. 41, pp. 133-137.
- Essabti, Fatima. Mise en œuvre de nanocomposites à matrice chitosane pour renforcer l'imperméabilité aux gaz de films d'emballage alimentaire. Mémoire de Doctorat, École Nationale Supérieure d'Arts et Métiers, 2018.

## Annexe

---

- Ezzahiri, B. Les maladies du blé : identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Transfert de technologie en agriculture, 2001, no 77, février, pp. 1-2.
- Faessel, L., Tostivint, C. et Schaller, N. Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes : état des lieux et perspectives. Rapport final d'une étude commanditée par le Centre d'Étude et de Prospective du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt. 2015, 8 p.
- FAO. Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. 2004.
- García Lucas, J.A., Schloter, M., Durkaya, T., Hartmann, A. et Gutiérrez-Mañero, F.J. Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. *\*Biology and Fertility of Soils\**, 2003, vol. 37, no 6, pp. 381-385.
- Godon, B. et Willm, C.L. Les industries de première transformation des céréales. *\*Coll. Agro. Alimentaire.\** Lavoisier, 1991, pp. 78-91.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. et Lorito, M. Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *\*Nature Reviews Microbiology\**, 2004, vol. 2, no 1, pp. 43-56.
- Hassainia, Abdelghani. Obtention du biopolymère «chitine» à partir du champignon «*Agaricus bisporus*»: extraction et caractérisation. Thèse de doctorat, spécialité Génie des Procédés, Université 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences et de la Technologie, Département de Génie des Procédés. Soutenue le 24 juin 2018.
- Houles, V., Guerif, M., Mary, B., Gate, P., Machet, J.M., Moulin, S. Élaboration d'un indicateur de nutrition azotée du blé basé sur l'indice foliaire et la teneur en chlorophylle pour la préconisation de doses d'azote. Hétérogénéité parcellaire et gestion des cultures\*, 2006, pp. 179-198.
- Jeuniaux, Charles et Thomé, Jean-Pierre. Production, extraction et utilisation technologique de la chitine à partir de communautés marines. *\*Océanis\**, 1990, vol. 16, no 5.
- Jeyanthi, S. et Kanimozhi, S. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) - Prospective and Mechanisms: A Review. *\*J Pure Appl Microbiol.\**, 2018, vol. 12, no 2, pp. 733-749.
- Jovana, Krier, François, et Jacques, Philippe. Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *\*Biotechnologie, agronomie, société et environnement\**, 2013.
- Kaymak, H.C., Yarali, F., Guvenc, I. et Donmez, M.F. The effect of inoculation with plant growth rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Mentha piperita* L.) cuttings. *\*African Journal of Biotechnology\**, 2008, vol. 7, pp. 4479-4483.

## Annexe

- Kempf, H.J. et Wolf, G. *Erwinia herbicola* as a biocontrol agent of *Fusarium culmorum* and *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* on wheat. *\*Phytopathology\**, 1989, vol. 79, pp. 990-994.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., & Oves, M. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *\*Environmental Chemistry Letters\**, 2009, vol. 7, pp. 1–19.
- Kirdi, B. et Zermane, N. Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites: *Orobanche crenata* Forsk. et *Cuscuta campestris* Yuncker. *\*Role of PGPR in plant growth promotion and control of the parasitic weeds: Orobanche crenata* Forsk. and *Cuscuta campestris* Yuncker.
- Kloepper, J. et Schroth, M. Development of a Powder Formulation of Rhizobacteria for Inoculation of Potato Seed Pieces. *\*Phytopathology\**, 1981, vol. 71, pp. 590-592.
- Kloepper, J.W., Gutierrez-Estrada, A. et Mcinroy, A. La photopériode régule le déclenchement de la stimulation de la croissance mais n'induit pas la résistance des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. *Revue canadienne de microbiologie*, 2007, vol. 53, p. 159-167.
- Kumar, V. 1999. Phosphorus and nitrogen management for sustainable agriculture. *\*Journal of Agronomy and Crop Science\**, vol. 182, no. 2, pp. 161-167.
- La Croix Agriculture : réduire les engrais azotés pourrait aussi être bénéfique pour les rendements. 2023. Available at: [<https://www.la-croix.com/environnement/Agriculture-reduire-engrais-azotes-pourrait-aussi-etre-benefique-rendements-2023-01091201249887#:~:text=Agriculture%20%3A%20r%C3%A9duire%20les%20engrais%20azot%20%C3%A9s%20pourrait%20aussi%20%C3%AAtre%20b%C3%A9n%C3%A9fique%20pour%20les%20rendements,Les%20faits&text=Une%20%C3%A9tude%20publi%C3%A9e%20dans%20la,sant%C3%A9%20et%20les%20rendements%20agricoles>](<https://www.la-croix.com/environnement/Agriculture-reduire-engrais-azotes-pourrait-aussi-etre-benefique-rendements202301091201249887#:~:text=Agriculture%20%3A%20r%C3%A9duire%20les%20engrais%20azot%20%C3%A9s%20pourrait%20aussi%20%C3%AAtre%20b%C3%A9n%C3%A9fique%20pour%20les%20rendements,Les%20faits&text=Une%20%C3%A9tude%20publi%C3%A9e%20dans%20la,sant%C3%A9%20et%20les%20rendements%20agricoles>).
- Laouedj, R. 2020. Impact de la biofertilisation sur la production de tomate (*\*Solanum lycopersicum\**) en phase pépinière. Mémoire de master. Blida : Université Blida-1, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de biotechnologies.
- Laradj Zazou, K. 2017. Isolement Et Caractérisation Des Rhizobactéries Promotrices De La Croissance Des Plantes Capables De Lutter Contre Le *Fusarium*. Thèse de doctorat. Sidi Bel Abbès: Université Djillali Liabès.

## Annexe

---

- Lee, S.J., Ka, J.O. et Song, H.G. 2008. Growth promotion of tomato plants by *Rhodopseudomonas* sp. under greenhouse conditions. *Journal of Microbiology*, vol. 46, no. 6, pp. 641-646.
- Lemanceau, P. 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemples des *Pseudomonas fluorescens*. *Agronomie*, vol. 12, pp. 413-437.
- Longa, C.M., Savazzini, F., Tosi, S., Elad, Y., & Pertot, I. 2009. Evaluating the survival and environmental fate of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 in vineyards in northern Italy. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 106, no. 5, pp. 1549-1557.
- Lucy, M., Peed, E. et Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 86, pp. 1-25.
- Mabood, F., Zhou, X. et Smith, D.L. 2014. Microbial signaling and plant growth promotion. *Canadian Journal of Plant Science*, vol. 94, no. 6, pp. 1051-1063.
- Maksem, N. 2018. Étude de l'effet biopesticide des extraits naturels de deux plantes de la famille des Myrtacées : *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus camaldulensis*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.
- Mansoura, K. 2007. Utilisation du chitosane comme agent flocculant dans le traitement des eaux. Mémoire. École Nationale Polytechnique, Département de Génie de l'Environnement, Laboratoire de Biotechnologie. Soutenance publique le 4 juin 2007.
- Mantelin, S. et Touraine, B. 2004. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany*, vol. 55, pp. 27-34.
- Margaret, M., Roper, N.A., Smith. 1991. Décomposition de la paille et activité nitrogénase (réduction de  $C_2H_2$ ) par les micro-organismes libres du sol: effets du pH et de la teneur en argile. *Biologie des sols et biochimie*, vol. 23, no. 3, pp. 275-283.
- Markovich, N. et Kononova, G. 2003. Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in plant defense from fungal diseases: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 39, no. 4, pp. 341-351.
- McCarthy, A.J. et Williams, S.T. 1992. Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment. *Gene*, vol. 115, pp. 189-192.
- Mohanty, D., Adhikary, S.P. et Chattopadhyay, G.N. 2013. Seaweed liquid fertilizer (SLF) and its role in agriculture productivity. The Ecoscan: International quarterly journal of environmental sciences, Special issue, vol. III, pp. 147-155.
- Morsli, L. 2010. Adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.

## Annexe

---

- Mosalaei Rad, S., Ray, A.K., et Barghi, S. 2022. Pollution de l'eau et pesticides agricoles. \*Technologie propre\*, vol. 4, no. 4, pp. 1088-1102.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. et Nawaz, S. 2013. Mitigation of salinity-induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. \*Annals of Microbiology\*, vol. 63, no. 1, pp. 225-232.
- Nagorska, K., Bikowski, M., Obuchowski, M. 2007. Multicellular behavior and production of a wide variety of toxic substances support usage of \*Bacillus subtilis\* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica*, vol. 54, pp. 495-508.
- Paul, C. 2007. Céréale et alimentation: une approche globale. *Agriculture Environnement Prairies*. Coll. Sciences et Techniques Agricoles. 17ème éd. 464 p.
- Popp, J., Petö, K. et Nagy, J. 2013. Productivité des pesticides et sécurité alimentaire : une revue. *Agronomie pour le développement durable*, vol. 33, p. 243-255.
- Probanza, A., García, J.L., Palomino, M.R., Ramos, B., & Mañero, F.G., 2002. *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*, 20(2), pp.75-84.
- Qureshi, M.A., Ahmad, Z.A., Akhtar, N., Iqbal, A., Mujeeb, F., & Shakir, M.A., 2012. Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1), pp.204-210.
- Roopavathi, A. Sally, Vigneshwari, R., & Jayapradha, R., 2015. Chitinase: production and applications. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(5), pp.924-931.
- Rym, Salah, 2005. Préparation d'oligosaccharides à partir d'une biomasse marine : La chitine. *Mémoire de Magister en Génie de l'Environnement, École Nationale Polytechnique*.
- Saharan, B.S., & Nehra, V., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011, LSMR-21.
- Sahgal, M., & Johri, B.N., 2006. Taxonomy of Rhizobia: current status. *Current Science*, 90(4), p.488.
- Silverio, F., Alvarenga, E. de, Moreno, S., & Picanco, M., 2009. Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. *Pest Management Science*, 65, pp.900-905.
- Somers, E., Vanderleyden, J., & Srinivasan, M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, 30(4), pp.205-240.
- The Insight Partners, 2023. Politique d'annulation ou de remboursement, FAQ, Nos valeurs. [online] Available at: <https://www.theinsightpartners.com>.

## Annexe

---

- Tokala, R.K., Strap, J.L., Jung, C.M., Crawford, D.L., Hamby, Salove, M., Deobald, L.A., Bailey, J.F., & Morra, M.J., 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC-108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*, 68, pp.2161-2171.
- Truong, T.O., Hausler, R., Monette, F., & Niquette, P., 2007. Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. *Revue des sciences de l'eau*, 20(3), pp.253-262.
- Whipps, J.M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52, pp.487-511.
- Yacine, N.A., 2014. Impact d'un biofertilisant liquide sur la croissance, la production et la qualité de la tomate. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques, Option: Amélioration des productions végétales, Université de Blida 1, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Département de biotechnologie végétale, Blida.
- Yang, J., Kloepper, J.W., & Ryu, C.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14, pp.1-4.
- Zeroual, A.N., & Kellali, A.A., 2018-2019. Transformation de la chitine en chitosane: caractérisation et étude de la solubilité. Mémoire de Master en Chimie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, FSEI, Faculté des Sciences Exactes et d'Informatique, Département de Chimie, Option Chimie Appliquée.
- Zhang, Y., & Collins, A.L., 2022. Optimisation of Cereal Farm Strategies for Mitigating Externalities Associated with Intensive Production. *Water*, 15(1), p.169.
- Zuang, H., 1982. La fertilisation des cultures légumières. Éd. S.T.I.F.L., p.349.



# ANNEXE

## Annexe

### coloration de gram (Hans Christian Gram, 1884) :

1. Déposer une goutte d'eau sur une lame bien propre.
2. Prélever un échantillon de colonie à l'aide d'une anse et mélanger avec la goutte d'eau,
3. strier et sécher par passage rapide sur flamme d'un bec bènezene.
4. Couvrir les frottis par violet de gentiane pendant 60 seconds.
5. Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
6. Couvrir avec du lugol pendant 30 secondes.
7. Laver à l'eau distillée pendant 5seconds.
8. Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool-acétone ou avec de l'éthanol en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette.
9. Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
10. Couvrir avec la fuschine (ou sarfanine) pendant 60 secondes.
11. Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes et mettre la lame inclinée sur du papier absorbant.
12. Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement. Les cellules Gram+ absorbant la couleur du violet de gentiane et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

### Les formules de détermination des teneurs en chlorophylles réalisée :

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

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

$$\text{➤ Caroténoïdes } (\mu\text{g} / \text{g MF}) = 1000 \times \text{DO}_{(470)} - [1,82 \times \text{Chl a} - 85,02 \times \text{Chl b}] / 198.$$

V : Volume solution extraite.

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