

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Productions végétales

القسم : الإنتاج النباتي

Spécialité : Ressources génétiques et amélioration
des productions végétales

التخصص : الموارد الوراثية وتحسين الإنتاج النباتي

Mémoire De Fin D'études

Pour l'obtention du Diplôme de Master

THEME

***Développement et évaluation des formules de bio engrais à
base de consortia de rhizomicrobiome***

Présenté par : **Mme BOUDJAHOU D Rania** Soutenu Publiquement le : 16 /10 /2024

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. ABIDI Lila (MCA, ENSA)
Promoteur : M. RAHMOUNE Bilal (MCA, ENSA)
Examineur : M. KADRI Adel (MCA, ENSA)
Examinatrice : Mme. DJEBARI Bahria (MCB, ENSA)

Promotion : 2019-2024

Table des matières :

DEDICACES.....	I
REMERCIEMENTS.....	II
LISTE DES TABLEAUX.....	XI
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES ABREVIATION.....	XIV
Introduction	1
Chapitre 1 : Microbiome végétal et PGPR.....	5
1 Définitions et généralités	5
1.1 Microbiote	5
1.2 Microbiome	5
1.2.1 Microbiome rhizosphérique	6
1.2.2 Microbiome phyllosphérique	7
1.2.3 Microbiome endosphérique.....	8
2 Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR).....	8
2.1 Définition et généralités.....	8
2.2 Interactions des PGPR dans la rhizosphère	8
2.2.1 Interaction bactérie- plante.....	8
2.2.2 Interaction bactérie – bactérie	9
2.2.3 Interaction bactérie-environnement.....	9
2.3 Différents genres de PGPR.....	10
2.3.1 Bactéries du genre <i>Pseudomonas</i>	10
2.3.2 Bactéries du genre <i>Bacillus</i>	10
2.3.3 Bactéries du genre <i>Azospirillum</i>	10
2.3.4 Bactéries du genre <i>Azotobacter</i>	10
2.3.5 Bactéries du genre <i>Rhizobium</i>	11
2.4 Mécanismes d’actions des PGPR	11
2.4.1 Mécanismes directs	11
2.4.2 Mécanismes indirects	14
2.5 Rôle des PGPR dans l’agriculture	16
2.5.1 Acquisition des nutriments et amélioration des rendements	16
2.5.2 Bioremédiation	16
2.5.3 Biocontrôle	17

Chapitre 2 : Ingénierie de microbiome.....	19
1 Définition et généralité.....	19
2 Ingénierie du microbiome végétal.....	19
3 Comment les plantes hôte recrutent leur microbiome ?.....	20
4 Ingénierie du microbiome du sol	20
5 Approches d'ingénierie du microbiome végétal /sol	20
5.1 Consortium microbien artificiel.....	20
5.2 Reproduction et transplantation du microbiome	21
5.3 Microbiome médié par l'hôte	21
5.4 Amendement du sol	21
6 Importance des « omiques » dans l'ingénierie de microbiome.....	22
6.1 Métagénomique	22
6.2 Transcriptomique	22
6.3 Protéomique.....	22
6.4 Métabolomique.....	23
7 Tendances actuelles de l'ingénierie de microbiome	23
Chapitre 3 : Engrais et bioengrais	25
1 Engrais chimique et leurs impacts sur l'environnement	25
2 Définition d'un biofertilisant microbien	26
3 Formulation d'inoculant de PGPR.....	27
3.1 Processus de formulation.....	27
3.2 Formulations utilisant une souche unique ou un consortium de bactéries PGPR	28
3.3 Formulations liquides	28
3.4 Formulations solides.....	Erreur ! Signet non défini.
3.5 Formulations granulaires	29
3.6 Formulations piégées dans des polymère (encapsulées)	29
4 Encapsulation et microencapsulation.....	29
5 Techniques de microencapsulation de formules PGPR	29
5.1 Technique d'extrusion	29
5.2 Technique d'émulsion.....	30
5.3 Technique de séchage par lyophilisation	30
5.4 Technique de séchage par atomisation	31
6 Importance de l'encapsulation des PGPR.....	31

Matériel et méthodes	33
1 Objectif du travail	33
2 Lieu d'expérimentation	33
3 Matériel utilisé	33
3.1 Matériel bactérien	33
3.2 Matériel fongique	33
3.3 Matériel végétal	34
3.4 Sol agricole	34
4 Méthodes utilisées	34
Partie 1 : Isolement et caractérisation des souches PGPR	
4.1 Purification des souches PGPR	34
4.2 Caractérisation macroscopique	35
4.3 Caractérisation microscopique	35
4.3.1 Coloration de gram	35
4.4 Caractéristiques biochimiques :	36
4.4.1 Milieu mannitol mobilité	36
4.4.2 Test oxydase	36
4.4.3 Test API 20 E	37
4.4.4 Production d'HCN	37
4.4.5 Étude du potentiel antifongique <i>in vitro</i> des souches bactériennes :	38
5 Courbe de croissance des souches PGPR	39
6 Évaluation de la tolérance des PGPR aux stress abiotiques	39
6.1 Tolérance au stress salin	39
6.2 Tolérance à la température	39
6.3 Tolérance du pH	39
7 Extraction d'Adn bactérien	39
7.1 Analyse de la quantité de l'ADN par Nano Drop	43
Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais	
1. Protocole de formulation de bioengrais	43
2. Formulation des bioengrais	44
3. Microencapsulation de bioengrais	44
4. Principe de fonctionnement du dispositif	46

Partie 3 : Evaluation du potentiel de bioengrais développés

1. Stérilisation et mise en germination des graines.....	47
2. Protocole expérimental.....	47
3. Paramètres étudiés.....	48
4. Analyses statistiques des données.....	49
Résultats	51
1 Partie 1 : Caractérisation et identification des souches	
1.1 Caractérisation macroscopique.....	51
1.2 Caractérisation microscopique	51
1.3 Caractérisation biochimique	52
1.3.1 Test Mannitol mobilité	52
1.3.2 Test oxydase	53
1.3.3 Test Api 20 E	53
1.3.4 Test HCN.....	55
1.3.5 Etude de l'action antagoniste des PGPR à l'égard de <i>Fusarium oxysporum</i>	56
1.3.6 Évaluation de la croissance des PGPR aux stress abiotiques.....	57
1.4 Courbe de croissance	59
1.5 Quantification de l'ADN des souches PGPR	60
2 Partie 2 : Développement et élaboration des formules de bioengrais	
2.1 Sélection, formulation et élaboration des bioengrais.....	61
2.2 Microencapsulation des bioengrais	62
3 Partie 3 : Évaluation du potentiel des formules	
3.1 Effet des formules (bioengrais) sur la hauteur des tiges du blé	62
3.2 Effet des formules sur la teneur en chlorophylle	64
Discussion	66
Conclusion.....	73
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Résumé

L'exploitation des ressources naturelles, notamment les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) et les techniques avancées de modulation du microbiome, constitue une voie prometteuse pour optimiser les rendements agricoles et restaurer la fertilité des sols. Notre étude vise à caractériser 6 souches de PGPR dans l'optique de les exploiter pour l'élaboration de biofertilisants innovants, en privilégiant des consortia de souches intégrales. Les souches de PGPR ont montré un potentiel de promotion de la croissance varié, notamment par leur capacité à produire des substances de biocontrôle (HCN), à fermenter des sucres et à exercer un pouvoir antifongique. Les résultats obtenus mettent en évidence des isolats dotés de caractéristiques PGP remarquables, qui se sont révélés être des bactéries à Gram négatif avec des capacités variées de promotion de la croissance des plantes et de biocontrôle contre le champignon *Fusarium oxysporum*. La capacité des souches à résister à trois types de stress abiotiques, à savoir la salinité, le pH et les températures élevées, a été examinée, et celles-ci ont montré un potentiel de tolérance remarquable, notamment les souches S17, S25 et S8. Par la suite, huit formules de bioengrais ont été élaborées en se basant sur les propriétés phytostimulatrices des souches, en utilisant une technique d'encapsulation dans une matrice d'alginate-cellulose. Leur potentiel biostimulant a été évalué sur une culture de *Triticum durum* de la variété Oued El Bared, tant dans un sol pauvre que dans un sol normal. La formulation F1 s'est distinguée comme la plus performante, talonnée de près par la F5 et F2, démontrant une efficacité phytostimulatrice exceptionnelle pour les variables examinées. Ce biofertilisant a engendré des améliorations notables par rapport au témoin, avec des augmentations de 42,18% pour la hauteur des tiges en fin de culture, 24,45% pour la teneur en chlorophylle. Cette approche biotechnologique vise à favoriser une agriculture durable et respectueuse de l'environnement en manipulant le microbiome rhizosphérique. Elle ouvre la voie à des innovations agronomiques qui optimisent les rendements tout en préservant l'intégrité des écosystèmes.

Mots clés : PGPR, Bioengrais, Encapsulation, Consortia, Ingénierie de Microbiome, Blé dur

Abstract

Exploiting natural resources, including plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and advanced microbiome modulation techniques, is a promising avenue for optimising agricultural yields and restoring soil fertility. The aim of our study is to characterise 6 PGPR strains with a view to using them to develop innovative biofertilisers, giving priority to consortia of integral strains. The PGPR strains showed a wide range of growth-promoting potential, in particular through their ability to produce biocontrol substances (HCN), ferment sugars and exert antifungal properties. The results highlight isolates with significant PGP traits, characterized as Gram-negative bacteria exhibiting diverse abilities to enhance plant growth and exert biocontrol activity against the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. The strains were tested for their ability to withstand three types of abiotic stress, namely salinity, pH and high temperature, and they showed remarkable tolerance potential, particularly strains S17, S25 and S8. Then, eight biofertilizer formulations were then developed based on the phytostimulant properties of the strains, using an encapsulation technique in an alginate-cellulose matrix. Their biostimulant potential was evaluated on a crop of *Triticum durum* of the Oued El Bared variety, in both poor and normal soil. The F1 formulation stood out as the best performing, closely followed by F5 and F2, demonstrating exceptional phytostimulant efficacy for the variables examined. This biofertiliser produced significant improvements over the control, with increases of 42.18% in stem height at the end of the crop and 24.45% in chlorophyll content. This biotechnological approach aims to promote sustainable, eco-friendly agriculture by engineering the rhizosphere microbiome. It paves the way for agronomic innovations that optimise yields while preserving the integrity of ecosystems.

Key words: PGPR, Biofertilizer, Encapsulation, Consortia, Microbiome engineering, Durum wheat

ملخص

يعد استغلال الموارد الطبيعية، بما في ذلك البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النباتات وتقنيات تعديل الميكروبيوم المتقدمة، وسيلة واعدة لتحسين المحاصيل الزراعية واستعادة خصوبة التربة. بفضل مجموعة واسعة من خدمات النظام الإيكولوجي التي تمنحها. تهدف هاته الدراسة إلى توصيف 6 سلالات من البكتيريا المعززة لنمو النباتات من أجل استخدامها لتطوير مخصبات حيوية مبتكرة، وهذا عن طريق استعمال لاتحادات السلالات المتكاملة. أظهرت سلالات بكتيريا PGPR النشطة بيولوجياً مجموعة واسعة من الإمكانيات المعززة للنمو، لا سيما من خلال قدرتها على إنتاج مواد المكافحة الحيوية (HCN)، وتخمير السكريات وممارسة خصائص مضادة للفطريات. وتسلط النتائج الضوء على العزلات ذات الخصائص المميزة على أنها بكتيريا سالبة الجرام و ذات قدرات متنوعة على تعزيز نمو النباتات والمكافحة الحيوية ضد فطر الفيوزاريوم أوكسي سبوروم *Fusarium oxysporum*. تم اختبار سلالات PGPR من حيث قدرتها على تحمل ثلاثة أنواع من الإجهاد اللاأحيائي، وهي الملوحة ودرجة الحموضة ودرجة الحرارة المرتفعة، وأظهرت قدرة تحمل ملحوظة، خاصة السلالات S17 و S25 و S8. ثم تم تطوير ثماني تركيبات لاتحادات بكتيرية بناءً على خصائص المحفزات النباتية للسلالات، باستخدام تقنية التغليف في مصفوفة ألجينات-سليولوز. تم تقييم إمكانيات المحفزات الحيوية لهذه السلالات على محصول من القمح الصلب *Triticum durum* من صنف وادي البارد، في نوعين من التربة الفقيرة والعادية. برزت التركيبة F1 كأفضل التركيبات أداءً، تليها F5 و F2، مما يدل على فعالية استثنائية في التحفيز النباتي للمتغيرات التي تم فحصها. أظهر هذا المخصب الحيوي تحسينات كبيرة مقارنةً بالمركب الضابط، مع زيادة بنسبة 42.18% في ارتفاع الساق في نهاية المحصول و 24.45% في محتوى الكلوروفيل. يهدف هذا النهج التكنولوجي الحيوي إلى تعزيز الزراعة المستدامة والصديقة للبيئة من خلال تعديل وهندسة الميكروبيوم الغلاف الجذري PGPR مما يمهد الطريق للابتكارات الزراعية التي تعمل على تحسين الغلة مع الحفاظ على سلامة النظم الإيكولوجية.

الكلمات المفتاحية: PGPR، التسميد الحيوي، التغليف، الاتحادات البكتيرية، هندسة الميكروبيوم، القمح الصلب