



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 : Botanique

القسم: علم النبات

Spécialité : Interaction plantes-pathogènes et
Protection des plantes

التخصص: تفاعل النباتات – ممرضات النباتات و حماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THÈME

**Caractérisation des *Pseudomonas* et de quelques bactéries isolées à
partir de la rhizosphère du petit pois et de la luzerne**

Présenté par : Mlle. Youcef Mosbahi Fatima Zahra Soutenu publiquement le : 05/10/2023

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. LASSOUANE N. MCA (ENSA).

Promotrice : Mme. KHENFOUS-DJEBARI B. MCB (ENSA).

Examinatrice : Mme. BOUANANE DARENFED A. Professeur (USTHB).

Examinatrice : Mme. LAALA S. MCA (ENSA).

Promotion : 2018 / 2023

TABLES DES MATIERES

LISTES DES ABREVIATIONS.....	VI
LISTES DES TABLEAUX.....	VII
LISTES DES FIGURES.....	IX
INTRODUCTION.....	X
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	1
1 Généralités sur la culture du petit pois.....	2
1.1 Origine du petit pois.....	2
1.2 Classification botanique de l'espèce du petit pois.....	3
1.3 Description botanique de l'espèce du petit pois.....	4
1.4 Intérêt nutritionnel et agronomique du petit pois.....	5
1.5 Importance économique du petit pois.....	5
1.5.1 Dans le monde.....	5
1.5.2 En Algérie.....	5
1.6 Contraintes et aspect phytosanitaire du petit pois.....	6
1.6.1 Stress abiotiques.....	6
1.6.2 Stress biotiques.....	7
2 Généralité sur la culture de la luzerne.....	8
2.1 Origine de la luzerne.....	8
2.2 Taxonomie et classification botanique.....	9
2.3 Morphologie	9
2.4 Intérêt de la luzerne.....	10
2.4.1 Intérêt agronomique.....	10
2.4.2 Intérêt zootechnique.....	11
2.4.3 Intérêt nutritionnel.....	11

2.4.4	Importance socio-économique.....	11
2.5	Importance économique de la luzerne.....	11
2.5.1	Dans le monde.....	11
2.5.2	En algérie.....	11
2.6	Aspect phytosanitaire des légumineuses fourragères.....	12
3	Bactérioses des légumineuses.....	12
3.1	Bactérioses dues aux <i>Pseudomonas</i>	12
3.1.1	Généralités sur les <i>Pseudomonas</i>	12
3.1.2	La graisse bactérienne du pois « Pea blight »	14
3.1.3	Halo blight of beans.....	16
3.1.4	La graisse du haricot « Bacterial blight of bean ».....	17
4	Généralités sur la rhizosphère.....	19
4.1	Définition	19
4.2	La communauté microbienne de la rhizosphère.....	19
4.3	PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria.....	20
4.4	Mode action.....	21
4.4.1	Mode direct.....	21
4.4.1.1	Fixation d'azote.....	21
4.4.1.2	Solubilisation des phosphates.....	21
4.4.1.3	Production des sidérophores et compétition pour le fer.....	21
4.4.1.4	Production des phytohormones.....	21
4.4.1.5	Production des enzymes ACC désaminase.....	22
4.4.2	Interactions indirectes PGP/Plante.....	22
4.4.2.1	Compétition pour l'espace et les nutriments.....	22

4.4.2.2	Antibiose.....	22
4.4.2.3	Parasitisme.....	22
4.4.2.4	Résistance systémique induite ou ISR.....	22
4.4.2.5	Production des VOCs (Volatile Organic Compounds)	23
4.5	Effet stimulant de <i>Pseudomonas</i>	23
4.6	Les <i>Pseudomonas</i> promoteur de croissance (PGP) en tant qu'agents de lutte biologique.....	23
	MATERIELS ET METHODES.....	24
5	MATERIELS ET METHODES.....	25
5.1	Matériel biologique.....	25
5.1.1	Sol rhizosphérique.....	25
5.2	Présentation des régions d'étude.....	25
5.2.1	Localisation géographique.....	25
5.3	Prélèvement des échantillons.....	26
5.4	Méthodes.....	26
5.5	Isolements	27
5.5.1	Préparation de la suspension mère et dilutions décimales.....	27
5.5.2	Ensemencement.....	27
5.5.3	Lecture des boîtes d'isolement et notations.....	27
5.5.4	Repiquage et purification.....	28
5.6	Conservation des isolats.....	28
5.7	Sélection des isolats.....	28
5.7.1	Principe de tri des isolats.....	28
5.7.2	Recherche des pigments fluorescents.....	29
5.7.3	Détermination du gram au Koh à 3.....	29
5.7.4	Recherche de la réaction d'hypersensibilité au tabac.....	29
5.8	Tests biochimiques.....	30

5.8.1 Recherche de la catalase.....	30
5.8.2 Recherche des enzymes cytochromes oxydases.....	30
5.8.3 Mode d'utilisation du glucose.....	30
5.8.4 Recherche de l'enzyme levane sucrase.....	31
5.8.5 Recherche des enzymes pectinolytiques.....	31
5.9 Tests biochimiques complémentaires sur Galerie Api 20 E.....	31
5.10 Vérification du pouvoir pathogène.....	32
5.10.1 Préparation du matériel végétal.....	32
5.10.2 Préparation de l'inoculum.....	32
5.10.3 Inoculation des plantules.....	33
5.11 Mise en évidence de l'activité antagoniste des <i>Pseudomonas</i>	34
5.11.1 Matériel biologique utilisé pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	34
5.11.2 Confrontation des <i>Pseudomonas</i> pathogènes avec les <i>Pseudomonas</i> non pathogènes.....	34
5.11.2.1 Technique des stries croisée (Cross streak) par confrontation déphasée.....	34
5.11.2.2 Technique des cultures en spots par la confrontation simultanée.....	34
5.12.2 Utilisation des biofertilisants.....	35
6 RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	36
6.1 Isolement sur milieux de culture.....	37
6.2 Purification des isolats.....	38
6.3 Caractérisation des isolats obtenus.....	39
6.4 Caractérisation et tri des isolats.....	40
6.4.1 Détermination du gram au KOH à 3.....	40
6.4.2 Mode d'utilisation du glucose.....	40
6.4.3 Recherche de la réaction d'hypersensibilité sur tabac.....	40
6.5 Etude des caractères biochimiques.....	41

6.6	Résultats des tests relatifs à la caractérisation du genre.....	41
6.6.1	Recherche des enzymes pectinolytiques.....	42
6.6.2	Recherche de l'enzyme levance sucrose.....	42
6.6.3	Recherche des enzymes cytochromes oxydases.....	42
6.6.4	Recherche de la catalase.....	42
6.7	Les résultats obtenus avec les tests de la galerie API 20 E.....	42
6.7.1	Utilisation du citrate.....	43
6.7.2	Gélatinase.....	43
6.7.3	Libération d'ammoniac à partir de l'urée.....	43
6.7.4	Production de sulfure d'hydrogène.....	43
6.7.5	Hydrolyses des sucres.....	46
6.8	Identification des isolats.....	48
6.9	Etude du pouvoir pathogène sur le petit pois.....	49
6.10	Mise en évidence de l'activité antagoniste des <i>Pseudomonas</i>	51
6.11	Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	51
6.11.1	Confrontation des <i>Pseudomonas</i> non pathogènes avec les <i>Pseudomonas</i> pathogènes.....	51
6.11.1.1	Technique de stries croisés.....	51
6.11.1.2	Technique des spots.....	51
6.12	Utilisation des biofertilisants.....	52
	CONCLUSION GENERALE.....	55
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	58
	ANNEXES.....	71
	RESUME.....	82

Résumé

La culture des légumineuses présente un intérêt écologique et économique, apportant de nombreux bénéfices au système agricole. Certaines espèces sont utilisées comme fourrage, tandis que d'autres sont destinées à la consommation humaine. Leurs exsudats racinaires, riches en substances, attirent une flore microbienne diversifiée qui contribue à structurer naturellement le sol. Parmi ces micro-organismes, le genre *Pseudomonas* spp. est particulièrement étudié pour son rôle dans la stimulation de la croissance de nombreuses plantes, y compris les légumineuses. L'objectif de cette étude est d'analyser, d'isoler et d'identifier les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* présentes dans la rhizosphère du petit pois et de la luzerne. Certaines de ces bactéries peuvent s'avérer pathogènes pour les cultures, d'autres sont bénéfiques et contribuent au développement végétal grâce à leurs propriétés PGPR. Les analyses ont révélé la présence dominante de *Pseudomonas* parmi d'autres genres. Certaines souches ont montré des propriétés antagonistes, indiquant leur potentiel bénéfique en agriculture.

Mots-clés : *Pseudomonas* spp., PGPR rhizosphérique, antagonisme.

Abstract

Leguminous crops are of ecological and economic interest, and bring many benefits to the agricultural system. Some species are used for fodder, while others are edible for human consumption. Their root exudates, rich in sugars, attract and maintain a rich microbial flora which in turn contribute to the natural structuring of the soil and its proper functioning. Among the components of this microflora, fluorescent *Pseudomonas* spp. considered to be non-symbiotic PGPRs, have been extensively studied and experimented with, especially in relation to their performance in phytostimulating the growth of many plants, including leguminous. The aim of this study is to analyze rhizospheric soil samples, isolate, identify and characterize bacteria belonging to the genus *Pseudomonas* in the rhizosphere of pea and alfalfa. Some bacteria belonging to this genus are phytopathogenic and can cause major damage to these crops, while others are beneficial to crops and can contribute to plant development owing to their PGPR properties. Analysis of rhizosphere soil samples from peas and alfalfa revealed the presence of several genera, including the predominant *Pseudomonas*. Among the bacteria belonging to the *Pseudomonas* genus, some showed pathogenicity on host plants, while a number of strains proved non-phytopathogenic and showed antagonistic power, in vitro, towards phytopathogenic bacteria from the same soil samples. This study reveals the richness of the rhizosphere microflora and the importance of studying bacterial interactions in the rhizosphere of leguminous plants.

Keywords: *Pseudomonas* spp, Rhizosphere PGPR, antagonism

ملخص

تعتبر زراعة البقوليات من أبرز الأنشطة الزراعية ذات الأهمية البيئية والاقتصادية، حيث تقدم فوائد متعددة للنظام الزراعي. تستعمل بعض هذه الأصناف كغذاء للحيوانات، بينما تُعد الأصناف الأخرى مناسبة للاستهلاك البشري. تساعد إفرازات الجذور، التي تكون غنية بالمواد العضوية، على جذب مجموعة متنوعة من الميكروبات التي تساهم في تحسين بنية التربة. من هذه الميكروبات، يعتبر البكتيريا من نوع "*Pseudomonas* spp." محورًا للبحوث بفضل قدرتها على تعزيز نمو العديد من النباتات وخصوصًا البقوليات. هدف هذه الدراسة هو استخراج وتحديد البكتيريا التابعة لجنس *Pseudomonas* الموجودة في المنطقة المحيطة بجذور البازلاء والبرسيم. وتظهر الأبحاث أن بعض هذه البكتيريا قد تتسبب في أضرار للمحاصيل، بينما الأنواع الأخرى تُفيد الزراعة وتساعد في تطوير النباتات بفضل خصائصها كمحفزات لنمو النبات. وقد كشفت النتائج عن تواجد نسبة مرتفعة من البكتيريا من نوع *Pseudomonas* بالمقارنة مع أجناس بكتيرية أخرى. كما أوضحت بعض السلالات خواص مضادة تشير إلى فوائدها المحتملة في العمليات الزراعية.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas* spp، محفزات نمو النباتات في الجذور، التأثير المضاد.