REPUBLIQUE *AL*GERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme du master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spéci*al*ité : Microbiologie Appliquée

Isolement, caractérisation phénotypique et éval*ua*tion de l'effet antagoniste des souches isolées à partir du sol agricole

Présenté par :

HADDADI Kh*al*ida

MAKHLOUF Samira

REBAHIE Mohamed

Soutenu publiquement le 21/06/2022 Devant le jury compose de :

Président	CHAMI.B	MAA	Université de Médéa
Examinatrice	BOUHRAMA.A	MCB	Université de Médéa
Encadrante	CHAOUATI. K	MAA	Université de Médéa
Co-Encadrante	HOUCEINI.A	MCB	Université de Médéa

Année Universitaire : 2021/2022

REPUBLIQUE *AL*GERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme du master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spéci*al*ité : Microbiologie Appliquée

Isolement, caractérisation phénotypique et éval*u*ation de l'effet antagoniste des souches isolées à partir du sol agricole

Présenté par :

HADDADI Kh*al*ida

MAKHLOUF Samira

REBAHIE Mohamed

Soutenu publiquement le 21/06/2022 Devant le jury compose de :

Président	CHAMI.B	MAA	Université de Médéa
Examinatrice	BOUHRAMA.A	MCB	Université de Médéa
Encadrante	CHAOUATI. K	MAA	Université de Médéa
Co-Encadrante	HOUCEINI.A	MCB	Université de Médéa

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements et Dédicaces

Remerciements

Avant tout, nous remercions ***Allah*** *le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la santé et de nous avoir permis d'arriver à ce stade-là.*

Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadrante ***Mme CHAOUATI Karima*** *qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses qualités humaines et ses compétences pédagogiques one été pour nous un modèle à suivre, ils ne cessent de nous inspirer.*

Nous remercions également notre maitre de stage ***Mlle HOCINIE Amina****, d'avoir acceptés de co-encadrer notre travail. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.*

Nos remerciements les plus chaleureux vont au président du jury, ***M. CHAMI Bouaza*** *et à madame l'examinatrice* ***Mme BOUHRAMA Amina*** *qui nous ont honoré avec leurs présences. Nous les remercions parce qu'ils ont accepté volontairement et aimablement de juger et d'examiner ce travail et ils ont consacré de leurs temps afin de l'enrichir par leurs propositions.*

Nous tenons à remercier ***Mme BAKHTI.K*** et toute l'équipe de l'unité antibotic*al*-médic*al* SAID*AL* Médeèa***,*** *d'avoir nous accueillir au sein de leur département pour faire notre stage et clôturer notre travaille.*

Nous remercions également toute l'équipe de laboratoire de Faculté des Sciences d'Université de Médéa, ***Mme TIFFOURA Amina, Faiza et Fatma*** *pour leurs aides et leurs gentillesses.*

A toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire, nous vous remercions.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mon exemple éternel, la personne la plus digne de mon estime et de mon respect, à toi mon père que dieu te garde.

La source de mes efforts, ma vie et mon bon bonheur, maman que j'adore.

Une spéci*al*e dédicace à mes très chères sœurs Imane, Asma, Ichrak et leurs enfants Serine, kaouther et Younes pour leurs soutiens, leurs aides et leur encouragement.

A ma grande mère, Mon oncle et mes tantes.

A mes copines Maghi, Meriem, Ahlem, Kh*al*ida et Fairouz.

Samira

Dédicaces

Je remercie tout d'abord le bon Dieu tout puissant qui m'a donné la force, le courage et la volonté pour terminer ce travaille.

Aux deux plus chères être dans ma carrière. La flamme qui éclaire ma vie et la source de tendresse, d'amour et de sacrifice. Bien sûr et sans aucune doute, je parle de ma mère bien aimé « **Houriya** ». Et aussi mon cher père « **Omar** » à qui je demande à *Al*lah d'avoir pitié de lui et de faire entrer au ciel.

A mes chère frères et sœurs **Wafia, Samia, Bachir, Naw*al*, Hayat et Moustafa** je vous souhaite un avenir bien de joie, de réussite et de sérénité.

Et je suis très reconnaissant envers celui qui a été mon soutien, mon bras droite, mon guide vers le droit chemin et le choix le plus correcte que je fais dans tous les aspects de ma vie. Sans aucun doute, je parle de toi « **Kh*al*ida** »

Je remercier ég*al*ement **Samira** pour les efforts déployés et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, Merci.

Mohamed

Dédicaces

Je remercie ***Allah*** le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour ré*al*iser ce modeste travail.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, ma source d'affectation de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie, ma mère « **Zahra** ». J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

Mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir, Source de respect, en Témoignage de ma profonde reconnaissance, pour tout l'effort et le soutien incessant qui m'a toujours apporté mon père « **Aissa** ». Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

Ma deuxième maman, ma chère sœur «**Hadjira**» et son mari « **Sihrii** »et notre petit prince **Abd El Monim** qui va venir prochainement incha*al*ah, Merci pour être à mes coté, que Dieu vous préserve santé, bonheur et longue vie.

À la jumelle de mon âme, ma sœur **Khoukha**, ma chère sœur **Amel** et à mes chère frères **Abdo, Yassine, Mohamed.** Je vous souhaite un avenir bien de joie, de réussite et de sérénité.

Je ne pourrais jamais exprime l'attachement et l'affection qui j'ai pour Vous, aucun mot ne pourrait exprimer la gratitude et l'amour qui je vous porte, je suis très reconnaissant envers celui qui a été mon soutien, mon bras droite, mon guide vers le droit chemin et le choix le plus correcte que je fais dans tous les aspects de ma vie « **Dibo** ».

Je dédie ce travail à toutes mes copines **Fairouz, Maroua, S*al*ima, Samira, Wiam, Farida, Ahlem, Ratiba, Soumia, Sanaa**, **Zahra**. qui m'ont toujours encouragé, poussé et motivé dans mes études, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Khalida

Résumé

Résumé :

Ces dernières années, le monde a été témoin d'une grande diversité de micro-organismes dont le plus important est peut-être les bactéries.

Les bactéries peuvent causer des dommages au niveau des cultures. La détection rapide de certaine de ces agents phytopathogènes est indispensables pour avoir une lutte efficace, la détection passe d'abord par un bon échantillonnage du milieu à an*al*yser « le sol », suivi par des tests d'identification indirecte qui demande un isolement pré*al*able des bactéries sur des milieux gélosé « purification », les g*al*eries API 20E, API 20 NE, API STaph sont sur le point de s'assurer des résultats. Après avoir identifié les souches bactériennes nous avons étudié l'effet antagoniste de ces souches bactériennes entre aux et sur l'agent phytopathogènes : *Fusarium oxysporum* et ceci par des confrontations *in vitro* (méthodes directe).

La caractérisation phénotypique des souches isolées à base de leurs propriétés macroscopiques, microscopiques et biochimiques nous a permis d'isoler 29 souches appartenant aux genres *Bacillus, Pseudomonas, Staphylococus, Entérobactère, Burkholderia.*

L'effet de l'antagonisme nous a permis de trouver un effet positif de la souche *P. aerugenosa* utilisé avait d'activité inhibitrice contre les bactéries pathogène (*A .hydrophila, Enterobacter Sakazaki, S. Xylosus, Burkholderia cepacia).*

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de le *F. oxysporum* varie d'une souche bactérienne à une autre, Les souches (**OB3, OB2, TA9, OB1**) ont révélées respectivement les pourcentages suivants (45.45%, 41.81% et 32.72% et18.18 %. les taux d'inhibions de la croissance fongique les plus élevés ont été marqué par la bactérie *Serratia rubidaea* **OB3.**

Mots- clés : Sol, Agent phytopathogène, caractérisation phénotypique, *Burkholderia*.

Abstract:

In recent years, the world has witnessed a great diversity of microorganisms, perhaps the most important of which is bacteria.

Bacteria can cause crop damage. The rapid detection of some of these phytopathogens is essenti*al* to have an effective fight, the detection passes first by a good sampling of the medium to an*al*yze "the ground", followed by tests of indirect identification which requires a preliminary isolation of the bacteria on “purification” agar media, the API 20E, API 20 NE, API STaph g*all*eries are about to confirm the results.

The phenotypic characterization of the isolated strains based on their macroscopic, microscopic and biochemic*al* properties *al*lowed us to isolate 29 strains belonging to the genera*Bacillus, Pseudomonas,Staphylococus, Enterobacter, Burkholderia*

After having identified the bacteri*al* strains, we studied the antagonistic effect of these bacteri*al* strains between and on the phytopathogenic agent: *Fusarium oxysporum* and this by in vitro confrontations (direct methods).

Keywords: the ground, phytopathogenic agent, The phenotypic characterization, *Burkholderia.*

الملخص :

شهد العالم في السنوات الأخيرة تنوعًا كبيرًا في الكائنات الحية الدقيقة ، ولعل أهمها البكتيريا.

يمكن أن تسبب البكتيريا تلفا للمحاصيل. يعد الاكتشاف السريع لبعض هذه العوامل الممرضة للنبات أمرًا ضروريًا لخوض معركة فعالة ، ويمر الاكتشاف أولاً بأخذ عينات جيدة من الوسط المراد تحليله "التربة" ، يليها اختبارات التحديد غير المباشر التي تتطلب عزلًا أوليًا للبكتيريا " تنقية " في وسائط أجار، و API 20E ، و API 20 NE ، و API STaph على وشك تأكيد النتائج.

سمح لنا النمط الظاهري للسلالات المعزولة بناءً على خصائصها العيانية والمجهرية والكيميائية الحيوية بعزل 29 سلالة تنتمي إلى الأجناس*Bacillus* و *Pseudomonas* و*Staphylococus* و *Enterobacte* و *Burkholderia*

بعد التعرف على السلالات البكتيرية، قمنا بدراسة التأثير المضاد لهذه السلالات البكتيرية فيما بينها وعلى العامل الممرض للنبات: *Fusarium oxysporum* وهذا عن طريق المواجهات المباشرة (الطرق المباشرة).

الكلمات المفتاحية: التربة، النمط الظاهري ، العامل الممرض، بكتيريا*Burkholderia*

Liste des abréviations

A : Anaérobie.

AAF : Aéro-Anaérobie facultatif.

ADH : Arginine déshydrolase.

ADI : Adipate.

AMY : Amygd*al*ines.

API : appareillages et procédé d'identification**.**

ARA : Arabinose.

AS : Aérobie stricte.

BCP : Propre de Bromocérol.

C° : degré Celsius.

CAP : Caprate.

CIT : Sodium citrate.

E : Entérobactérie.

e^- : électron négative.

ECH : Echantillon.

ESC : Esculine.

FRU : fructose.

g : Gramme.

GEL : Gélatine emprisonnant de carbone

GLU : glucose.

GN : Gélose nutritive.

GNT : Gluconate.

h : Heure.

H^+ : ion hydrogéne.

Hcl : Acide chlrhydrique

H_2O : Eau.

H_2O_2 : l'eau oxygénée.

H_2S: Sulfate hydrogène.

IND: L-tryptophane**.**

INO : d'inositol.

LAC : lactose.

LDC : Lysine décarboxylase.

M*AL*: m*al*tose.

MAN: Mannitol.

MDG: méthyl-α.

MEL: Mlebiose.

ml : Millilitre.

MLT : M*al*ate.

MNE : mannose.

N_2 : Nitrite

Nacl : Solution chlorure de sodium.

NAG : DGlucopyranoside.

NaOH : Hydroxde de sodium.

ND : non déterminé.

NE : Non entérobactérie.

NIT : nitrate de potassium.

NO_3^- : L'ion **N**itrate.

NR+ : Nitrate réductase positive.

NR- : Nitrate réductase négative.

NR1 : Réactif nitrate réductase 1%.

NR2 : Réactif nitrate réductase 10%.

OA : Echantillon 1 olivier.

OB : Echantillon 3 olivier.

ODC : Orthinedécarboxylase.

ONPG : Ortho-nitro-phényle-B-D- G*al*actopyranoside.

OX : Oxydase.

PAC : Phényl-acétate.

P*AL* : ß-naphtyl phosphate.

PH : potentiel hydrogéne.

PNPG : *p-nitro-phényl*- βDg*al*actopyranoside.

RAF : raffinose.

RHA : Rhamnose.

RM : Rouge de méthyle.

SCN : *Staphylococcus* coagulas négative.

SM : solution mére.

S_2O_3: Thiosulfate

SOR: Sorbitol.

SS Agar: S*al*monella-shigella agar.

Staph : *staphylocoque*.

TA : Echantillon 1 tomate.

TB : Echantillon 2 tomate.

TDA : Tryptophane désaminase.

TRE : tréh*al*ose.

UFC : unité formant clone.

ul : Microlitre.

URE : Urée.

VF : viande foie.

VP : Pyruvate de sodium.

VP1 : Creatinine à1%.

VP2 : Poudre de potasse à10%.

XLT: Xylitol.

XYL: xylose.

YEM: Yest Extract Mannitol.

Liste des tableaux et Figures

Figures :

FIGURE 1: ARBRE D'OLIVIER---------- 8
FIGURE 2: *BRANCHE DE TOMATE : TIGE, FEUILLE COMPOSEE, FLEURS, FRUIT*----------10
FIGURE 3 : RHIZOBACTERIES FAVORISANT LA CROISSANCE DES PLANTES ----------12
FIGURE 4: PSEUDOMONAS VUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE. ----------12
FIGURE 5: STAPHYLOCOCCUS VUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE. ----------14
FIGURE 6: BACILLUS SUBTILIS VUE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE. ----------14
FIGURE 7: COLORATION DE GRAM D'ENTEROBACTERIES VU EN MICROSCOPE. ----------15
FIGURE 8: PHOTOS DES ECHANTILLONS PRELEVES ----------25
FIGURE 9: GAMME DE DILUTION DE LA SOUCHE BACTERIENNE ----------26
FIGURE 10: ENSEMENCEMENT PAR LA TECHNIQUE DES QUATRE CADRANS **(VINCENT, 1970).** ----------28
FIGURE 11: GELOSE INCLINEE----------30
FIGURE 12:PROTOCOL EXPERIMENT*AL*E POUR OBTENIR DES ISOLATS PURES ----------31
FIGURE 13: LES ETAPES DE COLORATION DE GRAM **(ABDI ET *AL*., 2013)**----------33
FIGURE 14: LES ETAPES DE TEST CAT*AL*ASE----------33
FIGURE 15: LES ETAPES DE TEST D'OXYDASE----------34
FIGURE 16: TEST RESPIRATOIRE----------36
FIGURE 17: MILIEU MANNITOL DE MOBILITE ----------37
FIGURE 18: API 20 E ----------38
FIGURE 19: API 20 NE ----------39
FIGURE 20: API STAPH ----------40
FIGURE 21 : SCHEMA MONTRANT LES ETAPES IMPLIQUE DANS L'IDENTIFICATION ----------41
FIGURE 22: ASPECT MACROSCOPIQUE DE COLONIE ISOLE (PRISE PERSONNELLE). ----------44
FIGURE 23: DENOMBREMENT SUR DIFFERENT MILIEU DE CULTURE ----------44
FIGURE 24:HISTOGRAMME REPRESENTANT LA CHARGE BACTERIENNE DE DIFFERENTES BACTERIES DANS CHAQUE MILIEU DE CULTURE DILUTION 10-3 A PARTIR DU SOL DE TOMATE ET D'OLIVIER ----------46
FIGURE 25: HISTOGRAMME REPRESENTANT LA BIODIVERSITE BACTERIENNE A PARTIR CHAQUE SOL MARAICHER ET ARBORICULTURE----------52
FIGURE 26: TESTE OXYDASE----------62
FIGURE 27: TESTE CAT*AL*ASE ----------62
FIGURE 28: TESTE NITRATE REDUCTASE ----------62

FIGURE 29: TESTE TYPE RESPIRATOIRE (MILIEU VF) ---- 64
FIGURE 30: TESTE COAGULASE ---- 65
FIGURE 31: TESTE MOBILITE (MILIEU MANNITOL MOBILITE) ---- 65
FIGURE 32: GALERIE API 20E, APPLIQUE SUR DEFERENTES SOUCHES.---- 67
FIGURE 33: GALERIE API 20NE, APPLIQUE SUR DEFERENTES SOUCHES.---- 68
FIGURE 34: GALERIE API STAPH, APPLIQUE SUR DIFFERENTES SOUCHES ---- 69
FIGURE 35: CAPTURE D'ECRAN DE L'AFFICHAGE DU PROGRAMME D'IDENTIFICATION BACTERIENNE ONLINE –UPBM---- 70
FIGURE 36:PHOTOS DES RESULTATS D'ANTAGONISME IN VITRO---- 77
FIGURE 37 : PHOTOS DES RESULTATS D'ANTAGONISME FONGIQUE IN VITRO---- 79
FIGURE 38:PHOTOT DE LA SOUCHE TEMOIN ---- **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

TABLEAUX :

TABLEAU 1: NOMBRE DES MICROORGANISMES DU SOL SUR UNE PROFONDEUR DE 0 A 15 CM 5
TABLEAU 2: LES PRINCIPALES MALADIES FONGIQUES ET BACTERIENNES D'OLIVIER---- 8
TABLEAU 3 : *LES PRINCIPALES MALADIES DE LA TOMATE* ---- 11
TABLEAU 4: LES ELEMENTS D'IDENTIFICATION MACROSCOPIQUE ---- 32
TABLEAU 5: DENOMBREMENT DES BACTERIES ISOLEES A PARTIR DU SOL DE TOMATE ET D'OLIVIER ---- 45
TABLEAU 6: RESULTATS DE LA PURIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES DU SOL DE TOMATE ---- 47
TABLEAU 7: RESULTATS DE LA PURIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES DU SOL D'OLIVIER ---- 50
TABLEAU 8: RESULTATS DE L'EXAMEN MACROSCOPIQUES DES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES A PARTIR DU SOL DE TOMATE (T) BASEE SUR LES CRITERES MORPHOLOGIQUES ---- 53
TABLEAU 9: RESULTATS DE L'EXAMEN MACROSCOPIQUES DES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES A PARTIR DU SOL D'OLIVIER (O) BASEE SUR LES CRITERES MORPHOLOGIQUES 55
TABLEAU 10: RESULTATS DE L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES A PARTIR DU SOL DE TOMATE ---- 57
TABLEAU 11:RESULTAT DE L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES A PARTIR DU SOL D'OLIVIER ---- 60

TABLEAU 12: TEST BIOCHIMIQUE OXYDASE CAT*AL*ASE ET NITRATE REDUCTASE DES ISOLATS (SOL DE TOMATE) ---------- 63
TABLEAU 13: TEST BIOCHIMIQUE OXYDASE CAT*AL*ASE ET NITRATE REDUCTASE DES ISOLATS (SOL D'OLIVIER) ---------- 64
TABLEAU 14: TESTE MOBILITE, TYPE RESPIRATOIRE ET TESTE COAGULASE DES ISOLATS (SOL DE TOMATE) ---------- 65
TABLEAU 15: TESTE MOBILITE, TYPE RESPIRATOIRE ET TESTE COAGULASE DES ISOLATS (SOL D'OLIVIER)---------- 66
TABLEAU 16: LES RESULTATS DES SOUCHES PAR G*AL*ERIE API 20E---------- 67
TABLEAU 17: LES RESULTATS DES SOUCHES PAR G*AL*ERIE API 20NE ---------- 68
TABLEAU 18: LES RESULTATS DES SOUCHES PAR G*AL*ERIE API STAPH---------- 69
TABLEAU 19: IDENTIFICATION PAR G*AL*ERIE API---------- 71
TABLEAU 20: RESULTAT D'INHIBITION DE PS.AEROGENOSA SUR QUELQUE SOUCHE BACTERIENNE ---------- 77
TABLEAU 21:RESULTATS DE LA CONFRONTATION DIRECTE (TAUX D'INHIBITION) ---------- 78

Table des matières

INTRODUCTION ---- **1**

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ---- **2**

I. LE SOL ---- 5
I.1 Définition du sol ---- *5*
I.2. Les type du sol ---- *5*
I.2.1. Les sols des régions sahariennes ---- 5
I.2.2. Les sols des régions semi-arides ---- 6
I.2.3. Les sols des régions telliennes humides ---- 6
I.3. La rhizosphère ---- *6*
I.3.1. La microflore rhizospérique ---- 7
II. ARBORICULTURE ---- 7
II.1. Arbre d'olivier ---- *7*
II.2. Les principales maladies de l'olivier ---- *8*
III.1. Tomate ---- *9*
III.2. Les maladies de tomate ---- *11*
IV. QUELQUE BACTERIE DU SOL ---- 11
IV.1. Les rhizobactéries ---- *11*
IV.1.1. *Pseudomonas* ---- 12
IV.2.1. Définition ---- 12
IV.2. Staphylocoque ---- *13*
IV.2.1. Historique ---- 13
VI.3.Bacillus ---- *14*
VI.4. Les Entérobactéries ---- *15*
VI.4.1. Définition ---- 15
VI.4.2. Les groupes d'entérobactéries ---- 15
IV. LA LUTTE BIOLOGIQUE ---- 16
IV.1. Définition ---- *16*
IV.2. Historique de la lutte biologique ---- *16*
IV.3. L'antagonisme ---- *17*
IV.3.1. Production de substances inhibitrices ou toxiques : ---- 17
IV.3.1.1 Substances à structure chimique simple ---- 18
IV.3.1.2 Antibiotiques ---- 18
IV.3.3. L'interférence hyph*a*le ---- 19
IV.3.4. Mycostase ou fongistase ---- 19
IV.4. Interaction directes PGPR/Pathogène ---- *20*

DEUXIEME CHAPITRE : MATERIELS ET METHODES ---- **22**

I. MATERIELS ---- 23
I.1.Milieu de culture ---- *23*
I.2. Solutions et réactifs ---- *23*
1. 3. Verrerie ---- *24*
I.4. Appareillage ---- *24*
II. METHODE ---- 25
II.1. Objectif ---- *25*
II.2. Échantillonnage ---- *25*
II.3. Préparation des dilutions ---- *26*
II.4. Isolement et purification des souches bactérienne : ---- *26*
II.4.1. Ensemencement des suspensions du sol : ---- 28
II.4.2. Dénombrement : ---- 29
II.4.3 Purification des souches bactériennes ---- 29
APRES L'OBTENTION DES SOUCHES PURES, NOUS AVONS FAIRE UN DEUXIEME ENSEMENCEMENT SUR DES MILIEUX SELECTIFS POUR FACILITER D'ORIENTER AU COURE D'IDENTIFICATION D'ISOLAT (GENRE) ---- 29
II.4.4. Conservation des isolats : ---- 30
II.5. Identification des isolats ---- *32*

II.5.1. Critère morphologique :---- 32
II.5.1.1. Examen macroscopique :---- 32
Aspect ---- 32
Plate, lisse, bombé … ---- 32
II.5.1.2. Examen microscopique : ---- 32
II.5.2. Critères biochimiques : ---- 33
II.5.2.1. Etude des enzymes respiratoires : ---- 33
II.5.2.2. Examen de type de respiratoire :---- 36
II.5.2.3. Etude de la fermentation du mannitol (test du mannitol mobilité) : ---- 36
II.6. Les galeries Api utilisé : ---- *37*
II.6.1 La G*al*erie API 20 E : ---- 37
II.6.2. La g*al*erie API 20 NE :---- 38
II.6.3. La g*al*erie API Staph ---- 40
III. RECHERCHE DES INHIBITIONS (ANTAGONISME)---- 41

TROISIEME CHAPITRE : RESULTATS ET DISCUSSION---- 43

I. ISOLEMENT ET PURIFICATION DES ISOLATS ---- 44
I.1.Isolement des isolats ---- *44*
---- *44*
---- *44*
I.2.Densité de la flore bactérienne totale du sol de tomate et d'olivier---- *44*
I.3.Purification ---- *46*
II. IDENTIFICATION ---- 52
II.1. Résultats des critères morphologiques ---- *52*
II.1.1. Examen macroscopique ---- 52
II.2. Résultats des critères biochimiques ---- *62*
II.2.1. Teste cat*al*ase, oxydase et nitrate réductase ---- 62
II.2.2. Teste mobilité, type respiratoire et coagulase---- 64
III. IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES SOUCHES PAR LA G*AL*ERIE API 20 E, API 20 NE, API STAPH : ---- 67
III.1. Résultat de galerie API 20E ---- *67*
III.2. Résultats de galerie API 20NE ---- *68*
III.3. Résultats de galerie API STaph ---- *69*
III.4. Identification des souches : ---- *70*
IV. ANTAGONISME : ---- 77
IV.1. Bactérie / Bactérie ---- *77*

CONCLUSION ET PERSPECTIVES ---- 81

ANNEXES ---- 84

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ---- 99

Introduction

Le sol dans le plus souvent un milieu très hétérogène en raison de leur composition et de l'activité biologique qui s'y déroule cette activité biologique dépend notamment du carbone entrant dans le sol depuis la plante. En effet selon la composition de matière organique qui se trouve et la zone de sol considérée, les microorganismes vivant du sol opérons des transformations de nature et d'intensité dévers influençant ainsi la qu*al*ité des sols.

Une zone de forte activité biologique a « hot spot » appelée la rhizosphère, **Stemmer et *al.* , (1999)** au même titre que le volume de sol entourant les racines vivantes**.**
Ce terme a été introduit par **Hiltner (1904)** qui avait constaté une plus forte densité de microorganisme dans cette zone à proximité des racines vivantes que dans le reste du sol.

Parmi les rhizobactéries il y a *Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium Arthrobacter, Azotobacter, Azospirillum,Bacillus, Enterobacter, Pseudomonas, Serratia, Streptomyces* ont l'aptitude de coloniser les racines **Saharan et *al.*, (2011).** Leurs effets bénéfiques sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine. En effet, le rhizoplane et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant **Rawat et Mushtaq, (2015).** L'ensemble des effets bénéfiques des rhizobactéries s'est élargi dans les dernières années, en effet, ces bactéries peuvent exercer leurs actions bénéfiques de plusieurs mécanismes **Glick, (2001),** elles sont requises dans le processus de la décomposition et le recyclage des nutriments dans la rhizosphère **Germida et *al.*, (1998).** Par ailleurs, elles jouent un rôle notable dans l'amélioration et la stabilisation de la structure du sol.

L'étude des sols résistants aux m*al*adies d'origine tellurique a permis de démontrer que la résistance des sols repose génér*al*ement sur des interactions microbiennes complexes entre l'agent pathogène et tout ou partie de la microflore tellurique **(Coor et Beren, 1983).**

L'antagonisme entre bactéries / bactéries et bactéries / champignons est un phénomène bien connu et fréquemment mis en évidence in vitro, mais les travaux sur les interactions bactéries champignons in situ dans le sol sont rares **Olever, (1983).** En ce qui concerne les *Fusarium*, les quelques publications disponibles indiquent des relations fort complexes avec les bactéries du sol. Selon **Fono et *al.* (1970)**, certaines bactéries produisent des substances capables d'induire la formation de chlamydospores favorisant ainsi la conservation des souches de *Fusarium* D'autre part**, FINSTEIN et *Al*EXANDER (1962)** indiquent que le développement des *Fusarium oxysporum* peut être freiné par la présence de *Bacillus* sp.

Exerçant une compétition pour le carbone. Plus récemment, il a été montré que des *Pseudomonas spp*, exerçant une compétition pour le fer, inhibent la germination des chlamydospores et le développement des tubes germinatifs des *Fusairum* dans certains sols résistants **(SNEH et *al*.,1984).**

Nous avons fixé comme objectif dans ce travail, l'isolement et l'identification phénotypique des souches bactériennes isolées à partir de deux sols de la région d'*Al*ger (Staou*al*i) et de Médéa (Tablat) par des examens macroscopique, microscopique et des tests biochimiques à savoir les g*al*eries API 20E, API NE et API Staph.

En second lieu, nous avons étudié l'effet antagoniste des souches bactériennes identifies entre aux et sur l'agent phytopathogène : *Fusarium oxysporum*, et ceci par des confrontations *in vitro* et à l'aide d'une méthode directe.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Le Sol

I.1 Définition du sol

Le sol est défini comme étant une entité naturelle vivante et dynamique sur la surface de la terre, il est composé de solides (organique et minér*al*e), liquides et gazes, présentant au moins l'un des deux caractères suivants :

• Composé de couches qui se différencient par leurs matières premières suite à des ajouts, des pertes ou des transformations de matière et d'énergie.

• Capacité à supporter les plantes enracinées dans un environnement naturel **(Osman, 2013)**.

Le sol constitue le support de vie d'une très grande variété d'organismes vivants en interactions continues (plantes, vers, nématodes, acariens, protozoaires, *al*gues, champignons, eubactéries, archaea, etc.) **(Scow, 2004)**.

Tableau 1: Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm

Microorganismes	**Nombre (g/sol)**	**Biomasse (g/m^2)**
Bactéries	108 -109	40-500
Champignons	105 -106	100-1500
*Al*gues	104 -105	1-50
Protozoaires	103 -104	Variée

I.2. Les type du sol

I.2.1. Les sols des régions sahariennes

La formation des sols dans cette région est entièrement dominée par les conditions climatiques où le vent joue un rôle prépondérant. D'où formation de deux grands types de sols éoliens :

- Sols éoliens d'ablation sans « terre fine » et dont le caractère essentiel, l'absence de terre fine, ne dépend pas de la roche mère.

- Sols éoliens d'accumulation formés par les particules entraînées par le vent qui s'accumulent dans les zones abritées formant des dépôts de sable plus ou moins développés. **(J.-H. Durand ,1956).**

I.2.2. Les sols des régions semi-arides

Il n'existe pas de définition nette de la semi-aridité. Selon **J.-H. Durand (1956)**, on peut dire pour la pédologie qu'on passe de la zone aride à la zone semi-aride lorsque la végétation, entretenue par une pluviométrie encore faible (de 200 à 500 mm par an), est cependant suffisante pour freiner l'action du vent dont le rôle devient dès lors secondaire dans la pédogenèse. Et l'on passe de la zone semi-aride à la zone « humide » lorsque la pluviométrie est suffisante pour donner un tapis végét*al* herbacé continu ou subcontinu et un couvert forestier. C'est pourquoi on peut dire que le sol zon*al* est, dans ces conditions, dû à l'équilibre vent-pluie dans la zone semi-aride, constituent cependant un facteur de différenciation donnant, suivant leur nature : des sols contenant du c*al*caire ou du gypse (sols c*al*ciques), et des sols qui n'en contiennent pas sols « en équilibre »), mais ces derniers sont rares.

I.2.3. Les sols des régions telliennes humides

Les sols de ces régions humides peuvent se définir par leur mode de formation origin*al* entraînement de substances en profondeur sous l'action des eaux d'infiltration. Mais cette migration est conditionnée par la nature de la roche mère, très variable dans le Tell *al*gérien du fait de sa structure plissée. D'où une grande variété de sols dont le seul caractère commun est un lessivage plus ou moins poussé, et que **(Durand, 1956)**.

I.3. La rhizosphère

Lorenz Hiltner à définit, en **1904**, la rhizosphère comme étant « la partie du sol qui entoure immédiatement les racines de la plante » **Prescott et *al.*, (2007**). Elle constitue ainsi un lieu d'échange entre le végét*al* et le minér*al* ; c'est un milieu complexe aux multiples Interactions **(Lynch, 1990)**.

Aujourd'hui, ce terme de rhizosphère correspond à une définition plus génér*al*e : « C'est le volume de sol soumis à l'influence de l'activité racinaire » **Darrah, (1993)**. Ce volume de sol varie avec la nature des plantes, la densité du système racinaire, ses propriétés de surface et les propriétés physicochimiques du sol **(Abhilash et Singh, 2009).**

I.3.1. La microflore rhizospérique

La microflore du sol est complexe et variée. Elle comprend, les bactéries, les champignons, les protozoaires, etc. cependant, les bactéries et les champignons sont les organismes les plus dominants **(Tableau 1) Hoorman et Islam, (2010)**. La distribution de ces micro-organismes dans le sol est hétérogène et dépend des facteurs nutritionnels et des facteurs physico-chimiques **(Prescott et *al.*, 2003).**

II. Arboriculture

D'après **Lupescu (1978),** l'*Al*gérie dispose de conditions pédoclimatiques assez favorables pour le développement de certaines espèces fruitières telles que les agrumes, l'olivier, le figuier, le p*al*mier dattier et les espèces dites à noyaux et à pépins. La production de ces dernières enregistre une augmentation notable, conséquence d'une augmentation régulière des superficies **(Zereg, 1978).**

II.1. Arbre d'olivier

L'olivier (*Olea europaea* L.) est un arbre cultivé dans les pays méditerranéen pour son fruit, l'olive, qui donne une huile recherchée. Le tronc est le princip*al* support de l'arbre (un soutien à l'arbre); sur jeune arbre, le tronc est lisse de couleur grise verdâtre. Les fleurs sont petites et regroupées en inflorescences et sont hermaphrodites **Haouane *et al,* (2012).** La forme du fruit peut être sphérique, ovoïde ou *al*longée. La longueur du fruit et celle du noyau sont le caractère le plus héréditaire **(Fantanazza et B*al*dini, 1990).**

L'olivier s'adapte à tous les types de sols sauf les sols lourds compacts humides ou se ressuyant m*al*. Les sols c*al*caires jusqu'à pH 8.5 peuvent lui convenir, par contre les sols acides pH 5.5 sont déconseillés.

La famille des Oléacées comporte environ 30 genres et 600 espèces. Les variétés cultivées ; se composent souvent de spécimens se ressemblant d'un point de vue morphologique, mais aux caractères génétiques différent **(Guignard et Dupont, 2004 et Tourte *et al.*, 2005).**

Les oliviers sont parmi les plus anciens arbres fruitiers cultivés dans le bassin méditerranéen y compris l'*Al*gérie **Benjama, (2003).** Ces dernières occupent toutefois

une part très importante dans l'économie agricole de certains pays méditerranéens **(source FAO, 2009).**



***Figure 1*:** Arbre d'olivier

II.2. Les principales maladies de l'olivier

Les maladies des plantes sont parfois regroupées par types de symptômes, par type d'organes qu'elles affectent et par type de plantes affectées, mais le critère le plus utile reste la classification selon le pathogène responsable de la maladie **(Benjama, 2003).**

Tableau 2*:* Les principales maladies fongiques et bactériennes d'olivier

Désignation de la maladie	**Facteurs favorisants**	**Dégâts et conséquences**	**Méthodes de lutte**	**Références**
Œil de paon (*Cyclocon ium oleaginum* Cast.	Températures entre 10 et 25° C associée à des pluies. Présence de variétés sensibles.	Tâches foliaires circulaires s'accroissant depuis le point de pénétration du champignon. Chute massive des feuilles. Affaiblissement des arbres. Perte de récolte	Tailler l'olivier régulièrement. Maintenir une protection fongicide avant les pluies en automne et au printemps.	**Guechi et Girre, (2002).**

Verticilliose (*Verticillium dahliae Kleb*)	Jeunes vergers de moins de 10 ans avec un précédent cultural. Présence de certains adventices.	Dessèchement rougeâtre des rameaux. Sortie importante de rejets. Perte d'une charpentière ou de l'arbre.	Ne pas planter sur un terrain à risque. Ne pas travailler le sol et préférer un enherbement de graminées. Limiter la fertilisation et l'irrigation.	**Benchabane, (1990); Bellahcene *et al.*, (2000 Mat*al*lah boutiba, (1998) Bellahcene, (2004); Bellahcene *et al*., (2005).**
Brunissement	Automne doux et humide. Variétés sensibles. Arbres vigoureux et très poussants, faiblement chargés en fruits. Forte fumure azotée.	Pourrissement des olives et chute prématurée. Perte de récolte et mauvaise qu*al*ité d'huile	Modérer la taille ou taille bisannuelle. Fractionner les apports de phosphore au printemps, apporter le potassium à l'automne. Limiter la fertilisation en azote.	**Civantos, (1999).**
Bactériose (*Pseudomonas savastanoi* Smith.)	Humidité et température supérieure à 18° C. variétés sensibles. Blessures diverses.	Tumeurs, nodules sur le bois. Eclatement de l'écorce. Baisse du vigueur et de production.	Désinfection du matériel de taille. Tailler les arbres atteints en dernier. Ne pas gratter le nodule. Pulvérisations cupriques après la taille ou un passage de grêle.	**Assawah et Ayat, (1985).**

III. Maraichère

III.1. Tomate

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention de l'eau, une bonne aération et qui sont libres de sels. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées **(Chibane, 1999).**

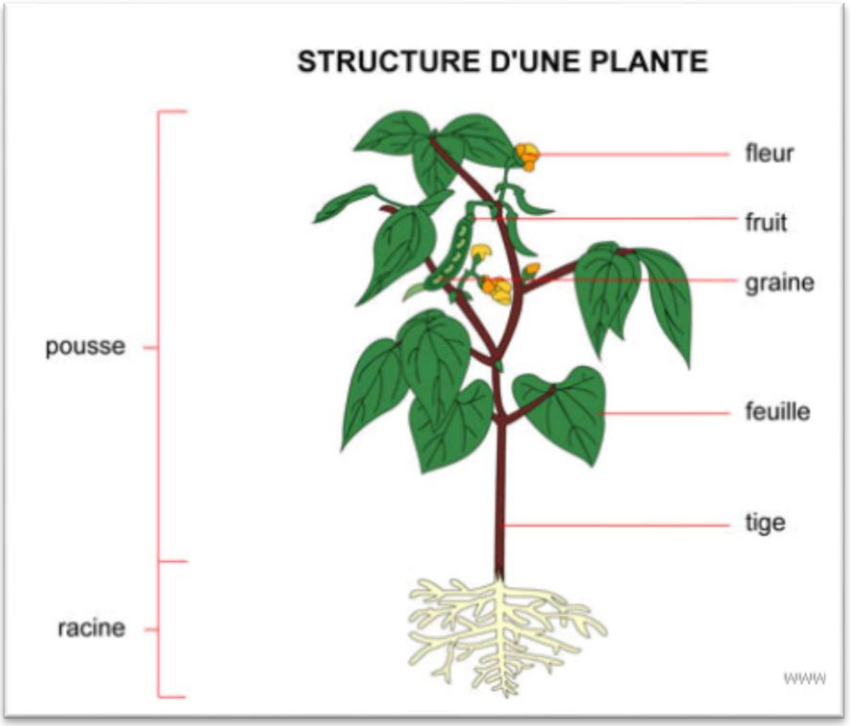


Figure 2: *Branche de tomate : tige, feuille composée, fleurs, fruit*

La tomate est une plante herbacée annuelle, appartenant au groupe des légumes-fruits **Aissa, (1999).** Elle est caractérisée par :

Forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine princip*al*e produit une haute densité de racines latér*al*es et adventices **(Shankara, 2005).**

Feuilles disposées en spir*al*e, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires. Les grandes folioles sont parfois pennatifi des à la base. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm.

En génér*al* la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu. Les abeilles et les bourdons sont les principaux pollinisateurs **(Shankara, 2005).**

Fruit, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune

au rouge en passant par l'orange. En génér*al* les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés.

Graines nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'*al*bumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g **(G*al*lais et Bannerot, 1992)**

III.2. Les m*al*adies de tomate

En dépit de son importance, la culture de la tomate souffre de plusieurs problèmes aussi bien sur le plan agronomique que commerci*al*. De point de vue agronomique, les problèmes phytosanitaires sont primordiaux. En fait, environ 200 m*al*adies infectieuses, à diverses étiologies, peuvent affecter le fruit de la tomate **Jones et *al*., (1991).** Ces pathologies sont princip*al*ement dues à des champignons, bactéries et virus **(voir tableau ci-dessous).**

Tableau 3 : *Les principales maladies de la tomate*

Les m*al*adies fongiques	Les m*al*adies bactériennes
L'*al*ternariose : causée par *al*ternerai *al*ternata f .sp .lycopersici. **L'oïdium :** causé par leveillula taurica. **Lapourriture grise :** causé par Botrytis cinerea. **Les fusarioses :** causées par *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici et f.oxysporum f.sp radici- lycopersici. **La cladosporiose :** causé par Fulvia.	**Le chancre bactérien** : Causé par clavibacter michiganensis subsp **La mouchteure des feuilles** : causé par *Pseudomonas* syringae pv.syringae **La tache bactérienne** : causée par psedomonas syrigae pv.Tomato. **La moucheture bactérienne** : causée par Xanthomonas comestris pv.vesicatoria. **Le flétrissement bactérien** : causé par R*al*stonia solanacearum.

IV. Quelque bactérie du sol

IV.1. Les rhizobactéries

Les bactéries de la rhizosphère, dites rhizobactéries, sont capables de coloniser l'intérieur ou l'extérieur de la racine de nombreuses espèces de plantes et peuvent être divisé entre celles qui forment une relation symbiotique avec la plante et celles qui ne le font pas. **(Kloepper et *al.*, 1989). (Voir Figure 3)**

Elles sont génér*al*ement très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs **Peter et *al.*, (2015)** et sont des hétérotrophes

typiques nécessitant des composés organiques comme source d'énergie, leurs besoins sont entièrement comblés à l'intérieur même de la rhizosphère **Campbell et Greaves, (1990).** Quand elles émettent des substances favorisant la croissance des plantes tout au long de leur cycle de développement **Kloepper, (1993),** elles sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries promotrices de la Plant Growth Promoting Rhizobacteria) **(Kloepper et *al*., 1989 ; Zahir et *al*., 2004).**

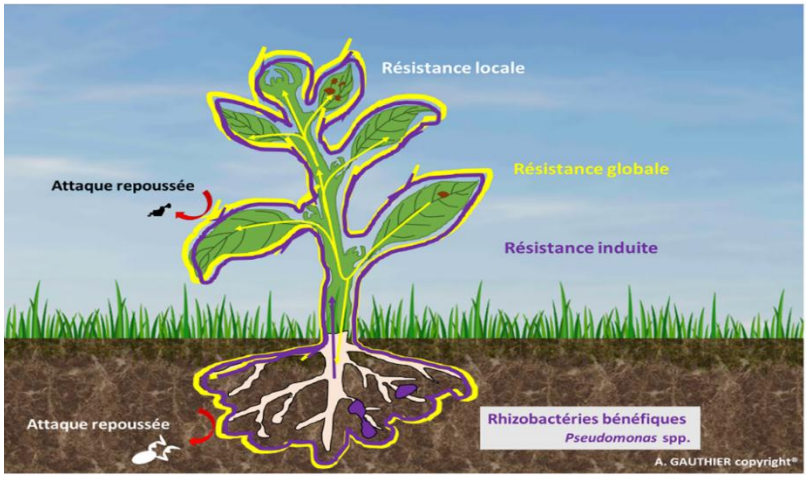


Figure 3 : rhizobactéries favorisant la croissance des plantes

IV.1.1. *Pseudomonas*

IV.2.1. Définition

Les *Pseudomonas* appartiennent aux Gamma-Protéobactéries. Ce groupe englobe la majorité des espèces de bactéries phytopathogènes.

Le genre *Pseudomonas* appartient à la famille des *Pseudomonaceae*, il comprend une soixantaine d'espèces. Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *Pseudomonas fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différentes biovars. Le groupe de *Pseudomonas* se compose de bactéries sous forme de bâtonnets, Gram négatifs **(Figure 4)** mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*), non sporulant, elles sont aérobies obligatoires. Les *Pseudomonas* ont un métabolisme mésophile et chimioorganotrophe, peu exigeantes, et incapable de

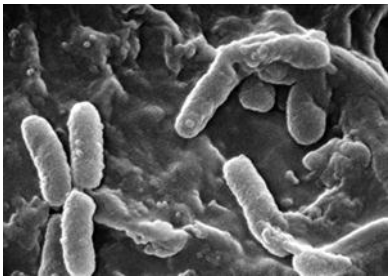


Figure 4: *Pseudomonas* vue au microscope électronique.

fermenter le glucose, se caractérisent par la plur*al*ité des substances hydrocarbonées utilisées comme source de carbone et d'énergie, produisant des pigments, la plupart étant saprophytes et pouvant coloniser les cellules cortic*al*es mortes des racines **(Cook et *al*., 1996 et Frey et *al*., 2006).**

IV.2. *Staphylocoque*

IV.2.1. Historique

Les *staphylocoque*s ont été découverts par **Pasteur et Koch (1877-1878)** à partir du pus de furoncle et d'ostéomyélite (**Avril et *al*., 1992 ; Corne, 2004).** En 1883, le nom de « *staphylocoque* » a été proposé par **Ogston, staphyle**, mot grec signifiant grappe de raisin et kokkos, mot grec signifiant un grain ou une baie **Bhunia, (2008),** pour un groupe de *microcoques* causant une inflammation accompagnée d'une suppuration**. Ogston** a été le premier auteur à différencier entre deux types de coques pyogènes : un premier groupe arrangé en groupe ou amas appelé *Staphylococcus* » et un second groupe organisé en chaînette nommé *« Streptococcus de Billroth* ». En **1884**, une description formelle du genre *Staphylococcus* a été fournie par Rosenbach. Celui-ci a divisé le genre *Staphylococcus* » en deux espèces, *Staphylococcus aureus* (*staphylocoque* doré) et *Staphylococcus al*bus (*staphylocoque* blanc). En **1885**, **Zopf** a placé les *staphylocoque*s et les *microcoques* dans le genre *Micrococcus*. Puis, en **1886**, le genre *Staphylococcus* a été séparé du genre *Micrococcus* par Flugge. Celui-ci a différencié les deux genres princip*al*ement sur la base de leur action sur la gélatine et la relation à leurs hôtes.

Les genres *Staphylococcus, Micrococcus* et *Planococcus* (genres contenant des coques à Gram positif et cat*al*ase positive) **(Figure 5)** ont ensuite été placés dans la famille *Micrococcaceae*.

Jusqu'au début des années 1970, le genre *Staphylococcus* se composait de trois espèces : l'espèce à coagulase positive *Staphylococcus aureus* et les espèces à coagulase négative *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus* ; cependant une étude plus poussée des propriétés chimio-taxonomiques et génotypiques *staphylocoque*s a conduit à la description de plusieurs nouvelles espèces de *staphylocoque*s **(Gôtz et *al*., 2006)**

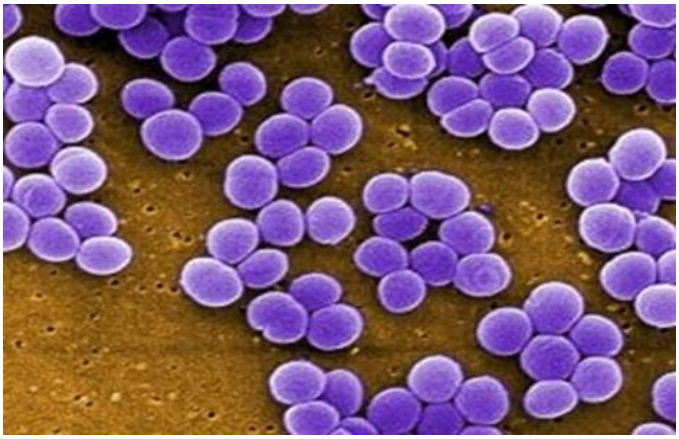


Figure 5: *staphylococcus* vue au microscope électronique.

VI.3.*Bacillus*

Le genre *Bacillus* est très hétérogène, comprend au moins 36 espèces. Ce sont en génér*al*e des bacilles unicellulaire à Gram varie, oxydase négatif, cat*al*ase positif, mobiles sauf *Bacillus anthracis* **(Figure 6)** Elles sont aérobies strictes ou anaérobies, facultatifs suivant les espèces et tirent leur énergie de la respiration ou la fermentation. Lorsque les conditions deviennent défavorables, les *Bacillus* sporulent et donnent des spores souvent très résistantes dans le milieu extérieur. Elles peuvent être conservées longtemps dans un endroit frais et sec. Les *Bacillus* sont chimiohétérotrophes, saprophyte et ubiquitaires, il existe des espèces thermophiles et acidophiles **(Madigan et Martink, 2007).**

Le genre *Bacillus* appartient à la tribu des *Bacillini,* sous-famille des *Bacillinae,* famille des *Bacillidae* et enfin sous-ordre des *Areolatae* **(Bradley et G*al*il, 1977).** Dans la région Méditerranéenne il existe aux moins 10 espèces de *Bacillus* **(Bullini et *al*., 1983 ; Mantovani et Sc*al*i, 1990, 1991).**



Figure 6: *Bacillus subtilis* vue au microscope électronique.

VI.4. Les *Entérobactéries*

VI.4.1. Définition

Les *Entérobactéries* sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts (1 à 6 µl) **(Figure 7)**, droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche (rares, exceptions) de culture aisée, aéro-anaérobies facultatifs, fermentaires, oxydase négative, cat*al*ase positive (rares, exceptions), nitrate réductase positive (rares, exceptions) **(Bidet et Bingen, 2007).**

Les *Entérobactéries* sont retrouvées partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine, surtout en milieu hospit*al*ier.

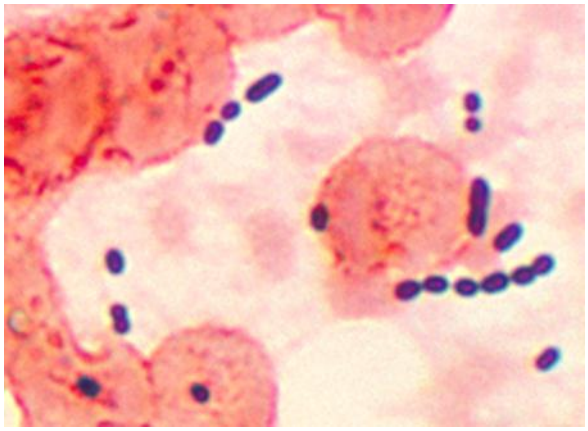


Figure 7*:* Coloration de Gram d'*Entérobactéries* vu en microscope.

VI.4.2. Les groupes d'entérobactéries

On peut schématiquement subdiviser l'ensemble des *Entérobactéries* en deux groupes d'une part les *Entérobactéries* qui font partie des flores féc*al*es commens*al*es habituelles de l'homme et des animaux; ce groupe comprend princip*al*ement *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Serratia*, *Citrobacter*. Outre une résistance naturelle aux antibiotiques actifs sur les germes à Gram positif (*pénicillines, macrolides*), les *Entérobactéries* présentent fréquemment une résistance acquise aux antibiotiques à large spectre. Cette résistance

est souvent conditionnée par la présence de plasmides porteurs de déterminants de résistances multiples et transférables à d'autres bactéries à Gram négatif **(Delmée, 2004).**

IV. La lutte biologique

Dans le sens strict, elle consiste à l'utilisation d'êtres vivants en vue de réduire ou empêcher les pertes ou les dommages causés par divers organismes **(SIMON et *al*., 1994).**

L'étude de l'action de certaines bactéries sur la germination des urédospores des rouilles des céré*al*es a été étudiée la première fois par **Morgan en 1963** qui a isolé une bactérie *Bacillus pumilus* et qui a donné de bons résultats.

La découverte des relations antagonistes entre les germes telluriques a amené les microbiologistes à se demander s'il n'était pas possible d'utiliser des micro-organismes pour la lutte biologique contre les m*al*adies des plantes dues à des champignons phytopathogènes **CLARK, (1969).** Partant de cette idée, de nombreux chercheurs ont pensé qu'il serait possible d'éliminer ces champignons en favorisant le développement des micro-organismes.

IV.1. Définition

La lutte biologique est toute action qui met en jeu des organismes vivants pour déplacer les équilibres microbiens dans le sens favorable à la plante peut être rangée dans les moyens de lutte. La lutte biologique consiste à utiliser des organismes inoffensifs qui entraînent la destruction ou l'inhibition des espèces nuisibles. C'est la lutte biologique proprement dite. Elle consiste ég*al*ement à empêcher le développement des m*al*adies par une action sur la plante-hôte elle-même. Parfois, ce résultat est obtenu grâce à des micro-organismes, ce type d'intervention saprophyte ou auxiliaire se rattache à la lutte biologique au sens strict **(DAVET, 1996).**

IV.2. Historique de la lutte biologique

En **1897, ERNEST DUCHENE** écrit dans sa thèse de doctorat en médecine qu'il ne semble résulter de quelques-unes de nos expériences, qu'il importera de répéter et de contrôler, que certaines moisissures (*Penicillium glaucaum*) inoculées à un anim*al* en même temps que des cultures très virulentes de quelques microbes

pathogènes, sont capables d'atténuer dans de très notables proportions, la virulence de ces cultures microbiennes. **(BRUN- COTTON et *al*., 1980).**

En **1877, PASTEUR** et **JOUBET**, ont constaté que des « bactéries aérobies » inhibent la croissance de *Bacillus anthracis*. La notion d'antagonisme n'a pris sa forme définitive qu'avec l'avènement des travaux **d'*Al*exander flemming** en **1929**, date capit*al*e de l'histoire des antibiotiques.

Le développement des connaissances en écologie microbienne, en particulier sur les relations antagonistes entre les micro-organismes du sol, a fait naître l'idée d'utiliser ces antagonistes pour lutter contre les m*al*adies des plantes d'origine tellurique **(Tims, 1932 ; Waksman, 1948 ; Clark, 1969).**

IV.3. L'antagonisme

L'antagonisme est défini comme étant le phénomène par lequel un organisme inhibe le développement ou interfère avec les activités d'un autre organisme vivant par la création de conditions défavorables dans les milieux, ou par la production de substances antimicrobiennes.

L'antagonisme est l'action d'opposition entre deux systèmes, deux substances, deux fonctions aux deux organismes, créant une situation néfaste pour l'un ou pour l'autre.

L'antagonisme stimule la formation des spores et provoque un développement de forme, de taille et de structure des hyphes, de la direction du développement, cessation complète du développement et raccourcissement des segments d'hyphes ou, parfois même lyse du mycélium fongique (**WELLER, 1988).**

IV.3.1. Production de substances inhibitrices ou toxiques :

Une forme très fréquente d'antagonisme résulte de la production par une espèce microbienne de substances toxiques pour les espèces qui se trouvent à proximité. Ces substances peuvent ne présenter aucune spécificité : elles agissent sur un très grand nombre d'espèces microbiennes. Elles peuvent, au contraire, ne s'avérer toxiques que vis-à vis de certains groupes ou certaines espèces sensibles. Ont dit qu'elles sont spécifiques. L'effet de ces substances est très variable. On distingue en génér*al* :

-Un effet bactériostatique ou mycostatique (fongistatique), se traduisant par un arrêt de la croissance de la bactérie ou du champignon.
-Un effet bactéricide ou fongicide, se traduisant par la mort définitive de la bactérie ou du champignon.
-Un effet bactériolytique ou mycolytique, se traduisant par la désintégration ou la lyse des cellules bactériennes ou fongiques.

Les substances inhibitrices ou toxiques ont une structure chimique simple (acides minéraux, par exemple) ou complexe (antibiotiques ou enzymes lytiques) **(DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).**

IV.3.1.1 Substances à structure chimique simple

L'activité de certains micro-organismes peut se traduire par l'accumulation dans le sol de diverses substances minér*al*es (telles que l'ammoniac, les nitrites, l'hydrogène sulfuré) ou organiques (telles que les *al*cools ou les acides organiques). On se trouve donc en présence d'un processus d'antagonisme à caractère non ou peu spécifique **(DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).**

IV.3.1.2 Antibiotiques

La microflore tellurique renferme une très forte proportion de micro-organismes capables de synthétiser des substances antibiotiques vis-à-vis de micro-organismes très divers. Les *actinomycètes* se classaient parmi les micro-organismes les plus actifs en ce qui concerne la production d'antibiotiques. Cette propriété est très répandue chez le genre *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora*.

Parmi les bactéries, de nombreux producteurs d'antibiotiques appartiennent au genre *Bacillus* et *Pseudomonas*. Quant aux champignons, parmi les plus connus, les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium* et *Sclerotina*. Les antibiotiques agissent, en génér*al*e, en inhibant l'activité ou la synthèse d'un constituant cellulaire essentiel. Ainsi, quelques-uns perturbent la biosynthèse d'ADN, ou celle du mucocomplexe des parois cellulaires, d'où lyse osmotique du micro-organisme sensible lorsqu'il se trouve en milieu hypotonique. D'autres antibiotiques agissent en désorganisant la membrane des cellules à la manière d'un détergent **(Dommergues et Mangenot, 1970).**

IV.3.3. L'interférence hyph*al*e

L'inhibition par contact connue sous le nom d'interférence hyph*al*e ne semble pas mettre en œuvre des substances inhibitrices ou toxiques vis-à-vis de l'hôte **(Davet, 1996).**

Ce phénomène s'observe chez certains champignons capables de conquérir des substrats déjà colonisés par d'autres espèces. Lorsque les apex des hyphes des champignons dominés arrivent au contact du mycélium du champignon envahisseur, leur croissance s'arrête brusquement ; au bout de quelques minutes, leur cytoplasme devient granuleux et l'on observe une augmentation de la perméabilité membranaire et une dégénérescence des mitochondries. Ce mécanisme est mis en évidence chez les *Basidiomycètes corpophiles* et lignivores **Ikediugwu et Webster, (1970)** et aussi chez un oomycète comme *Pythium oligandrum* **(Lutchmeah et Cooke, 1984).**

IV.3.4. Mycostase ou fongistase

C'est l'inhibition de la germination des spores fongiques même si les conditions de l'environnement, en particulier la température et l'humidité, semblent favorables à la germination. Ce phénomène d'inhibition qui intéresse non seulement les spores au moment de la germination, mais les hyphes en cours de croissance, a reçu le nom de mycostase ou fongistase **(Dommergues et Mangenot, 1970).**

Les champignons dont les spores sensibles à la mycostase sont : *Fusarium culmorum, Phomabetae, Trichoderma lignorum, Penicillium notatum, et Stachybotrisatra* **Payen,1962 ; Griffiths, (1966).** La mycostase est susceptible d'être atténuée ou même supprimée par apport au sol de substances nutritives (résidus végétaux, exsudats racinaires, mélasses, monosaccharides, disaccharides, acide citrique, acide ascorbique…) **(Lokwood, 1964 ; Payen, (1962) ; Dobbs et *al*., (1960).**Inversement, elle peut être renforcée par incorporation au sol de certaines substances organiques (paille d'avoine) **(Powelson et Patil, 1963).**

Selon **Dommergues et Mangenot (1970),** la nature biologique de la mycostase semble bien due à l'activité microbienne pour les raisons suivantes :

-La mycostase est supprimée par la stérilisation, la ch*al*eur, les antiseptiques et la dessiccation **Dobbs et *al.*, (1960).** Dans le cas de stérilisation partielle, elle réapparait rapidement avec la recolonisation du sol par les micro-organismes ;

-La mycostase peut être réinst*all*ée par inoculation avec un peu de sol non stérile ou avec des micro-organismes.

-La mycostase est d'autant plus développée que l'activité microbienne du sol est intense. Elle diminue lorsque cette activité faiblit, en particulier dans les horizons profonds ou dans les sols où l'acidité restreint la densité des micro-organismes.

Pour expliquer l'origine de la mycostase, on fait actuellement appel à l'une ou l'autre des hypothèses suivantes :

-Hypothèse de l'origine compétitive : la mycostase serait due à la déficience du sol en substrats nécessaires à la germination des spores fongique d'où apparition d'une compétition très vive entre les spores du micro-organisme sensible, d'une part et les autres micro-organismes telluriques d'autre part.
-Hypothèse de l'induction par des substances inhibitrices mycostatique en particulier, des antibiotiques **(Dommergues et Mangenot, 1970).**

IV.4. Interaction directes PGPR/Pathogène

Dans certains cas, une réduction de la m*al*adie peut être associée colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquence, leur croissance **(Piano et *al.*, 1997 ; Reyes et *al.*, 2004**). Cependant, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est dans certains cas pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle génér*al*e.

Une illustration de l'effet de la compétition pour l'espace concerne la lutte biologique contre le pathogène *Ceratocytis paradoxa* qui est responsable de la m*al*adie de la pourriture noire sur les fruits d'ananas. On a observé que cette m*al*adie a seulement été dans les fruits prétraités avec l'eau de lavage de fruits d'ananas contenant la levure *Pichiaguilliermondii*. Ce traitement permet de réduire la germination des spores, la longueur des germes et le poids sec du pathogène *C. Paradoxa* et les résultats montrent que le mode d'action de *P. guilliermondii* serait

basé sur la compétition pour l'espace et les nutriments parce qu'on n'a observé aucun effet d'antagonisme de cette levure lorsqu'elle est appliquée après l'inoculation du pathogène **(Reyes et *al.*, 2004).**

Deuxième Chapitre : Matériels et méthodes

Toute la partie expériment*al*e a été ré*al*isée au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences à l'université Yahia Farès et l'unité antibiotic*al*- SAID*AL* Médèa pendant la période *al*lant de janvier à mai 2022.

I. Matériels

I.1.Milieu de culture

- King (A et B).
- Milieu Cétrimide.
- Gélose Héktoen.
- Gélose BCP (Pourpe de Bromocrésol).
- GN (gélose nutritif).
- Milieu Sabouraud
- SS Agar (S*al*monella-shigella agar).
- Milieu chapmane.
- Milieu Bineet .
- Milieu TSA (trypticase soja).
- Milieu YEM (Yest Extract Mannitol)

(**Voir annexe 1**)

I.2. Solutions et réactifs

- *Al*cool (éthanol).
- Disque d'ONPG.
- Disques d'oxydase.
- Eau distillée.
- Eau oxygénée (H2O2).
- Fuchsine.
- Violet de Gentiane.
- Huile de vaseline.
- Huile à immersion.
- Solution de Lugol.
- Solution Chlorure de Sodium (NaCl).
- Hydroxyde de sodium (NaOH).

- Acide chlrhydrique (HCl).
- Poudre de Zinc.
- Réactif de Kovacs.
- Creatinine à 1% (VP1).
- Poudre de potasse à 10% (VP2).
- Réactif NR1.
- Réactif NR2.
- Rouge méthéle.

1. 3. Verrerie

- Erlenmeyer
- Bécher
- Flacons en verre
- Tubes à essai
- Pipette pasteur
- Lame/ Lamelle.

I.4. Appareillage

- Agitateur
- B*al*ance
- Thermomètre
- PH-mètre
- Autoclaves
- Etuve
- Distillateur
- Bain marie
- Incubateur
- Microscope optique

(**Voir annexe 2**)

II. Méthode

II.1. Objectif

les objectifs du présent travail sont :

- Isolement et identification phynotypique des souches à partir du sol arboriculture et maraîchère.
- Ev*al*uation de L'effet antagonisme des souches pré*al*ablement isolée.

II.2. Échantillonnage

Deux types de sol ont été utilisés dans cette étude : sol arboriculture et sol maraichère, ces prélèvements ont été effectué en printemps 2022_2023 dans deux zones différentes.

Les échantillons de sol (4 échantillons) ont été collectés dans deux régions : 2 échantillons à *Al*ger et 2 à Médéa. La surface du sol est d'abord débarrassée des feuilles mortes et des débris végétaux. Les échantillons sont prélevés de manière *al*éatoire à une profondeur de 30 à 40cm d'épaisseur de terre. Au niveau du laboratoire, les échantillons sont pesés (environ 20g pour chaque échantillon) puis mis dans des sachets en plastiques étiquetés. L'an*al*yse des échantillons se fait dès l'arrivée au laboratoire **(Pochon ,1964).**



Figure 8: Photos des échantillons prélevés

II.3. Préparation des dilutions

A l'aide d'une micropipette de 1000 µL, une série de dilution (10^{-1} à 10^{-5}) doit être préparée en prélevant 10g du sol et en le plaçant dans un flacon stérile contenant 90 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir la solution mer (la première dilution de $10^{-1)}$ puis on a prélevé 1 ml de la solution mer dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau physiologique chaque dilution, la même opération est répétée jusqu'à obtention de la dilution 10^{-5} **(Abdesselam et Latache, 2017).**

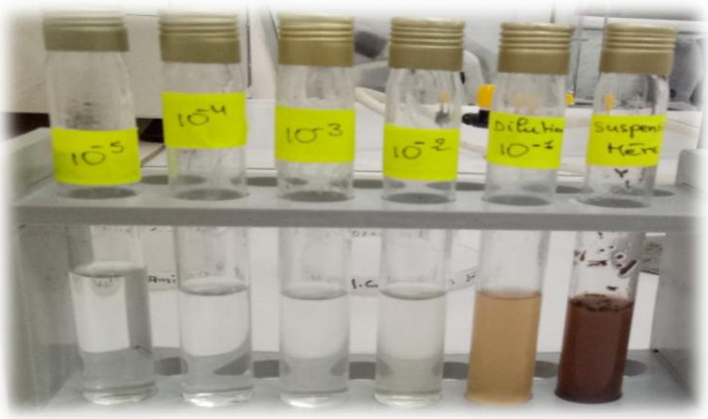


Figure 9: Gamme de dilution de la souche bactérienne

II.4. Isolement et purification des souches bactérienne :

En génér*al*, 100 µL des dilutions suivantes : 10^{-1},10^{-2} ,10^{-3} ,10^{-4},10^{-5} sont prélevées et ét*al*ées sur les milieux de cultures. Les boites de Pétri portante les indications nécessaires (dilution, type du milieu de culture, origine de l'échantillon, la date) sont incubées à 30 jusqu'à 37°C pendant 24-72 heures **(Abdesselam et Latache, 2017).** Pour isoler les bactéries du sol, plusieurs milieux sont utilisés.

Plusieurs milieux de cultures sélectifs et non sélectifs ont été utilisés (**Annexe 1**)

- **Les milieux de culture sélectif :**
  - **King (A) (King *et al.*, 1954)**

C'est un milieu sélectif utilisé pour la mise en évidence de la pyocyanine : La pyocyanine est un pigment qui bleuit le milieu, soluble dans le chloroforme et

l'eau sa production est favorisée par la présence d'ions inorganiques dans le milieu et la culture se fait à 30°C pendant 24 à 72h.

- **Milieu King B (King et *al*., 1954)**

C'est un milieu sélectif utilisé pour la recherche de la production de la pyoverdine.

Qui jaunit le milieu. Elle est insoluble dans le chloroforme. La production de la pyoverdine est favorisée par une teneur élevée en phosphate et la culture se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **Milieu Cétrimide (Azad et Cooksey, 1995).**

C'est un milieu sélectif, proche du milieu King A. Ce milieu favorise aussi la production des pigments par les *Pseudomonas* sp. Il inhibe de très nombreuses bactéries par la présence de l'antiseptique : cétrimide, ainsi que par la présence de l'antibiotique : acide n*al*idixique. L'incubation se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **Milieu SS Agar.**

C'est un milieu sélectif permet l'isolement d'*Entérobactéries* pathogéne, il est très utilisé pour la recherche de s*al*monelle et shegella et la culture se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **Milieu chapmane.**

C'est un milieu sélectif permet l'isolement de *staphylocoque*, la culture se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **Milieu Bineet.**

C'est un milieu sélectif permet l'isolement d'Actinomycète.

- **Les milieux non sélectifs.**
- **Gélose Héktoen (King *et al.*, 1954).**

C'est un milieu non sélectif qui permet l'isolement des bactéries à Gram négatif. Ce milieu permet de rechercher trois types de glucides qui sont : la s*al*icine, le saccharose et le lactose ainsi que la production d'H**2** S. La culture se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **Gélose BCP (Pourpe de Bromocrésol) (Nickerson, 1953).**

C'est un milieu non sélectif contenant une base nutritive ordinaire permettant la culture des bactéries non exigeantes. Il contient un critère de différenciation qui est la fermentation du lactose. La culture se fait à 30°C pendant 24 à 72 h.

- **GN (gélose nutritif) (Lapage et Mitchell, 1970).**

C'est un milieu non sélectif contenant une base nutritive ordinaire permettant la culture des bactéries non exigeantes comme les *Pseudomonas.* Il met en évidence la production des deux pigments ; la pyoverdine et la pyocyanine. La culture se fait à 30°C pendant 24 à78h.

- **Milieu YEM (Yeast Extract Mannitol) (Vincent,1977).**

Ce milieu est utilisé pour cultiver les bactéries du genre *Rhizobium* à 28°C.

- **Milieu Sabouraud (Sabouraud, 1910).**

C'est un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. La culture se fait à 20 - 25°C de 3 à 5 jours.

- **Milieu TSA**

Pour ce fait l'effet antagonisme.

II.4.1. Ensemencement des suspensions du sol :

Un volume de 0,1ml de chaque dilution (10^{-1} ,10^{-2},$10^{-3,}$ 10^{-4} ,10^{-5}) a été ét*a*lé à la surface d'un milieu. À l'aide d'une pipette pasteur stérile sous forme de séries de

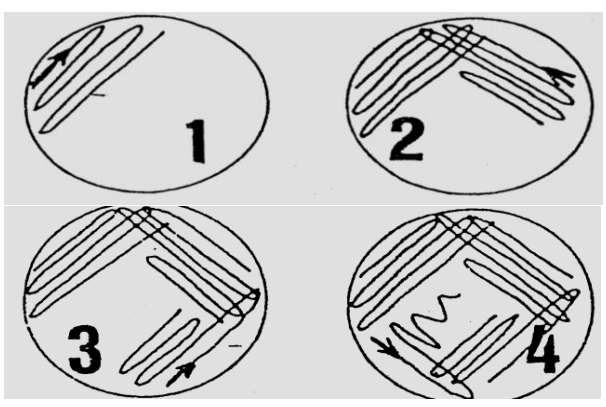




Figure 10: Ensemencement par la technique des quatre cadrans **(Vincent, 1970).**

stries. Trois répétitions ont été réalisé pour chaque échantillon, les boites de pétrie ont été incubées à 30jusq à 37C°.

II.4.2. Dénombrement :

Le dénombrement des colonies bactériennes total es a été réalisé après 24-48h d'incubation à 30jusqua 37C°, en multipliant le nombre des colonies comptées (x) par le facteur de dilution (1/d) et par l'inverse du volume ensemencé (V), selon la loi de Kass. Le nombre total des bactéries (N) dans l'échantillon de départ est exprimé par UFC.ml-1. La technique d'isolement des bactéries est celle décrit par **Vincent (1970), Somasegaran etHoben (1985 et 1994) (anonyme, 2003)**

II.4.3 Purification des souches bactériennes

Les colonies obtenues sur les différents milieux utilisés ont fait l'objet de plusieurs repiquages sur les mêmes milieux d'isolement jusqu'à obtentions des souches homogènes. Purification C'est une étape très importante et très délicate, qui demande beaucoup de temps.

- **La premier Purification :**

Après le premier ensemencement sur boite de Pétri, différentes colonies sont obtenues. La sélection a été basée sur les critères des colonies (couleur, forme, diamètre, etc.), Chaque colonie d'aspect différent est ensemencée sur le même milieu dans lequel les échantillons ont été multiplies. Les boites ensemencées seront incubées à 30 jusqu'à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **« Confirmation » :**

Après l'obtention des souches pures, nous avons faire un deuxième ensemencement sur des milieux sélectifs pour faciliter d'orienter au coure d'identification d'isolat (genre)

II.4.4. Conservation des isolats :

Les bactéries sont ensemencées dans des tubes de gélose inclinée incubés à 30 jusqu'à 37°C pendant 24 à 48 heures pour les bactéries.

Les tubes inclinés sont placés à frigidaire +4°C ou ils sont conservés plusieurs semaines (6mois).

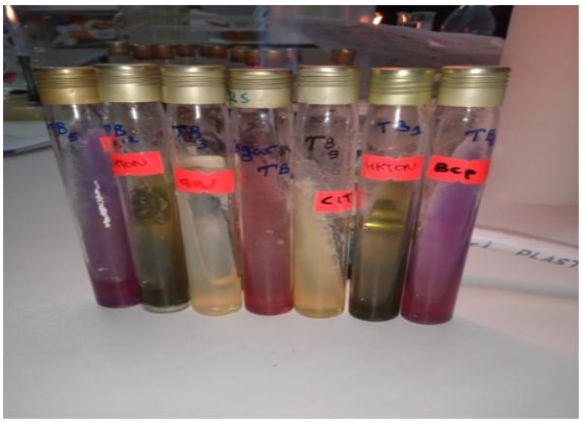


Figure 11: Gélose inclinée

Organe gramme de travail :

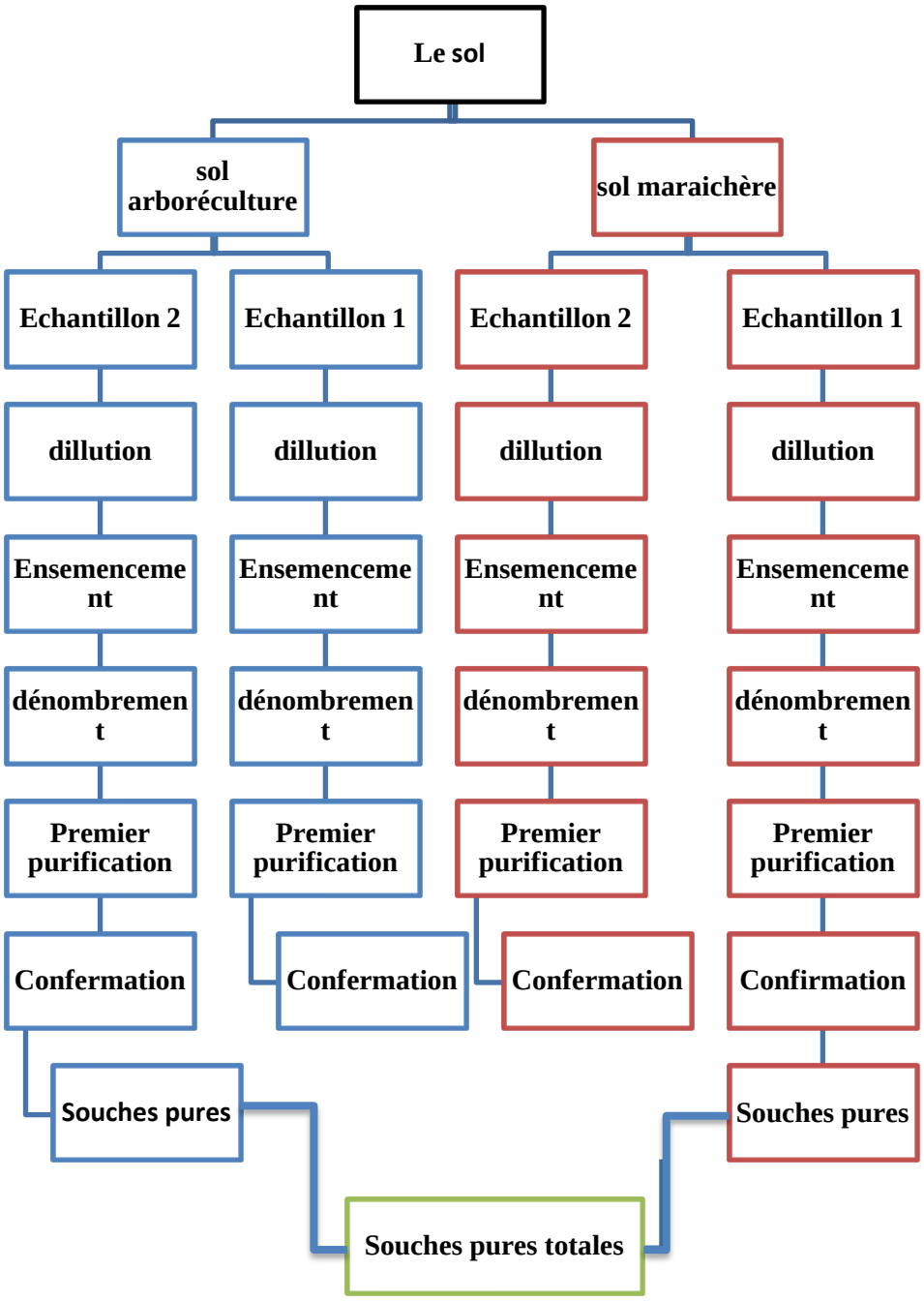


Figure 12:Protocol expérimental pour obtenir des isolats pures

II.5. Identification des isolats

L'identification des isolats bactériens est réalisée par la détermination des caractères morphologiques et biochimiques.

II.5.1. Critère morphologique :

II.5.1.1. Examen macroscopique :

L'examen macroscopique des colonies bactérienne est le premier examen effectué après l'isolement, il consiste à observer directement, à l'œil nu, l'aspect morphologique a obtenues sur les milieux utilisés après 24 à 48 heures d'incubation en tenant compte des critères noter dans le tableau suivant **(Ripert,2013).**

Tableau 4: Les éléments d'identification macroscopique

Forme	Rond, irrégulière, huileux, régulier, ...
Taille	Petite, moyenne, grande…
Couleur	Jaune, crème, orange…
Aspect	Plate, lisse, bombé …

II.5.1.2. Examen microscopique :

L'observation microscopique permet de définir certains caractères morphologiques et organisationnels des bactéries.

- **Coloration de GRAM :**
  - **Les étapes de coloration de Gram**

- À partir de la culture à étudier préparer un frottis.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute.
- Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes **(Delarras *et al.*, 2003) (Figure 13)**.
- **Lecture**

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram- sont roses.
- Les bactéries Gram+ sont de coloration violette. **(Annexe 3)**

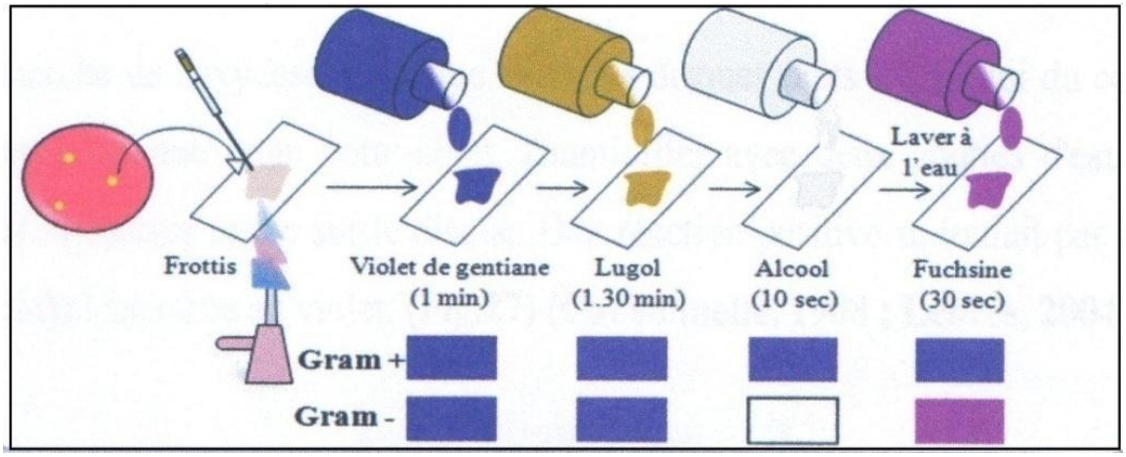


***Figure 13**:* Les étapes de coloration de Gram **(Abdi *et al.*, 2013)**

II.5.2. Critères biochimiques :

II.5.2.1. Etude des enzymes respiratoires :

II.5.2.1.1Test de cat*al*ase :

La cat*al*ase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs. Elle décompose l'eau oxygénée (H_2O_2) provenant de la respiration oxydative, en eau et en oxygène qui se dégage **(March*al* et *al.*, 1982).** La recherche de la cat*al*ase se fait en suivant le protocole suivant : A l'aide d'une pipette pasteur une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée au milieu d'une lame propre et dégraissée, avec une pipette boutonnée, un prélèvement à partir d'une culture pure de 18 heures est déposé sur l'eau oxygénée**.** Le dégagement des bulles de gaz indique la présence de cat*al*ase. S'il n'y a pas de dégagement des bulles de gaz cela indique l'absence de la cat*al*ase **(March*al* et *al.*, 1982). (Annexe4).**

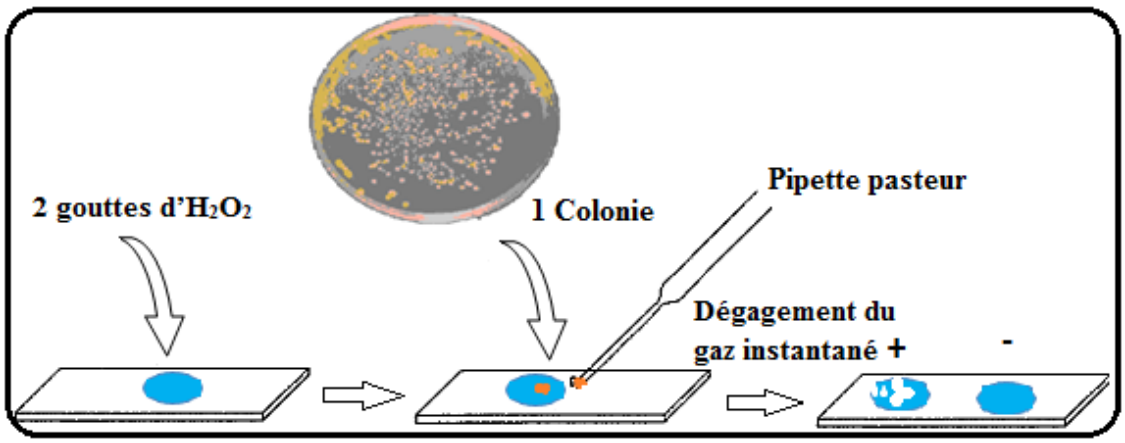


Figure 14: les étapes de test catalase

II.5.2.1.2. Test d'oxydase (DELARRAS, 2007)

Intervenant à la fin de la chaine d'oxydoréduction, l'oxydase est une enzyme qui cat*al*yse la fixation d'hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène (LEVEAU et BOUIX, 1991). Elle est présente dans certaines chaines respiratoires cytochromiques bactériennes **(DELARRAS,2007).**

- On dépose sur une lame en verre stérile un disque d'oxydase stérile.
- Imprégner le disque avec une goutte d'eau physiologique stérile.
- Déposer au-dessus une colonie bactérienne avec une Pipette Pasteur stérile.
- Observer le résultat avant 30 secondes.

L'interprétation des résultats :

- Bactéries oxydase + : s'il y'a apparition d'une couleur violette sur le disque.
- Bactéries oxydase - : si le disque reste incolore. **(Annexe 5)**

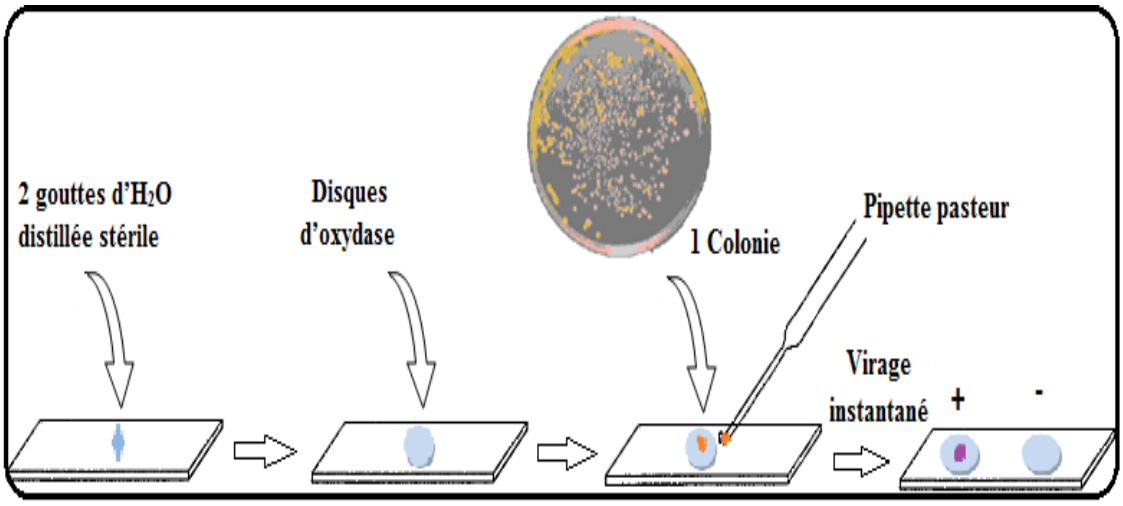


Figure 15: Les étapes de test d'oxydase

II.5.2.1.3. Nitrate réductase (GUIRAUD, 2003 ; DELARRAS, 2007)

Certaines bactéries ont la capacité de réduire le Nitrate en Nitrite selon la réaction
suivante :

$NO_3^- + 2(H^+ + e^-) \longrightarrow NO_2^- + H_2O$

Tandis que d'autre peuvent poursuivre cette réaction jusqu'au stade d'azote gazeux :

$NO_2^- + 8H^+ + 6(e^-) \longrightarrow N_2 + 4H_2O$

(GUIRAUD,2003 ;DELARRAS,2007).

La première et la dernière réaction sont respectivement cat*al*ysées par le nitrate et la nitrite réductase. La mise en évidence de la nitrate réductase se base sur la recherche des nitrites formées en fin de réaction utilisant les réactifs NR1 et NR2.

Après ensemencement et incubation pendant 24 heures à 37°C d'un tube contenant du bouillon nitraté, on rajoute 4 gouttes du réactif NR1 et 4 gouttes du réactif NR2, puis on agite bien le tube. Les résultats probables seront les suivants : Apparition d'une couleur rouge : ce qui se traduit par la présence d'un nitrate réductase dont sa souche sera dite nitrate réductase positive (NR+).

La couleur du milieu ne change pas : dans ce cas on rajoute un peu de poudre de zinc (réducteur des nitrates) et on agite :

- Si le milieu devient rose ou rouge, donc il y'a présence des nitrates dans le milieu ces derniers n'ont pas été réduits par la bactérie ; donc cette dernière est nitrate réductase négative (NR-).
- Si le milieu reste incolore, donc il ne reste plus de nitrate dans le milieu dans ce cas la bactérie les a réduits au-delà du stade nitrite atteignant le stade azote gazeux.

II.5.2.1.4. La recherche de la Staphylocoagulase :

- **Principe** : La coagulase libre est une enzyme libérée dans le milieu au cours de la culture par *Staphylococcus aureus*. Cette enzyme est capable in vitro de coaguler le plasma de lapin. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de S.*aureus*].
- **Technique** : Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma ox*al*até + 0,5 ml d'une culture de 18 heures de la souche à étudier. Placer le mélange à 37°C. Des lectures doivent être effectuées toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures.

- **Lecture** : Coagulation du plasma →Coagulase (+) → *Staphylococcus aureus*
  Pas de coagulation du plasma →Coagulase (-) → autres espèces de *Staphylocoque*s.

II.5.2.2. Examen de type de respiratoire :

L'étude du type respiratoire des souches bactériennes a été effectué sur le milieu Vf (viande-foie, A l'aide d'une anse de platine contenant une colonie pure de 24 heures une piqûre centr*al*e est r*éal*isée dans un tube de milieu vionde de fois. Après incubation pendant 24h.

L'apparition d'une culture bactérienne le long de la piqûre centr*al*e indique que la bactérie est anaérobie tandis que l'apparition d'un trouble et aérobie stricte une couche se forme sur la surface.



Figure 16: test respiratoire

II.5.2.3. Etude de la fermentation du mannitol (test du mannitol mobilité) :

Pour étudier la fermentation du mannitol et la mobilité, on utilise le milieu mannitol-mobilité. La dégradation du mannitol conduit à la formation du fructose et aboutie à des acides (acides acétique, acide formique).

Le test est effectué comme suite :

On ensemence un tube d'un milieu mannitol-mobilité par piqure centr*al*e puis l'incuber à 37°C pendant 24h et on observe les résultats : Virage du milieu du rouge au jaune : mannitol positive. Le milieu ne change pas de coloration : mannitol négative. Mobilité positive : trouble du milieu, développement et diffusion des bactéries à partir

de la piqure d'ensemencement. Mobilité négative : croissance des bactéries tout au long de la piqure d'ensemencement uniquement.

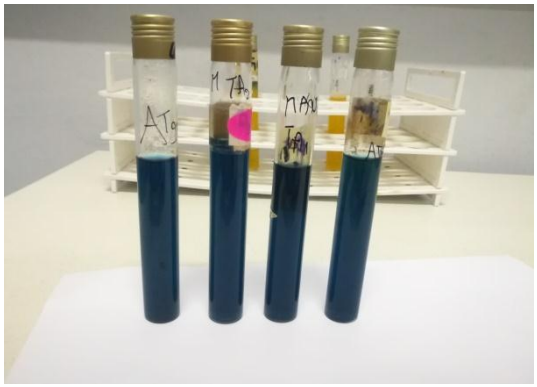


Figure 17: Milieu mannitol de mobilité

II.6. Les g*al*eries Api utilisé :

Le système API BioMérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes *al*véoles qui composent la micro -g*al*erie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les *Entérobactéries* . Elle comprend 20 tests biochimiques.

II.6.1 La G*al*erie API 20 E :

La g*al*erie API 20E est un système pour l'identification des *Entérobactéries* et autre bacilles Gram négatifs, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données **(Abessa et Tabet, 2014)**.

- **Principe**

La g*al*erie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs **(Abessa et Tabet, 2014).**

- **Mode opératoire**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boite d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau
- distillée dans les *al*véoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : |CIT |, |VP |, |GEL|, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE,H2S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boite d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures **(Abessa et Tabet, 2014).**

- **Lecture :**

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées et révéler les tests nécessitants l'addition de réactifs

- **Test VP :** ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- **Test TDA** : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncé indique une réaction positive.
- **Test IND** : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en2minutes indique une réaction positive. **(Annexe 6)**



Figure 18: API 20 E

II.6.2. La g*al*erie API 20 NE :

C'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non *Entérobactéries* et non fastidieux (exp: *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Moraxella, Vibrio, Aeromonas* ..etc) **(Abessa et Tabet, 2014)**

- **Principe**

La g*al*erie API 20 NE comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne s*al*ine qui reconstitue les milieux **(Abessa et Tabet, 2014).**

- **Mode opératoire**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Préparation de la g*al*erie
- Inscrire la référence de la souche sur languette latér*al*e de la boite.
- Réunir fond et couvercle de la boite d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la g*al*erie de son emb*all*age individuel et la placer dans la boite d'incubation **(Aouissi, 2010).**

- **Préparation de l'inoculum**

À partir d'une culture jeune (18-24h), on ré*al*ise une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.

Mettre 0.2 ml de suspension bactérienne à l'aide d'une pipette dans l'API medium **(Abessa et Tabet, 2014)**

- **L'inoculation de la g*al*erie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO3 à PNPG.
- Les tests GLU, ADH, URE vont être complété avec l'huile de vaseline.
- Remplir les tubes et les cupules des tests de ׀GLU׀ à ׀PAC׀.
- La boite d'incubation est refermée et incuber à 37°C pendant 24h pour une première lecture et 48h pour une deuxième lecture. **(Fartes *et al*., 2015)**.

- **Lecture et interprétation**

- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification **(Abessa et Tabet., 2014)**. **(Annexe 7)**

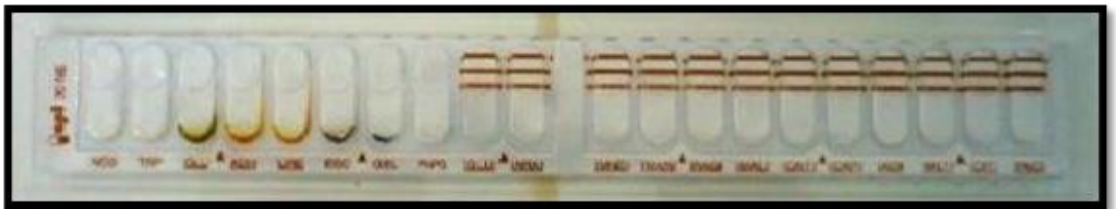


Figure 19*:* API 20 NE

II.6.3. La g*al*erie API Staph

- **Principe**

La g*al*erie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne s*al*ine qui reconstitue les milieux. **(Aouissi, 2010)**

- **Mode opératoire**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

✓ **Préparation de la g*al*erie**

- Inscrire la référence de la souche sur languette latér*al*e du biote.
- Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.

Sortir la g*al*erie de son emb*all*age individuel et la placer dans la boite d'incubation. **(Aouissi,2010)**

✓ **Préparation de l'inoculum**

A l'aide d'une anse de platine on prélève 2 ou 3 colonies et on les ensemence dans l'ampoule d'Api medium. **(Fartes *et al*., 2015)**.

✓ **L'inoculation de la g*al*erie**

- A l'aide d'une pipette remplir les tubes de la g*al*erie avec API Staph Medium ensemencé des tests NO3 à PNPG. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- Les tests ADH, URE vont être complété avec l'huile de vaseline.
- Renfermer la boîte d'incubation puis incubé à 37°C pendant 24 heures. **(Fartas *et al*., 2015)**.

- **Lecture et interprétation**

- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification. **(Aouissi., 2010)**. **(Annexe 8)**



Figure 20: API staph

Organigramme de travail :

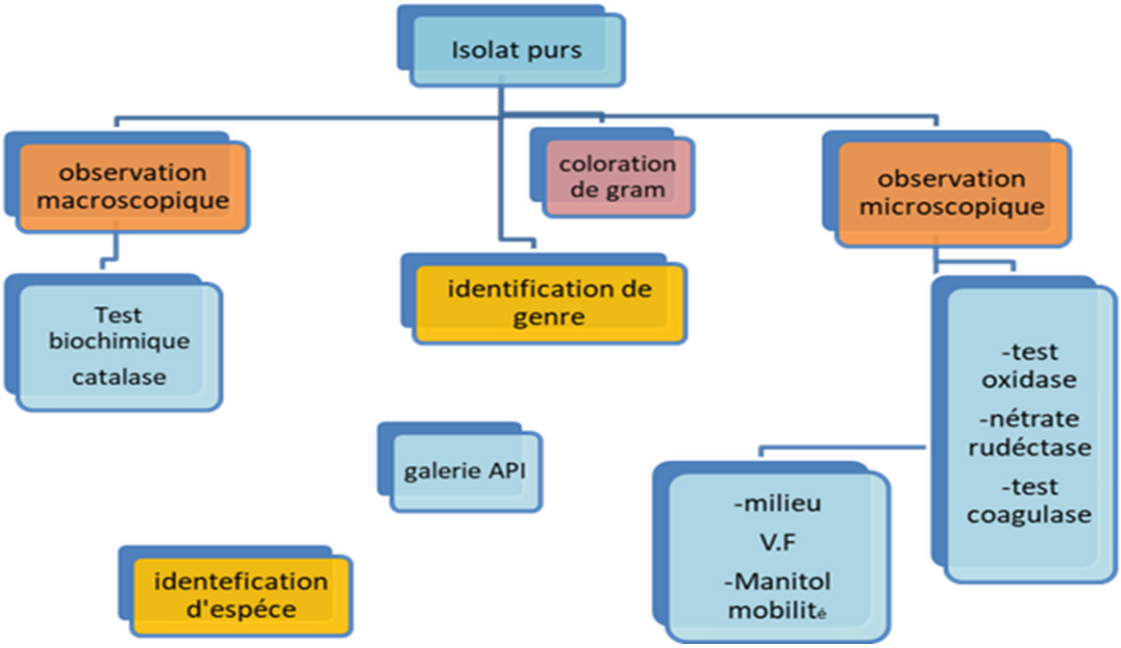


Figure 21 : Schéma montrant les étapes implique dans l'identification

III. Recherche des inhibitions (antagonisme)

L'antagonisme a été recherché par deux interactions réalisées par une méthode directe (confrontation bactérie ou champignon / bactérie)

Evaluation du phénomène d'antagonisme des souches bactérienne vis-à-vis *Fusarium oxysporum* par la technique de confrontation directe

On a ensemencé les souches bactériennes sur la moitié d'une boite de pétri contenant le milieu sabouraud par écouvillonnage. Puis, un disque de gélose contenant le champignon *F. oxysporum* a été déposé sur la moitié non ensemencé de la boite en gardant une distance de 2.5 cm entre la bactérie et le champignon. Chaque souche bactérienne est confrontée au *F. oxysporum* à raison de 3 répétitions.

Le témoin consiste en une boîte contenant une pastille du champignon de 06 mm de diamètre et où l'inoculum bactérien est remplacé par de l'eau distillée stérile **(Dennis et Webster, 1971; Wong et Baker, 1984; Weller et Cook, 1986; Inam-ul-Haq et *al*, 2003)**. L'incubation des boîtes est faite à 28°C pendant 10 jours.

La lecture des résultats consiste à mesurer la distance parcourue par le champignon en direction de l'antagoniste bactérien. Ainsi le pourcentage d'inhibition (%) a été c*al*culé selon la formule suivante :

L'év*al*uation du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de V. dahliae est estimée Selon la formule suivante **(Wang et *al*. 2002)** :

(%) inhibition = (R témoin-R test)/ R témoin x100

R témoin: distance radi*al*e maxim*al*e de croissance du champignon.

R test: distance radi*al*e sur une ligne en direction de l'antagoniste. Il est à noter qu'à partir de 20%, on peut parler

Pour les bactéries.

Solen **Fleming et *al.*(1975)** avec quelque modification

Sur des boites de Pétri contenant le milieu TSA et à l'aide d'un écouvillon stérile,on ensemence les suspensions bactérienne par des stries serrées sur toute la surface de la boite, de haut en bas en tournant la boite de 60° pendant trois fois

Puis, à partir des boites contenant les souches à étudier, on découpe des disques de gélose d'un diamètre de 4 à 6mm contenant les colonies, et on les dépose aseptiquement sur la gélose déjà ensemencée avec les germes test. L'incubation se fait à 30° C pendant 24 à 48 heures.

Un résultat positif se traduit par une zone d'inhibition autour du disque de gélose, ce qui indique la synthèse de molécules antibactériennes.

Troisième Chapitre : Résultats et discussion

I. Isolement et purification des isolats

I.1.Isolement des isolats

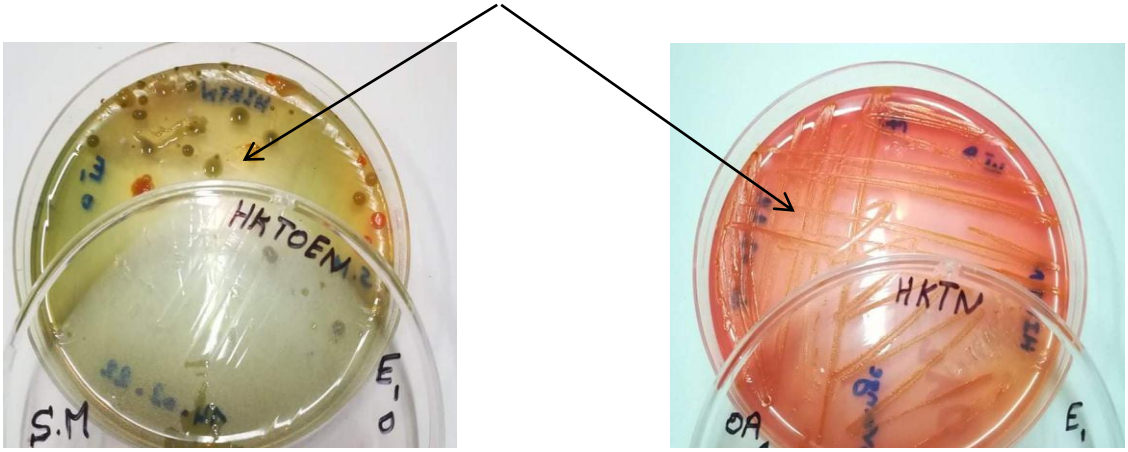


Figure 22: Aspect macroscopique de colonie isolé (prise personnelle).

Dans ce travail nous avons examiné 2 échantillons de sol. Les échantillons sont ensemencé sur différents milieux de culture solides et semi solide (Cétrimide, Héktoéne ,Ss agar, BCP ,YEM ,Sabouraud, binette ,PDA, Chapman), contenir les sources d'énergie nécessaire à la croissance des bactéries, après incubation à l'étuve de 30 jusqu'à 37°C pendant 24à 48 heure. Nous avons montré une diversité dans les types de bactérie et en nombre colonies relativement déférent, c'est ce qui nous a poussés à purifier (**Figure** 22)

I.2.Densité de la flore bactérienne tot*al*e du sol de tomate et d'olivier



Figure 23: Dénombrement sur différent milieu de culture

Le dénombrement de la microflore tot*al*e des bactéries cultivables de sol de tomate et d'olivier a été effectué après une incubation de 24à 48h à 30 jusqu'à 37°C (**Figure** 23). Sachant que le nombre de colonie doit être compris entre 30 à 300

colonies, Selon **Dommergues et Mangenot (1970),** les densités bactériennes dans les sols soumis à des conditions écologiques dures (régions arides et régions polaires), sont faibles mais elles ne tombent rarement en dessous de 104- 105germes /g de sol sec dans les horizons superficiels.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant **(tableau 5)** et la **(Figure 24)**

Tableau 5: Dénombrement des bactéries isolées à partir du sol de tomate et d'olivier

Echantillon	**Milieu de culture**	**Nombres des colonies**	**Charge bactérienne UFC.mL^{-1}. 10^{3}**	**Nombre d'isolats**
Sol de tomate (E1)	Héktoéne	116	116	4
	Ss agar	112	112	4
	BCP	169	169	4
	Chapman	51	51	2
	Binette	156	156	1
	YEM	284	284	1
Sol d'olivier (E2)	Héktoéne	77	77	4
	BCP	69	69	5
	Chapman	51	51	1
	Binette	170	170	1
	YEM	280	280	1

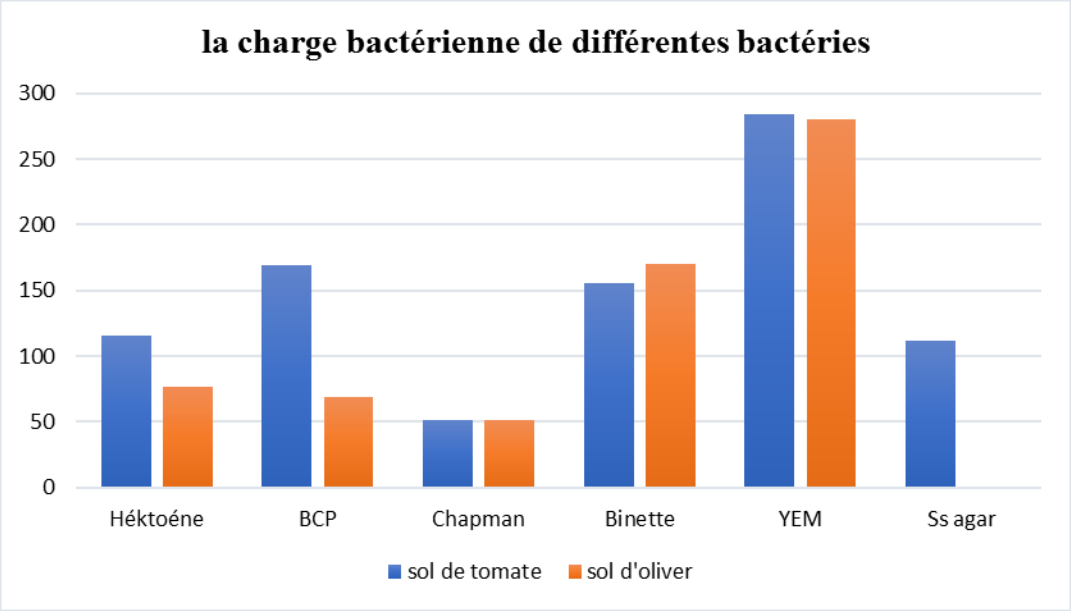


Figure 24: Histogramme représentant la charge bactérienne de différentes bactéries dans chaque milieu de culture dilution 10-3 à partir du sol de tomate et d'olivier

Selon les **Figure**s précédentes, nous avons réalisé une comparaison de la charge bactérienne présente dans déférente milieux de culture. On n'observe une présence des colonies en milieu Ss agar dans le sol de tomate avec une absence totale dans le sol d'olivier, YEM a donné meilleure résultat 284 colonies par rapport aux milieux chapman, BCP, Hektoen et Ss agar, la charge bactérienne du milieu BCP et Hektoen est très élevé pour le sol de la tomate.

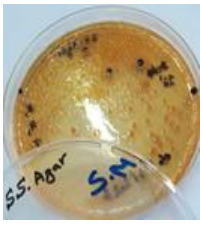
Donc, nous avons trouvé une charge bactérienne forte au niveau de l'échantillon (O) prélevé de la région de Médéa, et très forte densité au niveau de l'échantillon (T) de la région d'Alger.

I.3.Purification

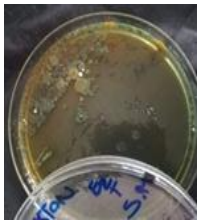
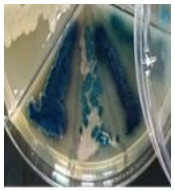
C'est une étape très importante et très délicate, qui demande beaucoup de temps. Après le premier ensemencement sur boite de Pétri, différentes colonies sont obtenues. La sélection a été basée sur les critères des colonies (couleur, forme, diamètre, taille, surface, …) Chaque colonie d'aspect différent est ensemencée sur le même milieu et incubé à 30 jusqu'à 37°C pendant 24 à 48 heure. Puis nous avons procédé à la deuxième purification, en effectuant des repiquages successifs dans des milieux sélectif à l'aide des fiches technique de chaque milieu sélectif**,** Ces derniers ont été réalisés par la méthode des stries d'épuisement.

Les résultats obtenus sont représentés dans les (Tableau)

Tableau 6: Résultats de la purification des souches bactériennes du sol de tomate

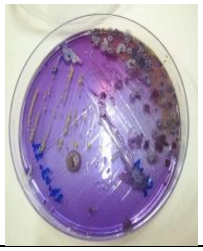
Premier purification				**Deuxième purification**			
Milieu de culture		**Souche mer**	**Isolat pur**	**Milieu sélectif**	**Isolat pure**	**Possibilité de nom de genre**	**Nmbr d'isolat purs**
	Héktoen			Héktoen		*Entérocoques Staphylocoque*	3
						Schegella Pseudomonas acenetobcter	
				citremide		*Pseudomonas P.airegenosa*	
	Ss agar			Ss agar		*Schegella Klebsella Enterobacter*	2
						Salmonella P.merabilus Enterobacter	
	Chapman			Chapman		*S.aurieus S.non aurieus*	1

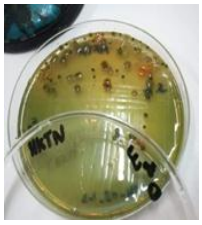
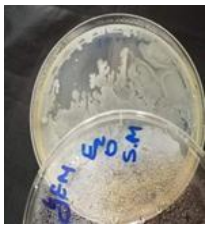
Sol de tomate (E 1)	**BCP**			BCP		*Salmonella* *Schegella* *P. vulgarus*	2
				Chapman		*S.aurieus* *S.non aurieus*	
	Cétrimide			King A et B	 	*P.aerogenosa* *Pseudomonas*	1
	Binette			Binette		*Actinomycet*	1
	YEM			YEM		*Rhizobium*	1

Sol de tomate (E2)	**Héktoen**			Chrom agar		*Streptococus* *Enterococus*	2
				Héktoen		*Acenetobacter* *Pseudomonas*	
	Ss agar			Ss agar		*Salmonella* *Schegelle* *Enterococus*	1
	Chapman			Chapman		*S.aurieus* *S.non aurieus*	1
	Cétrimide			King A et B	 	*Pseudomonas* *P.aerogenosa*	1
	BCP			Chapman		*Staphylococus* *Streptococcus* *Enterococcus*	2
				BCP		*Protieus* *volgarus* *Schegella* *Salmonella*	

A partir de sol de tomate prélevée au niveau de la région d'*Alg*ie, nous avons isolé 18 souches bactériennes, 5 souches pures obtenus à partir de milieu Héktoen, 4 souches en milieu BCP et 3 pour le milieu Ss agar qui rapporté la densité des *Entérobactéries*, et les six autres souches entre les restes milieux, Celles-ci ont été sélectionnées en tenant compte de leurs caractéristiques macroscopiques microscopiques et biochimiques.

Tableau 7: Résultats de la purification des souches bactériennes du sol d'olivier

Premier purification				**Deuxième purification**			
Milieu de culture		**SM**	**Pure**	**Milieu selectif**	**pure**	**Possibilité de nom**	**Nombr d'isolat pur**
Sol d'olivier (E1)	**Héktoen**			Héktoen		*Bacillus* *Klebcilla* *E. coli*	2
				Héktoen en 44°C		*Acenetobacter bomané/Acenetobacter*	
	BCP			BCP		*Salmonella* *P. volgarus* *E.coli* *Klebcilla* *Enterobacter*	

				Chapman		*Staphylococcus* *Enterococcus*	3
Sol d'olivier (E2)	**Héktoen**			Héktoen		*Acenetobacter* *Pseudomonas* *Schegella* *E. coli* *Enterobacter*	2
	BCP			BCP		*Salmonella* *Schegella* *P. vulgaris* *E.coli* *Enterococcus* *Staph*	2
	Binette			Binette		*Actenomycete*	**1**
	YEM			YEM		*Rihzobuim*	**1**

A partir de sol d'olivier prélevé au niveau de la région de Médéa, nous avons isolé 11 souches bactériennes a révélé 5 souches en milieu Héktoen et 4 à partir de milieu BCP, une seule souche pour milieu binette et YEM. Ces résultats conclurent la diversité bactérienne entre les deux sols.

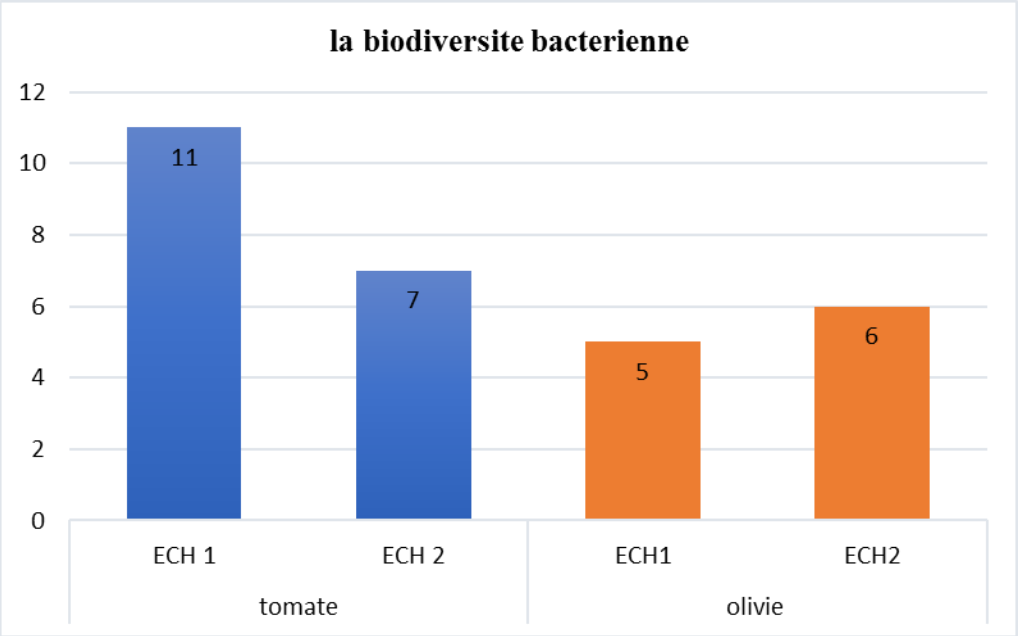


Figure 25*:* Histogramme représentant la biodiversité bactérienne à partir chaque sol maraicher et arboriculture

Après la comparaison entre le nombre d'isolats obtenus dans les défirent type de sol. Le sol de tomate représente 11 souches dans l'échantillon 1 et 7 dans le deuxième échantillon, au contraire pour le sol d'olivier le nombre des souches ont été très proches 5 et 6 respectivement.

Depuis ces résultats le sol maraicher contient le nombre plus élevé que l'arboriculture (olivier), 18 et 11 isolats respectivement.

II. Identification

II.1. Résultats des critères morphologiques

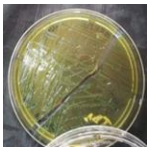
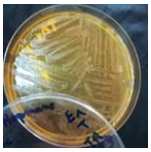
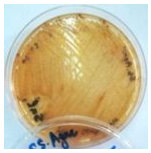
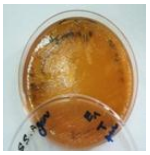
II.1.1. Examen macroscopique

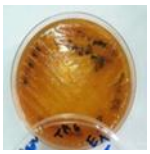
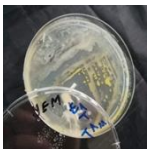
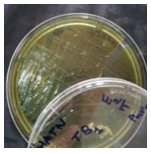
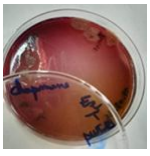
Les critères macroscopiques des 18 souches bactériennes isolées à partir du sol de la tomate sont représentés dans le **(Tableau 8).**

Les critères macroscopiques des 11 souches bactériennes isolées à partir du sol d'olivier sont représentés dans le **(tableau 9)**

L'observation des colonies cultivées sur plusieurs milieux a révélé différent aspects morphologiques (forme, taille, couleur, aspect), ces critères de base décrit par (**Botelho et Leda, 2006).**

Tableau 8: Résultats de l'examen macroscopiques des souches bactériennes isolées à partir du sol de tomate (T) basée sur les critères morphologiques

Echantillons		Taille	Forme	Aspect	Couleur	Aspect macroscopique
Sol de tomate (E 1)	TA1	Petite	Ronde régulière	Lisse	Vert	
	TA2	Petite	Ronde régulière	Bombé	Jaune orangé	
	TA3	Petite	Ronde irrégulière	Lisse	Jaune orangé	
	TA4	Petite	Ronde	Bombé	Jaune centre noir	
	TA5	Petite	Ronde régulière	Lisse	Jaune	
	TA6	Petite	Ronde	Lisse	Incolore	

	TA7	Petite	Ronde	Lisse	Incolore	
	TA8	Petite	Ronde régulière	Lisse	Bleu	
	TA9	Petite	Irrégulière	Bombé	Crème	
	TA10	Grande petite	Ronde	Bombé	Blanche	
	TA11	Grande	Irrégulière	Lisse	Jaune	
Sol de tomate (E2)	TB1	Petite	Ronde	Bombé	Vert	
	TB2	Petite	Ronde	Bombé	Vert /orange	
	TB3	Grande	Ronde Irrégulière	Lisse	Jaune /orange	

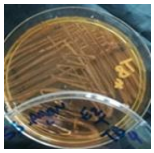
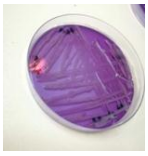
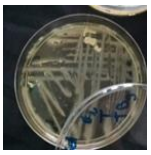
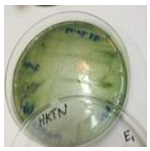
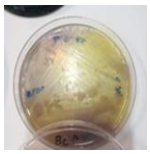
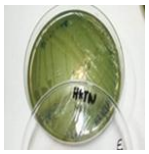
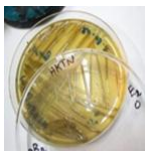
	TB4	Petite	Ronde	Bombé	Orange	
	TB5	Petite	Ronde	Lisse	Jaune	
	TB6	Moyenne	Ronde régulière	Lisse	Incolore	
	TB7	Petite	Ronde irrégulière	Bombé	Crème	

Tableau 9: Résultats de l'examen macroscopiques des souches bactériennes isolées à partir du sol d'olivier (O) basée sur les critères morphologiques

Echantillon		Taille	Forme	Aspect	Couleur	Aspect macroscopique
Sol d'olivier (E1)	OA1	Petite	Ronde	Bombé	Vert	
	OA2	Petite	Ronde régulière	Bombé	Saumon	
	OA3	Petite	Ronde	Bombé	Transparente blanche	

	OA4	Moyenne	Ronde régulière	Bombé	Jaune	
	OA5	Grande	Ronde irrégulière	Lisse	Incolore	
Sol d'olivier (E2)	OB1	Petite	Ronde	Bombé	Vert	
	OB2	Petite	Ronde	Lisse	Orang/vert	
	OB3	Petite	Ronde	Bombé	Transparente	
	OB4	Petite	Ronde irrégulière	Bombé	Jaune	

II.1.2. Examen microscopique

Après avoir effectué la coloration différentielle de Gram, nous avons observé les frottis colorés au microscope optique au grossissement 1000. Cette technique nous a révélé des bactéries Gram négatif et des bactéries Gram positif de tailles différentes. Les souches à étudier présentent des morphologies différentes : en bâtonnet, en coque.

L'examen microscopique des 18 souches bactériennes isolées à partir du sol de tomate a révélé 10 souches à Gram négatif et 8 souches à Gram positif. La plupart des souches à Gram négatif étaient de formes bacilles.

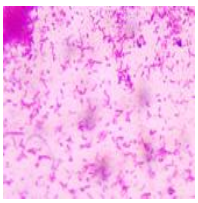
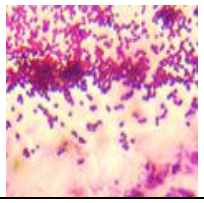
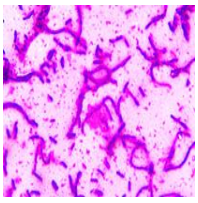
Par contre les souches bactériennes à Gram positif étaient des coccis et bacilles de petite taille et parfois moyenne.

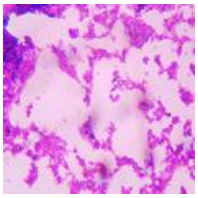
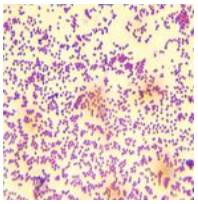
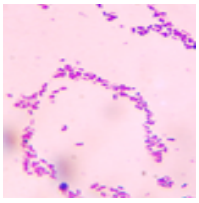
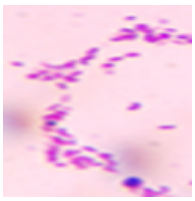
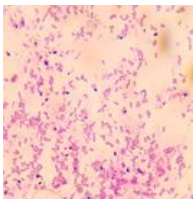
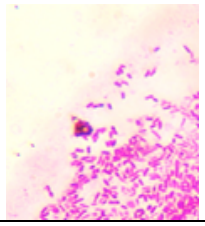
L'examen microscopique des 11 souches bactériennes isolées à partir du sol d'olivier a révélé 6 souches à Gram négatif et 5 souches à Gram positif. La plupart des souches étaient de formes différentes : bacilles, coccis.

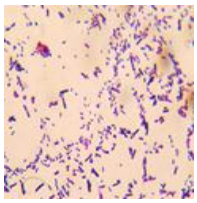
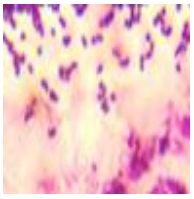
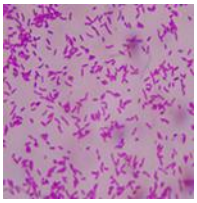
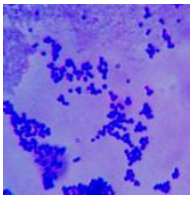
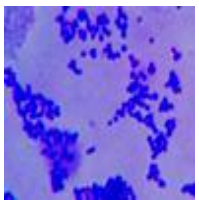
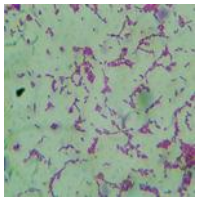
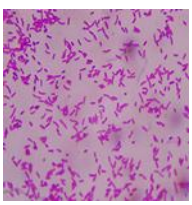
Les souches bactériennes étaient déférentes d'une espèce à une autre ; ainsi les bactéries à Gram négatif était soit : isolées, en diplocoque. Les bactéries à Gram positif était soit : isolées, en chainettes, en amas ou en diplocoque.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivant **(tableau10)** et **(tableau11)**:

Tableau 10: Résultats de l'examen microscopique des souches bactériennes isolées à partir du sol de tomate

Souches		**Coloration de Gram**			
		Gram	**Forme**	**Agencement**	**Aspect microscopique**
Sol de tomate (E1)	TA1	-	Bacille	Isolés	
	TA2	+	Cocci	Diplocoque, en petite chaine	
	TA3	+	Bacille	Isolés, en chainette	

	TA4	-	Bacille	Isolés, en chainette	
	TA5	+	Cocci	Diplocoque, en amas	
	TA6	-	Bacille	Isolés, en amas	
	TA7	-	Bacille	Isolés,en amas	
	TA8	-	Bacille	Isolés	
	TA9	-	Bacille	Isolés	

	TA10	+	Bacille	Isolés, en chainette	
	TA11	+	Cocci	Diplocoque, en petite chaine	
Sol de tomate (E2)	TB1	-	Bacille	Isolé	
	TB2	+	Cocci	Grappe de raisin	
	TB3	+	Cocci	Grappe de raisin	
	TB4	+	Cocci	Isolé, en amas	
	TB5	-	Bacille	Isolé	

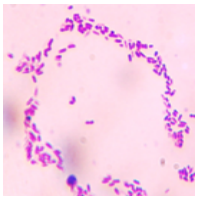
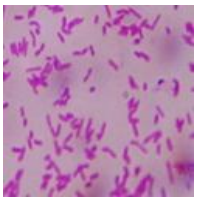
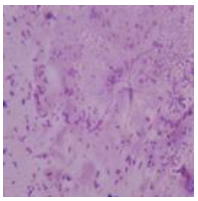
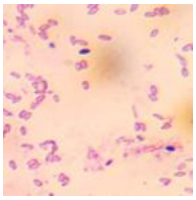
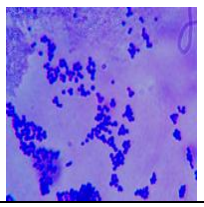
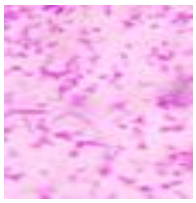
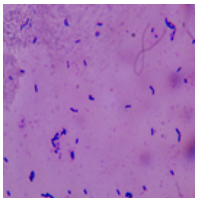
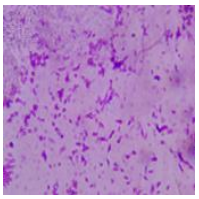
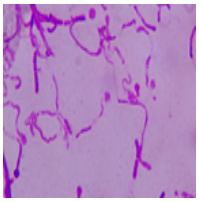
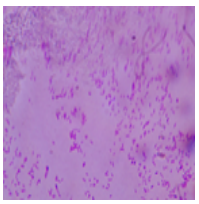
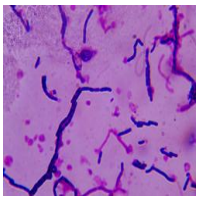
	TB6	-	Bacille	Isolé	
	TB7	-	bacille	Isolé	

Tableau 11:Résultat de l'examen microscopique des souches bactériennes isolées à partir du sol d'olivier

Souche		**Coloration de Gram**			
		Gram	**Forme**	**Agencement**	**Aspect microscopique**
Sol d'olivier (E1)	OA1	-	Bacille	Isolé	
	OA2	-	Bacille	Petite, isolé	
	OA3	+	Cocci	Grappe de raisin	

	OA4	-	Bacille	Isolés	
	OA5	-	Bacille	Isolés, en petite chaines	
Sol d'olivier (E2)	OB1	-	Bacille	Isolé, petite	
	OB2	+	Bacille	Isolé, en chainette	
	OB3	-	Bacille	Isolé	
	OB4	+	Bacille	Isolé, en langue chaine	

II.2. Résultats des critères biochimiques

Les résultats de la caractérisation biochimique des souches isolées à partir des deux sols sont représentés dans les tableaux et les **Figure**s suivants.

II.2.1. Teste cat*al*ase, oxydase et nitrate réductase



Figure 26: teste oxydase

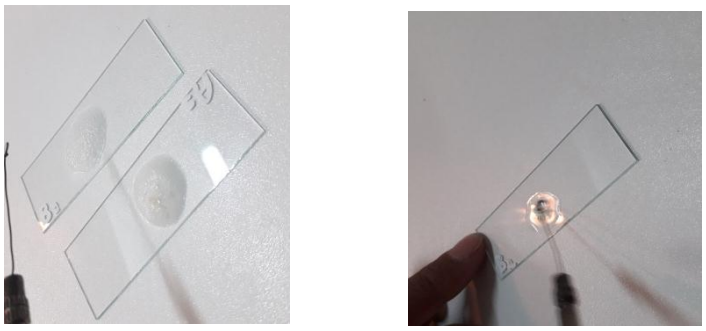


Figure 27*:* Teste catalase



Figure 28: Teste nitrate réductase

Toutes les souches isolées sont oxydase positive à l'exception des souches : TA4, TA5, TA9, TA11, TB2, TB3, TB4, TB7 **(Figure26).** Les souches TA3, TA8, TB2, TB3 et TB5 sont cat*al*ase négative tandis que les autres souches sont cat*al*ase positive **(Figure 27) et (Tableau 12).**

Le test de cat*al*ase permet d'établir un diagnostic différentiel entre les *Streptococcus* et les *Staphylococcus* **(Danessa, 2015).** Toutes les espèces du genre *Staphylococcus* possèdent une cat*al*ase à l'exception de *S. aureus* sous espèce *anaerobius,* **(Kloos et Bannermant, 1994).**

Pour le nitrate réductase, tous les 12 souches an*al*ysées sont positives N.R sauf la souche TB6 est négative N.R (**Figure 28) et (Tableau 12).**

Tableau 12: Test biochimique oxydase cat*al*ase et nitrate réductase des isolats (sol de tomate)

Echantillon	Souche	Cat*al*ase	Oxydase	Nitrate réductase
Sol de tomate (E1)	**TA1**	++	+	/
	TA2	++++	+	+
	TA3	-	+	+
	TA4	++	-	/
	TA5	++++	-	+
	TA6	++++++	+	+
	TA7	++	+	+
	TA8	-	+	+
	TA9	++++	-	/
	TA10	+++	+	+
	TA11	+	-	/
Sol de tomate(E2)	**TB1**	+	+	+
	TB2	-	-	+
	TB3	-	-	+
	TB4	+	-	+
	TB5	-	+	/
	TB6	+	+	-
	TB7	+	-	/

Toutes les souches isolées sont cat*al*ase positives **(Figure 27)**. Les souches OA1, OA3, OB3, OB4 sont oxydase négative tandis que les autres souches sont oxydase positive (**Figure 26) (Tableau 13).**

Pour le nitrate réductase, toutes les souches ne sont pas an*al*ysées sauf OA3, OB4 positive N.R (**Figure 28) et (Tableau 13).**

Tableau 13: Test biochimique oxydase cat*al*ase et nitrate réductase des isolats (sol d'olivier)

Echantillon	Souche	Cat*al*ase	Oxydase	Nitrate réductase
Sol d'olivier(E1)	**OA1**	+	-	/
	OA2	+	+	/
	OA3	+++++++	-	+
	OA4	+	+	/
	OA5	+	+	/
Sol d'olivier(E2)	**OB1**	+	+	/
	OB2	+	+	/
	OB3	+	-	/
	OB4	+	-	+

II.2.2. Teste mobilité, type respiratoire et coagulase



Figure 29: Teste type respiratoire (milieu VF)

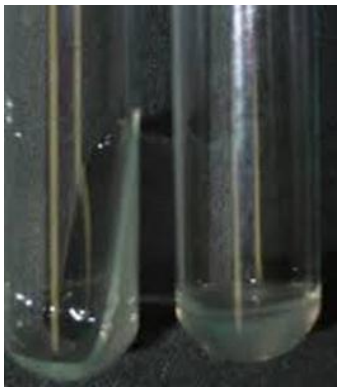


Figure 30: Teste coagulase

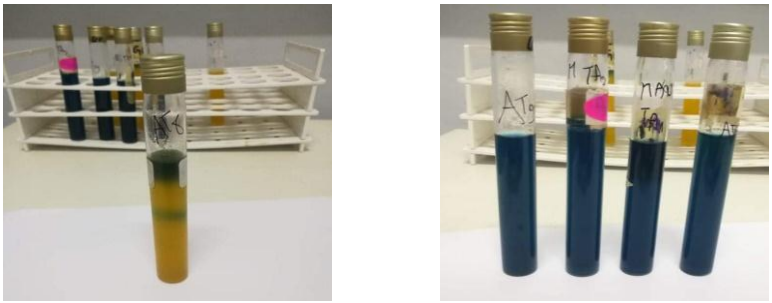


Figure 31: Teste mobilité (milieu mannitol mobilité)

La plupart des souches sont mobile, les souches TA1, TA2, TA5, TB2, TB3, TB4, TB5, TA10, TA11 sont immobile.

Pour le type respiratoire 8 souches sont aéro-anaérobie facultatif ,8 souches sont aérobies stricte et 2 souches sont anaérobies.

Cinque souches sont an*al*ysées par teste coagulase 3 souches sont négatif et 2 sont positif **(Tableau 14).**

Tableau 14: Teste mobilité, type respiratoire et teste coagulase des isolats (sol de tomate)

Echantillon	Souche	Mobilité	Type respiratoire	Teste coagulase
Sol de tomate (E1)	**TA1**	-	AS	/
	TA2	-	AAF	-
	TA3	+	AAF	/
	TA4	+	AAF	/
	TA5	-	AS	-
	TA6	+	AAF	/
	TA7	+	AAF	/
	TA8	+	AAF	/
	TA9	+	AS	/

	TA10	-	AS	/
	TA11	-	AS	/
Sol de tomate(E2)	**TB1**	+	AS	/
	TB2	-	A	+
	TB3	-	A	+
	TB4	-	AAF	-
	TB5	-	AS	/
	TB6	+	AAF	/
	TB7	+	AS	/

AS : Aérobie stricte AAF : Aéro-anaérobie facultatif A : Anaérobie

La plupart des souches sont mobiles à l'exception OA1, OA3, OA4 sont immobile. Toutes les souches sont aéro-anaérobie facultatif sauf OA1, OA3 et OA4 sont aérobies stricte, Pour le teste coagulase une seule souche an*al*ysée est négatif.

Les résultats montrent que les isolats présentent une diversité micro-morphologique. Les bactéries du sol ont une grande variété de formes. Elles peuvent être mobiles ou immobiles, et posséder ou non des formes de résistance (spore, capsule) **(Dommergues, 1970).**

Tableau 15: Teste mobilité, type respiratoire et teste coagulase des isolats (sol d'olivier)

Echantillon	**Souches**	**Mobilité**	**Type respiratoire**	**Teste coagulase**
Sol d'olivier(E1)	**OA1**	-	AS	/
	OA2	+	AAF	/
	OA3	-	AS	-
	OA4	-	AS	/
	OA5	+	AAF	/
Sol d'olivier(E2)	**OB1**	+	AAF	/
	OB2	+	AAF	/
	OB3	+	AAF	/
	OB4	+	AAF	/

AS : Aérobie stricte AAF :Aéro-anaérobie facultatif

III. Identification biochimique des souches par la g*al*erie API 20 E, API 20 NE, API STaph :

Les g*al*eries API système sont des tests miniaturisés utilisés princip*al*ement pour l'identification rapide des bactéries médic*al*es **(Figure 32)**, néanmoins ces tests ont été largement utilisés pour la caractérisation biochimique des bactérie de l'environnement **(Logan et Berkeley, 1981 ; Busse et *al*., 1996)** . Les résultats de la caractérisation biochimique des souches sont représentés dans les tableaux suivants.

III.1. Résultat de g*al*erie API 20E



Figure 32: Galerie API 20E, appliqué sur déférentes souches.

Une g*al*erie biochimique d'identification (API 20E, bio Mérieux) a été ré*al*isée selon le mode opératoire décrit dans le prospectus. Les g*al*eries ont étés incubés à 37°C pendant 24h, les résultats obtenues sont les suivants :

Tableau 16: Les résultats des souches par g*al*erie API 20E

Souches		ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Sol de tomate	TA1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
	TA4	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	TA9	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	TB5	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TB7	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+		-	-	-	-	+	-	-
Sol d'olivier	OA1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	OA4	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	OA5	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	OB1	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	OB2	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+
	OB3	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

A l'aide des résultats du **(tableau 16),** on constate que les souches TA1, TA4, TB5, OA4, OA5, OB1,OB3 possèdent une B-g*al*actosidase, toutes les souches possèdent TDA, IND, INO négatives, aux contraire pour CIT et VP positives, 2 souches (OB2 , TA4) possèdent le H_2S et RHA positive respectivement et les restes sont négatives .Sur l'ensemble des souches, 2 souches sont URE et SAC positives.

Une réaction négative est obtenue avec le teste IND pour les souches **(Figure 32),** Ces résultats sont confirmés par ***Al*ves *et al* (2006); Nkang *et al* (2009**) pour quelque bactérie phytopathogène, *Pseudomonas et Erwinia* .

Les souches TA9 et TB7 supposée *Pseudomonas* était ONPG (-). Ce résultat est vérifié par ceux notés par (D**avis et *al* 2011)** qui ont confirmé ce caractère.

III.2. Résultats de g*al*erie API 20NE



Figure 33: Galerie API 20NE, appliqué sur déférentes souches.

Une g*al*erie biochimique d'identification (API 20NE, bio Mérieux) a été ré*al*isée selon le mode opératoire décrit dans le prospectus. Les g*al*eries ont étés incubés à 37°C pendant 24h, les résultats obtenues sont les suivants :

***Tableau 17**: Les résultats des souches par Galerie API 20NE*

Souches		NO_3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Sol de tomate	TA6	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	TA7	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	TA8	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TB1	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
	TB6	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	OA2	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
	OB4	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-
	TA10	ND																			
	TA11																				

ND : Non déterminer

D'après les résultats du **(Tableau 17),** on constate que les tests enzymatiques PNPG et ESC ont été positive par contre les tests ADH et URE sont négative pour toutes les souches. Les tests NAG, M*AL* et PAC sont négatives, seul la souche TA6 est réagie positivement à ces tests.

On a observé que la souche TA6 dégrade la plupart des sucres, par contre la souche TB6 dégrade un seul sucre. **(Figure 33)**

Les deux souches TA10 et TA11 ne sont pas déterminé par la G*al*erie API.

III.3. Résultats de g*al*erie API STaph



Figure 34: Galerie API STaph, appliqué sur différentes souches

Une g*al*erie biochimique d'identification (API STaph, bio Mérieux) a été ré*al*isée selon le mode opératoire décrit dans le prospectus. Les g*al*eries ont étés incubés à 37°C pendant 24h, les résultats obtenues sont les suivants :

Tableau 18: Les résultats des souches par G*al*erie API STaph

Souches		0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Sol de tomate	TA2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
	TA3	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
	TA5	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	TB2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
	TB3	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
	TB4	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
	OA3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	OB5	ND																			
	OB6																				

ND : Non déterminer

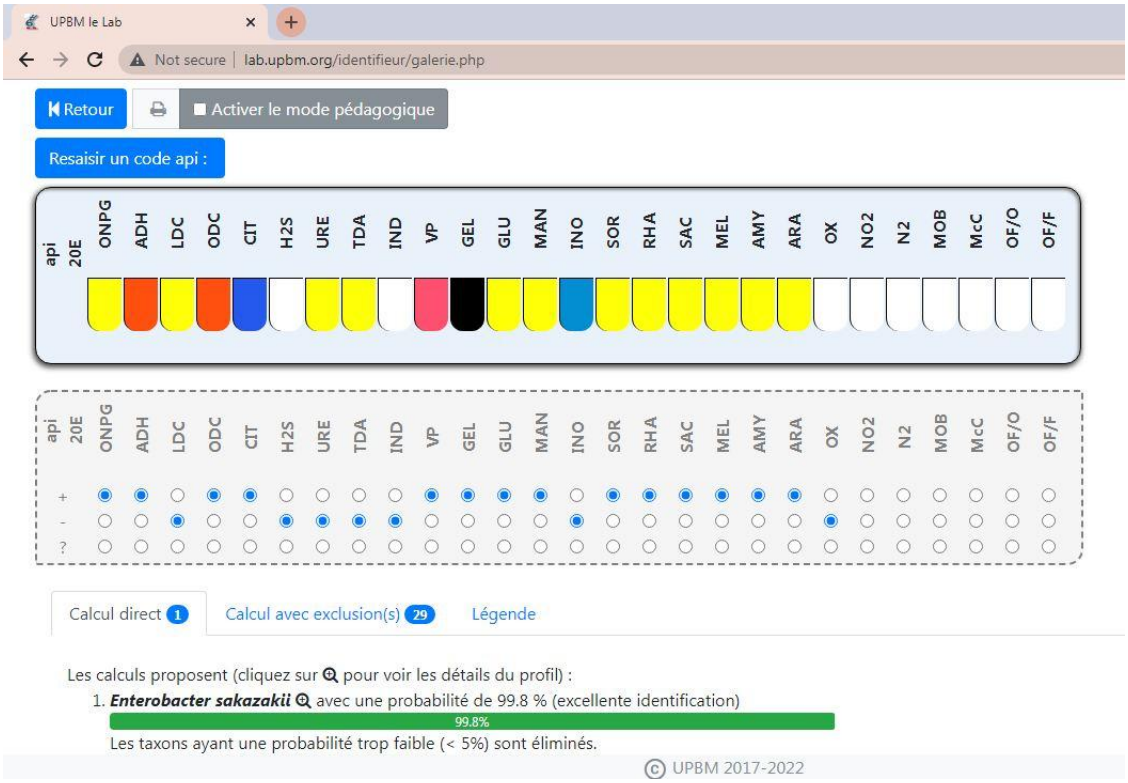
D'après les résultats du **(tableau 18)**, on constate que toutes les souches possèdent GLU, URE, MNE, TRE, MAN, NIT et VP positive sauf la souche OA3.

On a observé que aucune souche dégrade XLT au contraire pour NIT et VP.

III.4. Identification des souches :

La lecture des résultats de l'inoculation des g*al*eries API est procédée en se référant aux tableaux de lecture de ces g*al*eries. **(Annexes 6,7,8)**

Les résultats obtenus suite à l'introduction des résultats des tests biochimiques des g*al*eries API 20E, API 20NE, API STaph dans la grille du **programme**



d'identification online (UPBM le lab) sont présentés dans le tableau suivant :

Figure 35: Capture d'écran de l'affichage du programme d'identification bactérienne Online –UPBM

L'an*al*yse des critères biochimiques des 29 souches bactériennes nous a permet de révéler différents genres bactériens. Les résultats sont résumés dans le **(Tableau 19).** La tentative d'identifier les 29 souches bactériennes isolées a été ré*al*isée selon les clefs d'identification décrite par (**MARCH*ALL* et BOURDON,1982).**

18 souches bactériennes isolées à partir du sol de tomate appartiennent à 3 genres bactériens différents dont : *Pseudomonas*, *Serratia* et *Bacillus*.

Parmi les 4 souches bactériennes isolées à partir du sol de la tomate, on a pu identifier une souche, celle-ci appartienne au genre *Staphylococcus* qui est : aéro-anaérobie facultative, cat*al*ase positive, oxydase négative, immobile, métabolisant les sucres par voie oxydative et fermentative.

Tableau 19: Identification par G*al*erie API

Souches	**Nom**	**% d'identification**	**Mention**
TA1, OA4	*Aeromonas hydrophila gr.2*	99.1 %, 92 %	Excellente
TA6, TA7	*A.hydrophila cavia*	100 %	Excellente
TA2	*S. Capra*	98.8 %	Excellente
TA3, OB4	*Bacillus Spp*	90 %	Excellente
TA4	*Enterobacter Sokazaki*	99.8 %	Excellente
TA5, TB4	*S. Xylosus*	100 %	Excellente
TA8	*Vibrio Vulnificus*	98.4 %	Excellente
TA9	*P. aerugenosa*	99.4 %	Excellente
TA10, OB5	*Actinomycète*	50 %	Par purification
TB1, TB7	*P. luteola*	99.5 %, 94.6 %	Excellente
TB2, TB3	*S. aurieus*	86.3 %	Excellente
TB5	*Photobacterium damsela*	74.9 %	Très bonne
TB6	*Chrysebacterium indolegenes*	99 %	Excellente
OA1	*P.heryzihabitans*	89.6 %	Excellente
OA2	*Sphingomonas*	96 %	Excellente
OA3	*Micrococccus*	70.9 %	Très bonne
OA5, OB1	*Burkholderia cepacia*	100 %	Excellente

OB2	*Bacillus coagulant*	98 %	Excellente
OB3	*Serratia rubidaea*	100 %	Excellente
TA11, OB6	*Rhizobium*	50 %	Par purification

➢ Discussion génér*al*e :

L'identification des isolats par g*al*erie API 20E a permis d'obtenir les bactéries suivantes : *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas horyzihabitans, Serratia e et Bacillus sp*. La plupart de ces souches ont été déjà identifiées par (**Lebonguy 2019) ; (Benchouk et Chibani 2017) ; (Lebonguy et *al* 2017)** dans les sols pollues par les hydrocarbures. La présence de ces espèces dans les le souligne milieux pollues est due à leur capacité à tolérer et utiliser les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie comme le souligne (**Liang et *al* 2014).**

Pseudomonas :

Les résultats des souches **TA9, OA1, TB1, TB7** sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, génér*al*ement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à Métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. ces résultats sont conformes avec **(P*al*leroni, 2008)** et **(Avril et *al*., 1992)**.

Ainsi, **Lister et *al* (2009)** ont rapporté que ces bactéries ont des exigences nutritives peu importantes et sont capables de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, *al*iments) et particulièrement en milieu humide.

Selon **Avril et *al* (1992)** les *P. aerugénosa* réduisant les nitrates en nitrites, elles possèdent deux pigments caractéristiques : la *Pyoverdine* et la *Pyocyanine* et aussi sont caractérisées par leur résistance aux antiseptiques et aux antibiotiques.

La souche **OA2**, est une bactérie se présentant sous la forme de bacilles à Gram négatif d'une large distribution dans l'environnement notamment dans l'eau et le sol, elle est non fermentaire et pourvue d'un seul flagelle polaire lui permettant une faible mobilité, confirmé par **(Makanéra A et *al*., 2017)** et**(Lugito NPH et *al*., 2016) .**

Makanéra A et *al* (2017) ont montrés que s*phingomonas* habituellement pathogènes considérées comme des germes de l'environnement comme, *Sphingomonas*

Souvent considérée par le passé comme une bactérie de moindre importance médic*al*e, *Sphingomonas paucimobilis* devient de plus en plus fréquemment isolée des infections communautaires et hospit*al*ières **(Lugito NPH et *al*., 2016) , (Makanéra A et *al*., 2017) .**

Entérobactèrs :

La souche **TA4** est une bactérie Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif de forme bacille, immobiles ou mobiles par ciliature péritriche, les principaux caractères biochimiques : Lactose (-), ONPG (+), H2S (-) protéolyse intense et rapide (c'est la seule Entérobactérie hydrolysant facilement la gélatine en 24 heures), lipase (+), DNase (+). Ces résultats ceux de ressemblent à ceux de **Avril et *al* (2000) et Pilet et *al* (1987)**

On les trouve dans les eaux, sur le sol, sur la peau et les muqueuses. **Cartier et *al* (1996)** dit que 130 espèces dont les plus fréquemment rencontrés en bactériologie clinique sont : *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter sp, Proteus sp, Serratia sp, Providencia sp.*

Les espèces de ce genre présentent les mêmes caractères biochimiques généraux des *entérobactéries*, elles fermentent le glucose avec production d'acide et de gaz, elles sont rouge méthyle négatives, oxydase négatives, cat*al*ase positives et Voges-Proskauer positives **(Grimont et Grimont, 2002 ; Lehner, 2011).**

Jean et *al* (2002) ont montré que les *Serratia* sont des bactéries ubiquitaires qui se trouvent dans le sol, l'eau, et le tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont parmi les *Entérobactéries* les plus résistantes aux agents physiques et chimiques.

La souche **OB3** *Serratia* est confirmé par **(Jean et *al*., 2002)** et **(Pilet et *al*., 1987)**

Staphylococcus :

Les souches **TB2, TB3** sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, cat*al*ase-positive et oxydase négative, la production d'une coagulase . ces résultats concordent avec ceux de (**El Kouir .,2003).**

Bergdoll (1979) a montré que les *staphylocoques* ont ég*al*ement été isoles de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospit*al*ier et des ateliers de préparation *al*imentaires et à partir de denrées *al*imentaires.

Les souches **TA5, TB4** sont des bactéries à Gram positif, en forme de coque, non mobiles, sont à cat*al*ase positive et aéro-anaérobies facultatives, ces résultats ont montrés par (**Emilie .,2007)**, *Staphylococcus* existe dans le sol et peuvent forme un biofilm **(Nail *et al.*, 2007)**

Les Bacillus :

Les souches **TA3, OB2, OB4** sont des bacilles rectilignes de taille variable. Elles sont Gram variable, capsules, aérobies, sporules et mobile**.** ces résultats concordent avec ceux de **Claus et Berkeley** (**1986)**

Euzeby (2007) dit que les espèces du genre *Bacillus* ont été regroupées en 3 groupes selon la morphologie de la spore et du sporange. Les espèces Gram-positifs avec une spore centr*al*e non-déformante constituent le groupe 1. Les espèces des groupes 2 et 3 sont Gram variables avec une spore déformante, la spore est centr*al*e pour les espèces du groupe 2 et termin*al*e ou sub-termin*al*e pour les espèces du groupe 3, les bactéries du genre *Bacillus* sont très ubiquistes, on peut les isoler du sol, de l'eau (de mer ou douce) ou des *al*iments. En raison de la résistance de leurs spores, les *Bacillus* constituent un problème important en médecine et dans le domaine industriel.

Aeromonas :

Les souches **TA1, TA6, TA7** et **OA4** forme de bacilles, extrémités arrondies, Gram négatif ce sont des aéro-anaérobies facultatifs, positifs au test à l'oxydase et mobiles. Ces résultats se ressemblent à ceux trouvés par **Hochedez et *al. (*2009) ; Abbot et *al.* (2003)** et **Laganowska et Kaznowski (2004).**

Le genre d'*Aeromonas* comprend 17 espèces réparties en 20 groupes d'hybridations **(Casco'n et *al.* 2000 ; Harf-Monteil et Monteil, 2007 ; Harf-Monteil et *al.* 2004 ; Minana-G*al*bis et *al.* 2007)**.**Wu et *al* (2007)** a montré que les *Aeromonas* prolifèrent dans les sols.

Vibrio :

Les souches **TA8, TB5** sont des bactéries Gram négatives, mobiles, fermentant les glucides, forme de bâtonnets, présentant un diamètre de 0,5 à 1 µm et d'une longueur de 1,2 à 3,5 µm, non sporulés, aéro-anaérobies. Ils sont positifs pour la réaction à l'oxydase, pour le test ornithine décarboxylase et pour la réduction des nitrates. Ces résultats ceux de ressemblent à ceux de **(DePaola *et al.*, 2003).**

Bergey *et al* (1984) ont rapportés que le genre "*Vibrio*" fait partie de la famille des *Vibrionaceae*.

Gulig *et al* (2005) dit que *V.vulnificus*, pathogène opportuniste, est le *Vibrio* le plus dangereux. Il est la cause princip*al*e de décès suite à la consommation de fruits de mer aux Etats-Unis.

Chryseobacterium spp :

La souche **TB6** est un bacille Gram négatif aérobie, Oxydase positive. Ces résultats sont conformes avec (**Lin JT et *al*.,2003)**

Cette bactérie croit sur milieux usuels en 24 heures et sa présence est le plus souvent suspectée devant l'apparition de colonies jaunes, oxydase positive **(Christakis GB et *al*., 2005, Hsueh PR et *al*., 1997**) .

Micrococcus Luteus

La souche **OA3** est une bactérie Gram-positive, sphérique, Aérobie obligatoire.Ces résultats ceux de ressemblent à ceux de (**Greenblat, Baum et *al* .,2004)**

M. Luteus est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. La bactérie peut aussi coloniser la bouche et des voies respiratoires supérieures humaine,*M. Luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergeant engendrant des m*al*adies nosocomi*al*es chez des patients immunodéprimés (**Greenblat, Baum et *al* .,2004)** .

Burkhalderia :

Les souches **OB1, OA5** sont des bacille Gram négatif, mobile, cat*al*ase et oxydase positives, aero-anaerobie facultatif. Ils sont ceux de ressemblent à ceux de (**Speert David, P. *Paediatr. Respiratory Rev.*, 2002)**

Fauri et *al* (2007) ont rapportés que l'un des problèmes majeurs associé à B. *cepacia* et la princip*al*e cause de mort*al*ité est sa multi résistance aux traitements antibiotiques ainsi que son haut niveau de transmissibilité. Au regard de la virulence de *B. cepacia*, une étude approfondie a été ré*al*isée.

Actinomycète :

Keizer *et al* (2000) ont rapportés que les *actinomycètes* sont des bactéries filamenteuses à Gram positif qui forment des filaments ramifiés avec des hyphes et des spores asexuées.

Kitouni (2007) a montré que la morphologie des *actinomycètes* est très variable, de forme simple bacilles à des formes mycéliennes complexes, le développement des *Actinomycètes* comprend des cellules filamenteuses appelées : Les hyphes, ainsi ils se caractérisent par formation des spores.

Barakate *et al* (2000) dit que les *actinomycètes* sont parmi les microorganismes largement distribués dans la nature et constituent une composante des populations microbiennes dans la plupart des sols. Les *actinomycètes* se trouvent dans les sols cultivés et non cultivés (**Goodfellow et Simpson, 1987**).

Les résultats des souches **OB5, TA10 .** ces résultats concordent avec ceux de (**Keizer *et al.*, 2000**), (**Kitouni, 2007)** et (**Barakate *et al.*, 2000**).

Rhizobium :

Les souches **OB6, TA11** le milieu YEM est utilisé pour cultiver les bactéries du genre Rhizobium à 28°C.ces résultats sont conformes avec **(Vincent., 1977)**.

Riedacker (1993) a rapporté que les *rhizobiums* sont des bactéries du sol, aérobies strictes, capables de fixer l'azote atmosphérique. Elles font partie des protéo-

bactéries aérobies, des gram-négatives non sporulantes, appartenant à la famille des *Rhizobiaceae.*

IV. Antagonisme :

IV.1. Bactérie / Bactérie

Le tableau 20 représente les résultats des interactions sur milieu TSA **(Fleming et *al*, 1975)**

Tableau 20: Résultat d'inhibition de *ps.aerogenosa* sur quelque souche bactérienne

Souches	**Diamètre de la Zone d'inhibition en mm**						
Indicatrice / **Inhibitrice**	***A .hydrophila***	***S. Capra***	***Enterobacter Sakazaki***	***S. Xylosus***	***Photobacterium***	***Burkholderia cepacia***	***Bacillus coagulant***
P. aerugenosa	3.3	-	19.3	16	-	13	-

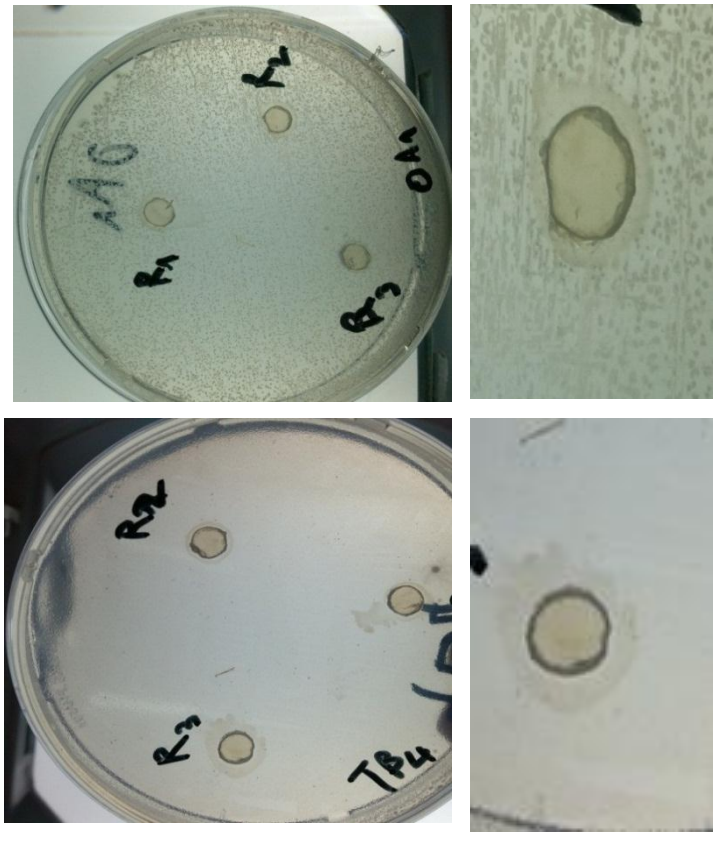


Figure 36: Photos des résultats d'antagonisme *in vitro*

ce tableau montre clairement que la souche *P. aerugenosa* utilisé avait d'activité inhibitrice contre les bactéries pathogène (*A .hydrophila, Enterobacter Sakazaki, S. Xylosus, Burkholderia cepacia).*

L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieur à 1mm **(schillinger et lucke,1989),** les résultats de l'interaction reveulent la présence des zones claires auteurs de la souche inhibitrice. les longueurs des zones d'inhibition varient de 3 à 19 mm, *Ps. aeruginosa* provoque une zone d'inhibition très important vis-à-vis *Enterobacter Sakazaki* de diamètre 19.3 mm.

IV.2. Confrontation Bactéries- Champignon :

les Résultats de la confrontation directe (Taux d'inhibition) Bactéries-Champignon sont présentés dans le tableau 21

Tableau 21:Résultats de la confrontation directe (Taux d'inhibition)

Champignon / Souches bactériennes	Taux d'inhibition%
	Fusarium oxysporium
P. aerugenosa	32.72%
Burkholderia cepacia	18.18%
Bacillus coagulant	41.81%
Serratia rubidaea	45.45%

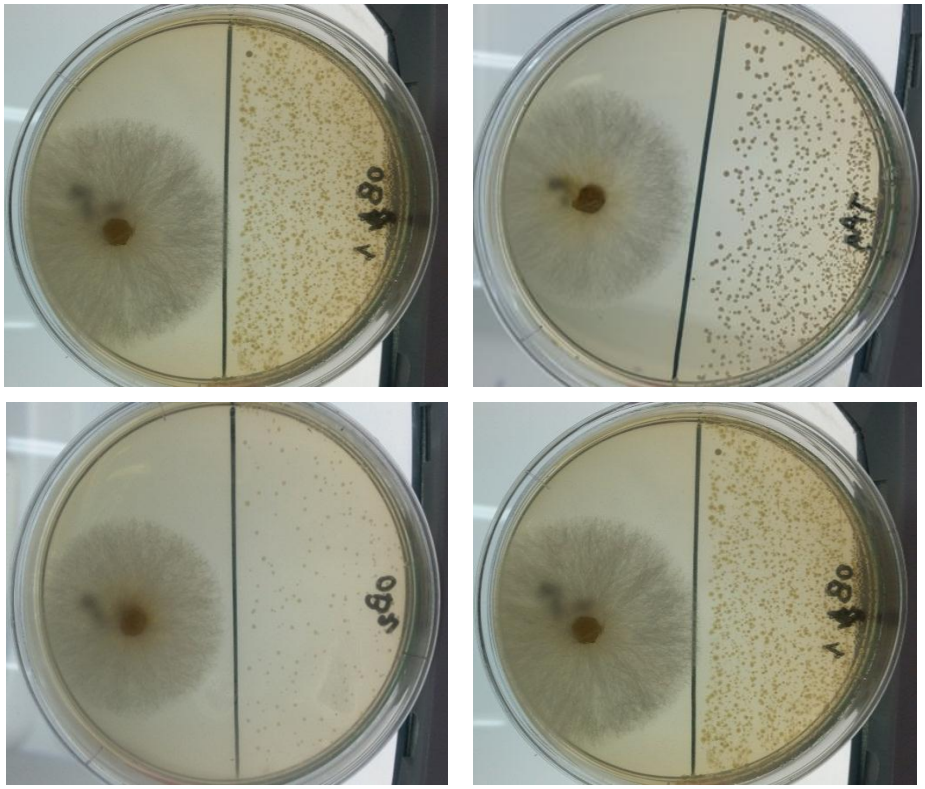


Figure 37 : Photos des résultats d'antagonisme fongique in vitro

La confrontation directe de 04 souches bactériennes avec le *F. oxysporum* sur le milieu de culture (Saboroud), nous a permis de mettre en évidence l'aptitude de ces isolats à inhiber la croissance mycélienne du pathogène (Figures37). L'action antagoniste se traduit par une faible croissance mycélienne de l'agent pathogène durant les 03 premiers jours d'incubation, Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de le *F. oxysporum* varie d'une souche bactérienne à une autre, Les souches (**OB3, OB2, TA9, OB1**) ont révélées respectivement les pourcentages suivants (45.45%, 41.81% et 32.72% et18.18 %. les taux d'inhibions de la croissance fongique les plus élevés ont été marqué par la bactérie *Serratia rubidaea* **OB3.**

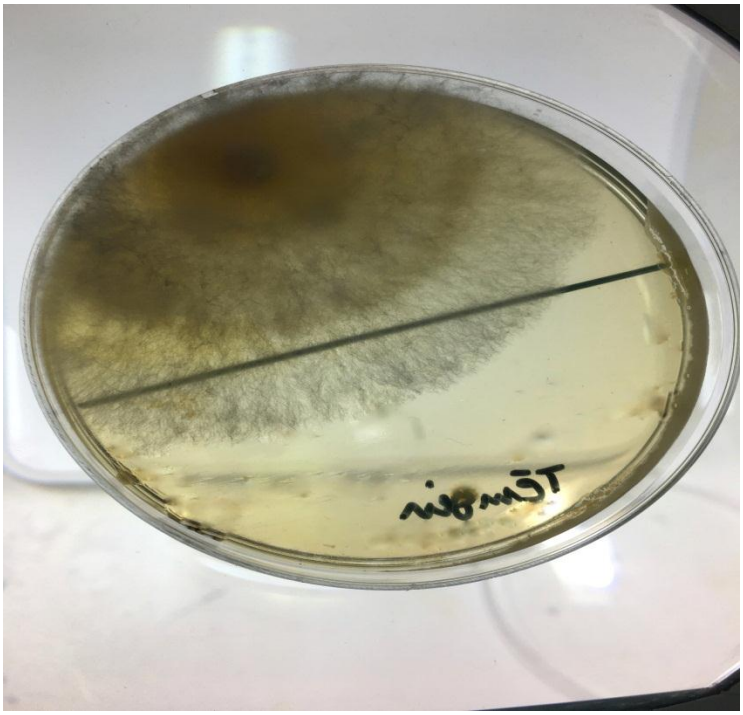


Figure 38*:* Témoin

Avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide de produits biologiques, il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène **(larkin et Fravel, 1999)**, c'est pourquoi des tests d'activité antagoniste, qui ont pour but de sélectionner le ou les isolats performants, ont été ré*al*isé. Ces tests représentent un des critères de sélection, il a été effectué in vitro, par confrontation directe entre les deux protagonistes.

Conclusion et perspectives

Au niveau environnement*al*, Le sol sont devenues dernièrement un sujet intéressant qui a pour objectif princip*al* d'étudier les microorganismes tel que les bactéries.

L'isolement et l'identification des bactéries pathogène du sol constituent l'objectif de cette étude. Pour cela, nous avons choisi deux types de sol (Arboriculture dans la région de Médéa et sol Maraîchère dans la région d'*Al*ger).

L'ensemencement des échantillons de sol (**TA, TB et OA ,OB**) sur 10 milieux gélosés spécifiques, nous a permis d'isolés et identifiés 29 souches , 18 souches à partir du sol de la tomate et 11 souches du sol d'olivier, Ces souches ont fait l'objet d'une év*al*uation des enzymes respiratoires, la majorité des souches étaient des bacilles à Gram négative, oxydase, cat*al*ase et nitrate réductase positive, coagulas négative et la plupart des souches sont mobiles et aéro-anaérobie facultatif.

Les 25 souches identifiées par les g*al*eries API 20 E, API 20 NE, API Staph qui correspondent aux genres (*Pseudomonas, Bacillus, Entérobactéries, Staphylococcus, Micrococcus, Burkhaldrie cepacia, vibrio vilinificus*) et 4 souches non identifier par les g*al*eries API (Rhizobium, Actinomycète). Mais, elles sont identifiés par des milieux sélectifs (YEM, Binette).

Afin d'identifier minissusement Les 29 souches, nous avons testé les inhibution inter bactérienne causé par l'agent inhibiteur de *Ps. aerogunosa* sur les six souches (*Bacillus, Staphylococcus capra, Enterobacter sakazakii, photobacterium damsella, Staphylococcus xylosus et Burkholdria cepacia).*

Les deux souches *Photobacterium damsella* et *Staphulococcus capra* ne présentent aucune action inhibitrice vis-à-vis la souche de *Ps. aeruginosa* et les autres souches présentent une action inhibitrice, l'action la plus élevé est sur *Staphylococcus xylosus* et aussi mis en évidence l'étude de l'inhibition de l'agent phytopathogènes *f .oxporium* par les souches (*Ps.aerugenosa, Burkholdria cepacia, serratia rubidaea, Bacillus coagulant),* l'action d'inhibition la plus élevé est de *Ps.aerugenosa.*

Au terme de ce travail, plusieurs perspectives semblent nécessaires à ré*al*iser :

- Contenue l'identification de ces souches jusqu'au niveau de l'espèce par les caractéristique moléculaire plus approfondies.
- Elargie le spectre d'étude, on étudiant l'effet d antagoniste sur d'autre champignon phytopathogènes.

- Ev*al*uer l'efficacité de ces agents de lutte biologique potentielle sur une grande échelle.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture.

❖ **Milieu King A (King et *al*., 1954)**

- Peptone dite "A" …….20,0g
- Glycérol ……..10,0ml
- Sulfate de potassium…….……..10,0g
- Chlorure de magnésium…….. 1,4g
- L'eau distillé …….....1000ml
- Agar ….....**.....**12, 0g
- Ajusté PH à 7,2

❖ **Milieu King B (King et *al*., 1954)**

- Peptone dite "B"……. 20,0g
- Glycérol……. ….10,0ml
- Hydrogénophosphate de potassium….**.....**1,5g
- Sulfate de magnésium heptahydraté ……...1,5g
- Agar ……12,0g
- Eau distil…….1000ml
- pH 7,2

❖ **Milieu Cétrimide (Azad et Cooksey, 1995)**

- Peptone de gélatine …….16g
- Peptone de caséine ……..2,0g
- Bromure de tétradonium……..0,2g
- Acide n*al*idixique ……...15 mg
- Sulfate de potassium……...10g
- Chlorure de magnésium……..1,4g
- Agar…….…10g
- Eau distillée ……...1000ml
- pH 7,1

❖ **Milieu de la gélose nutritive (GN) (Lapage et Mitchell, 1970)**

- Extrait de viande……..1,0g
- Extrait de levure……. ……....3,0g
- Peptone…….....5,0g
- Chlorure de sodium…….……....5,0g

- Agar…….……15,0g
- Eau distillée…….1000ml
- PH 7,4

❖ **Milieu BCP (Pourpre de Bromocrésol) (Nickerson, 1953)**

- Peptone……...5,0g
- Extrait de viande de bœuf……..3,0g
- Lactose ……..10,0g
- Pourpre de bromocrésol……..25 mg
- Agar…….15g
- Eau distillée ……...1000ml
- PH 6, 8

❖ **Milieu de la gélose Héktoéne (King et *al*., 1954)**

- Protéase peptone ……...12g
- Extrait de levure…….3,0g
- Chlorure de sodium……5,0g
- Thiosulfate de sodium ……...5,0g
- Sels biliaires ……...9,0g
- Citrate de fer III et d'ammonium……1,5g
- S*al*icine…….2,0g
- Lactose…….12g
- Saccharose……...12g
- Fuschine acide……..0,1g
- Bleu de bromothymol …..……...0,065g
- Agar…..……14g
- Eau distillée…… ……1000ml
- PH 6,8

❖ **Milieu YEM (Yeast Extract Mannitol) (Vincent, 1977)**

- Extrait de levure……..……...1g
- Solution minér*al*e de Bergense……...100ml
- Mannitol……..10g
- Eau distillée ……1000ml
- Agar ……15g
- Ph 7 ,0

- **Solution minéral**e de Bergensen (Bergensen, 1961)

Elle se compose de :

KCl : 1g , Fe Cl 3 : 0,02g , CaCl 2, 2H 2O: 0,53g , Na2 HPO4, 12H 2O : 4,5 g ; MgSO4, 7 H2O: 1g et l'eau distillée: 1000ml

❖ **Milieu de la gélose Sabouraud (Sabouraud, 1910)**

- Peptone pepsique de viande……10g.
- Glucose…….35g
- Agar ……..……..15g
- Eau distillée…….1000ml
- PH 5, 7

❖ **SS agar**

- Agar …….15g.
- Sodium citrate…….10g.
- Lactose…….10g.
- Bile S*al*t……..8 ,5g.
- Sodium thiosulfate……..8,5g.
- Bief extrait……...5 ,0g.
- Peptique digest anim*al* tissue…….5 ,0g.
- Ferri citrate……..1,0g .
- Neur*al*e rade……....0,025g.
- Brillant green…….…….0,0003.*g*.

❖ **Milieu Chapman**

- Peptone…….10 g.
- Extrait de bœuf.……1 g.
- Chlorure de sodium…… ……75 g.
- D-mannitol ……...10g.
- Rouge de phénol……25 mg.
- Agar……...15 g.

❖ **Viande foie (VF)**

- Base viande foie……30g.
- Glucose……..2g.
- Amidon……..**.....**2g.
- Agar……...1g.

- Eau distillée…….1000 ml.

❖ **Milieu manitol – mobilité :**

- Peptone pancréactique de vainde……20 g/ l.
- Mannitol……...2 g/ l.
- Nitrate de potassium……1 g/ l.
- Rouge de phénol en solution à1%.....4ml.
- Eau distillée stérile……...1L.

Annexe 02 : Apparillages

•



Vortex



Micropipette



Agitateur



Balance



Bec bunsen



Microscope Optique



PH mètre



Distillateur



Autoclave (stérilisateur)



Incubateur



Etuve



Bain mari



Réfrigérateur



Congélateur

Annexe 3 : coloration de Gram

❖ **Réactifs**

➢ **Violet de gentiane**

- Violet de gentiane……1g.
- *Al*cool éthylique à 95% ……. .10ml.
- Phénol…….. .2g.
- Eau distillée……...100ml.

➢ **Lugol de Gram**

- Iodure de potassium……1g.
- Iode …… .1g.
- Eau distillée ……..……300ml.

❖ **Préparation du Frottis**

- Sur une lame de microscope, déposer une goutte d'H_2O.
- A l'aide d'une anse stérilisé (passant sous le bec benzène), toucher une colonie pour prélever des bactéries.
- Déposer ce prélèvement au milieu de lame, puis passer la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer à la ch*al*eur.
- Déposer quelques gouttes de solution de violer de gentiane (crist*al* violer) sur le frottis fixé.

- Laisser agir 1 min, puis rincer à l'eau.

- Déposer quelques gouttes de lugol (un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries) sur le frottis, Laisser agir 1 min et rincer brièvement à l'H_2O.
- Verser goutte à goutte l'*al*cool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 s). Rincer avec l'eau. L'*al*cool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparait. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'*al*cool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.
- Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant 1 min.
- Ce colorant permet de visu*al*iser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.
- Laisser sécher à l'air.
- Observer au microscope (grossissement 40x puis grossissement 100x avec une goutte d'huile à immersion).

Annexe 4 : Test de Cat*al*ase

❖ **Technique**

- Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse.
- Dissocier la colonie dans la goutte.
- Observer immédiatement.

❖ **Lecture**

- Cat*al*ase positive : dégagement immédiat de bulles de gaz.
- Cat*al*ase négative : absence de dégagement de bulles de gaz.

Annexe 5 : Test d'oxydase

❖ **Technique**

- Placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée.
- Déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné.
- Avec une pipette Pasteur prélever une colonie et la déposer doucement sur le disque.

❖ **Lecture**

- Oxydase positive : virage de couleur rose-rouge.
- Oxydase négative : absence de couleur.

Annexe 6 : Tableau de Lecture de l'API 20 E

Tests	**Composants**	**QTE (mg/cup.)**	**Réactifs / Enzymes**	**Résultats**	
				Négatif	**Positif**
ONPG	2-nitrophényl-ßDg*al*actopyranoside	0,223	ß-g*al*actosidase (Ortho NitroPhényl-ßDG*al*actopyranosidase)	Incolore	**Jaune**
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune	**Rouge/orangé**
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	Jaune	**rouge / orangé**
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	**rouge / orangé**
CIT	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	**bleu-vert / bleu**
H_2S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H_2S	incolore / grisâtre	**dépot noir / fin liseré**
URE	urée	0,76	UREase	Jaune	**rouge / orangé**
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	**TDA / immédiat**	
				Jaune	**marron-rougeâtre**
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	**JAMES / immédiat**	
				incolore Vert pâle / jaune	**Rose**
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne(Voges Proskauer)	**VP 1 + VP 2 / 10 min**	
				incolore / rose pâle	**rose / rouge**

GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine	non diffusion	**diffusion du pigment noir**
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxidation (GLUcoe)	Bleu / Bleu-vert	**Jaune/jaune gris**
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	Bleu / bleu-Vert	**Jaune**
INO	inositol	1,9	Fermentation/ oxydation (INOsitol)	Bleu/ Bleu-vert	**Jaune**
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	Bleu/ bleu-vert	**Jaune**
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose)	Bleu / bleu-vert	**Jaune**
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	Bleu / Bleu-vert	**Jaune**
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	Bleu/ Bleu-vert	**Jaune**
AMY	amygd*al*ine	0,57	fermentation / oxydation (AMYgd*al*ine)	Bleu/ Bleu-vert	**Jaune**
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose)	Bleu/ Bleu-vert	**Jaune**
OX	(Voir notice du test oxydase)		cytochrome-Oxydase	(Voir notice du test oxydase)	



Annexe 7 : Tableau de Lecture de l'API 20 NE

	Substrat	**Enzymes/Réactions**	**Résultats**	
			Négatif	**Positif**
NO_3	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	**NIT 1 + NIT 2 / 5 mn**	
			Incolore	**Rose-rouge**
		Réduction des nitrates en azote	**ZN / 5 mn**	
			Rose	**Incolore**
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	**TRP / 3-5 mn**	
			Incolore	**Goutte rouge**
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	**Jaune**
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	**Orange/rose/ Rouge**
URE	Urée	Uréase	Jaune	**Orange/rose/ Rouge**
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	**Gris/marron/ Noir**

GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	**Diffusion du pigment noir**
PNPG	p-nitro-phényl-βD*gal*actopyranoside	β-g*al*actosidase	Incolore	**Jaune**
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	**Trouble**
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
M*AL*	M*al*tose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			
MLT	M*al*ate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	**Tetraméthyl-pphenylène diamine**	**Cytochrome oxydase**	**Incolore**	**Violet**



Annexe 8 : Tableau de Lecture de l'API Staph

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				Négatif	**Positif**
0	Aucun		Témoin negative	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)		
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
M*AL*	D-m*al*tose	1,4	acidification (M*AL*tose)		
LAC	D-lactose	1,4	acidification (LACtose)	rouge	**jaune**
	(origine bovine)				
TRE	D-tréh*al*ose	1,32	acidification (D-TREh*al*ose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	**NIT 1 + NIT 2 / 10 min**	
				incolore -rose pâle	**rouge**
P*AL*	ß-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase *AL*c*al*ine	**ZYM A + ZYM B / 10 min**	
				Jaune	**violet**
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl- carbinol	**VP 1 + VP 2 / 10 min**	

			(Voges Proskauer)	incolore -rose pâle	**violet-rose**
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)		
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-α	1,28	acidification (Méthyl- α	Rouge	**jaune**
	Dglucopyranosi		DGlucopyranoside		
NAG	De N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	Jaune	**Orange-Rouge**
URE	**urée**	**0,76**	**UREase**	**Jaune**	**Rouge-violet**



Références bibliographiques

A

- **ABBEY S.D ET ETANG B.B., (1988).** Incidence and biotyping of Aeromonas species from the environment. Microbios ; 56 :149-155.
- **ABBEY S.D ET ETANG B.B., (1991).** Virulence factors from Aeromonas species. Microbios; 56:71-77.
- **ABBOTT S.L, CHEUNG W.K.W ET JANDA J.M., (2003).** The genus Aeromonas:
- **ABESSA R., TABET S., (2014).** Étude microbiologique et génotoxique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 101p.
- **ABHILASH P. C. ET SINGH N., (2009)**. Season*al* variation of HCH isomers in open soil and plant-rhizospheric soil system of a contaminated environment. Environnement*al* Science and Pollution Research, 16 :727-740.
- **AFSSAPS**. Agence française de sécurité et produit de santé, 2008, Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adult .
- **AISSA B.F., (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'*Al*gérie et du Maghreb. (ed). Librairie moderne. Rouïba. 278-279.
- ***AL*EXANDER M., (1961).** Introduction to soilmicrobiology. John Wiley and Sons. Inc. New York, 472.
- ***AL*LIOUI N., (1997).** Etude de quelques *al*térations physiologiques et biochimiques causées par la rouille brune du blé (Puccinia recondita.F.sp. Tritici) chez le blé dur (Triticum durum. Desf). Thèse de Magistère en Biologie Végét*al*e. Université d'Annaba. 110 p.
- ***AL*VES M.S., RUBENS C.S.D., DE CASTRO A.C.D., RILEY L.W., MOREIRA B.M., (2006).** Identification of clinic*al* isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp.Journ*al* of clinic*al* microbiology. 44 (10) : 3640-3646.
- **AOUISSI A., (2010).** Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'*Al*gérie). Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université. 8 Mai de Guelma.164p.

- **ASCHE, V., et HAASE, A., (2002).** Burkholderia m*al*lei and Burkholderia pseudom*al*lei. Molecular Medic*al* Microbiology, 961–972. doi:10.1016/b978-012677530-3/50263-4.
- **ASSAWAH M. W., AYAT M., (1985)**. On certains diseases of olive trees at Oran area. Premières Journées Scientifiques de la sociètés *Al*gérienne de Microbiologie. Avril, Institu Pasteur, *Al*ger, *Al*gerie, 1-9.
- **AVRIL J. L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H., (1992).** Bactériologie clinique. 2ème édition, Ellipses, Paris, 511p.
- **AVRIL JL, DABERNAT H, DENI F ET MONTEI H., (1992).** Bactériologie clinique. 2ème Ed. Ellipses, Paris. P602.
- **AVRIL J.L., DENIS F., DABERNAT H., MONTEIL H., (2000).** Bactériologie clinique. 2éme édition Marketing, paris, pp. 148-280.
- **AZAD, H ET COOKSEY, D., (1995).** Un milieu semi sélective pour détecter les populations épiphytes et systémiques de *Pseudomonas* syringae de lauriers roses. Phytopathologie 85:740-745.

B

- **BARRAKATE M, OUHDOUCH Y, OUFDOU K, BEAULIEU C., (2002).** Characterisation of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobi*al* activities. World J. Microb Biot, 18:49-54.
- **BELABID D., (1993).** Etude de la rouille brune (*Puccinia recondita* Rob ex Desmf

  sp*tritici*) du blé tendre (*Triticum eastivum* L) dans l'Ouest *Al*gérien. *Thèse de magister* en phytopathologie. Université de Tizi-Ouzou. 105 p
- **BELLAHCENE M., (2004).** La verticilliose de l'olivier: étude épidémiologique et diversité génétique de *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose. Thèse de doctorat d'état es Science, Université d'Oran, *Al*gérie, 145 p.
- **BELLAHCENE M., ASSIGBETSE K., FORTAS Z., GEIGER J.P., NICOLE M., FERNANDEZ D., (2005)**. A Genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from olive trees in *Al*geria. Phytopathol. Mediterr., 44: 566-274.
- **BELLAHCENE M., FORTAS Z., GEIGER J.P., MAT*AL*LAH A., HENNI D., (2000).** *Verticillium* wilt in olive in *Al*geria : Geographiqu*al* distribution and

extent of the disease. Olivae, 82, pp. 41-43.

- **BELL-PERKINS L. J., LYNCH J.M., (2002).** Rhizosphere microbiology, p. 2713- 2728. *In* G. Bitton (ed.), Encyclopedia of environment*al* microbiology, A WileyInterscience Publication, Canada.
- **BENCHABANE M., (1990).** Observation des cas de verticilliose de l'olivier à Cap-Djinet et Sidi-Aïch. Rapport de mission. ITAF, *Al*gérie. 5 p.
- **BENCHOUK A AND CHIBANI A., (2017).** Petroleum-hydrocarbons biodegradation by *Pseudomonas* strains isolated from hydrocarboncontaminated soil. J. Fundam. Appl. Sci, 9(2), 713-726.
- **BENJAMA, A., (2003).** Méthode d"éval*u*ation rapide du degré d"attaque de l"olivier par la tuberculose causée par *Pseudomonas savastanoi*pv. *savastanoi*, en verger au Maroc. Fruits. **58 :** 213-219. DOI : 10.1051/fruits : 2003009.
- **BERGDOLL, M., (1979)**.staphyloccocc*al* intoxications. In H.Riemann.etF.L.Bryan (EDS) food-borne infection and intoxications.
- **BERGEY, D. H., N. R. KRIEG, ET *AL*., (1984).** Bergey's manu*al* of systematic bacteriology. B*al*timore, Williams et Wilkins.
- **BHUNIA AK., (2008).** Foodborne Microbi*al* Pathogens Mechanisms and Pathogenisis.
- **BIN KIMGOMBE C.I, HYUS G, HOW*AL*D D, LUTHI E, SWINGS J ET JEMMI T., (2004).** The usefulness of molecular techniques to assess the presence of aeromonas spp. harboring virulence markers in foods. Int J Food Microbiol; 94:113-121.
- **BOOS*AL*IS M., MANKAU R., (1965).** Parasitism and predation of soil microorganism. In F.Baker W.Synder (Eds), Ecology of soil-born plant pathogenes
  (pp. 374-391). Berkely University of C*al*ifornia Press.
- **BRADLEY J.C., G*AL*IL B., (1977).** The taxonomic arragement of the Phasmatodea with keys to the subfamilies ans tribes. *Proc. Entomol. Soc*. Washington èç. (2), 176-208 Springer, USA. P350.
- **BRUMARCH*AL* BOURDON J. L., RICHARD C., (1982).** Les milieux de cultures pour l'isolement etl'identificationbiochimiquedesbactéries.Editeurs, paris, p.482.xelles. Pp 506–517

- **BRUN-COTTON., (1980).** Density of standard seawater solution and atmospheric pressure. *Deep-Sea Research*. 27A: 1013-1023.
- **BUXTON P.A., (1960).** British Diptera associated with fungi. Flies of *al*l families reared from about 150 species of fungi. *Entomology. Mondial Magasin.*, 96, 61-94.

C

- **CAMPBELL R., GREAVES M. P., (1990)**. Anatomy and community structure of the rhizosphere *In*: The Rizosphere, Ed. Lynch J. M. Wiley J et Sons, Ltd, Essex. p.11-34.
- **CARTIER F., BEAUCAIRE G., PERRONE C., VILDE J. L., (1996).** APPIT (Association des professeurs de pathologie infectieux et tropic*al*e destinée au formateur de santé sur le théme nosocomi*al*e et leur prévention. NOSOCO-ROM-Base Multiméd DocPédagogique .
- **CASCO'N A, YUGUEROS J ET TEMPRANO A., (2000).** A major secreted elastase is essenti*al* for pathogenicity of Aeromonas hydrophila. Infect Immun; 68:3233- 3241.
- **CAVAGLIERI L., ORLANDO J., RODRIGUEZ M., (2005).** Biocontrol of*Bacillus subtilis* against *Fusarium verticulloids in* vitro and at the maize root level. *Research Microbiology*, 156(5-6):748-754.
- **CHIBANE A. (1999).** Tomate sous serre, Bulletin : transfert de technologie en agriculture, n° 57. Ed. P.N.T.T.A. Rabat, p 4. Espagne, pp. 111-144
- **CHRISTAKIS GB, PERLORENTZOU SP, CH*AL*KIOPOULOU I, ATHANASIOU A, LEGAKIS NJ., (2005)**. Chryseobacterium indologenes non-catheter-related bacteremia in a patient with a solid tumor. J clin microbiol 43(4):2021–3
- **CIVANTOS L., (1999).** Contrôle des parasites et des m*al*adies de l'olivier. COI (Ed.), Madrid.
- **CLARK H.C., (1969).** Pulse interv*al* as a critic*al* parameter in the courtship song of Drosophila melanogaster. *Animal Behaviour.* 17: 755--759.
- CLAUS, D., ET R. C. W. BERKELEY., (1986). **Genus*Bacillus* Cohn 1872, pi 105 - 1140.** *In* **P. H.A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.).**

Bergey's manuel of systematicbacteriology, **vol. 2. The Williams et Wilkins Co., B*al*timore.**

- **COLLINS RA., (1995)** A subunit interface mutant of yeast pyruvate kinase requires the *al*losteric activator fructose 1,6-bisphosphate for activity.*Biochem J* 310 (Pt 1):117-23
- **COOK R. J. ET BAKER K.F., (1983)**. - The nature and practice of biologic*al* control of plant pathogens. Am. Phytopathol. Soc., Saint-Paul MN, U.S.A., 539 p.
- **COOK, R., BRUCKART, W., COULSON, J., GOETTEL, M., LUMSDEN, R., MADDOX, J., MCMANUS, M., MOORE, L., MEYER, S., QUIMBY, P., STACK, J ET VAUGHN, J., (1996).** Sécurité des micro-organismes destinés à la lutte antiparasitaire et de lutte contre lesEpub 2011 Jan 18
- **CORNE P., (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation: étude

  génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de Doctorat. Université Montpellier, France.

D

- **DAMERV*AL* S. ET ROY, R.** XIe Colloque Annuel des Étudiants-chercheurs en Chimie et en Biochimie de l'UQÀM, Montré*al*, publication: Sciences express. 2008,7,9.
- **DANESSA MD., (2015)**. Introduction to diagnostic microbiology for the laboratory sciences. Kindle Edition, America. P552
- **DAVET P., (1996).** Vie microbienne du sol et production végét*al*e.pp 383 imprimé par JOUVE.
- **DAVIS J.A., JACKSON C.R., FEDORKA-CRAY P.J., BARRETT J.B., BROUSSE J.H., GUSTAFSON J., (2011).** Anatomic*al* distribution and genetic relatedness of antimicrobi*al*-resistant - *Escherichia coli* from he*al*thy companion anim*al*s. Journ*al* of Applied Microbiology. 110 (2): 597-604.
- **DECOIN M., WHIPPS J.M., NICOT P., GULLINO M.L., SPADARO, D., (2002).**

Micro-organismes contre agents pathogènes. *Phytoma-La Défense des Végétaux*. 549 : 32-36.

- **DELARRAS C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'An*al*yse ou de contrôle sanitaire. Edition. Lavoisier, Paris.
- **DELARRAS, C., (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'an*al*yses ou de contôle sanitaire.
- **DELMÉE, P. M., (2004)**. Microbiologie médic*al*e.
- **DENNIS C., WEBSTER J., (1971)**. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycologic*al* Society 57, 25–39.
- **DEPAOLA, A., J. L. NORDSTROM, ET *AL*., (2003)**. "Season*al* abundance of tot*al* and pathogenic Vibrio parahaemolyticus in *Al*abama oysters." Appl Environ Microbiol 69(3): 1521-6.
- **DOBBS R.A ET COLLJ.M., (1960)**. Carbon absorption isotherms for tonic organics, Municip*al* Environment*al* Research Laboratory, U.S. EPM Repport-600/8-80-023.
- **DOMMERGUES Y., MANGENOT F., (1970).** Ecologie microbienne du sol, Masson et CIE, Editeurs, Paris,796p.

E

- **EL KOUIR, D. P., (2003).** Infections à *staphylocoque*s : aspects cliniques et bactériologiques. EMC, m*al*adies infectieuses, 8-007-A-10.
- **EUZEBY, J.P., (2007).** «*Bacillus* ». In Dictionnaire de Bacteriologie Veterinaire, [En ligne]. http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/bacillus.html (Page consultee le 29 septembre 2007)

F

- **FARTAS K., LAOUISSI H., ZOUAIMIA S., (2015).** Etude microbiologique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 69p.
- **FERSTER, L. N., ET V. KURILOV., (1982)**: Characterization of the infectious process in anim*al*s susceptible and resistant to glanders. Arkh. Pathol. 44, 24–30.Fauré, R.; Shiao, T. c.; Lagnollx, D.; Giguère, D. and Roy, R. *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 27402708.

- **FINSTEIN M. S., ET *AL*EXANDER M., (1962).** - Compétition for carbon and nitrogen between *Fusarium* and bacteria. Soi/. Sc., 94:334-339.
- **FORD E. J., GOLD 4. H. ET SNYDER W. C., (1970).** - Soil substances inducing chlamydospore formation by *Fusarium*. P hytopathology, 60 124-128.
- **FRAV*AL* A., SILVY C., (1999)**. La lutte biologique. Dossiers de l'Environnement de l'INRAn°19, Paris, 274p.
- **FRAVEL D. R., (2005).** Commerci*al*ization and implementation of *biocontrol*. *Annual*

  Review of Phytopathology 43 : 337-359.
- **FRENRY J., RENARDR.P., (2007)**. Précis de bactériologie clinique, 2ème édition, paris, p.1764.

G

- **GILLESPIE, ET P. M. HAWKEY (EDS.)**, Principles and practice of Clinic*al* Bacteriology. 2éme édition, pp. 377- 386. England, UK: John Wiley and Sons Ltd.
- **GOODFELLOW M, ET WILLIAMS S T., (1983)**. Ecology of Actinomycetes. Annu*al* Review of Microbiology. 37, 139-216Germida J. J., Siciliano S. D., de Freitas J. R., Seib A. M., 1998, Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). FEMS Microbiology Ecology, 26(1): 43-50.
- **GÔTZ F, BANNERMAN T, ET SCHLEIDER KH., (2006)**. The genera *Staphylococcus* and *Macrococcus* in Prokaryotes. Springer, USA.
- **GREENBLAT, C. L., J. BAUM, ET *AL*., (2004)**. "*Micrococcus luteus* – Surviv*al* in Amber." Microbi*al* Ecology: 120-127.
- **GRIMONT F., GRIMONT P. A. D., (2002).** *Enterobacter* In : Bergy's Manu*al* of Systematic Bacteriology. 2éme édition, Vol 2, The Proteobacteria, Partie B : The Gammaproteobacteria, USA, Springer, pp 661-671.
- **GUECHI A., GIRRE L., (2002).** Recherche et an*al*yse d'un effet mutagène des extraits de feuilles d'olivier parasitées par le champignon *Cycloconium oleaginum* Cast. Sciences et Technologie, *Al*gérie, 18: 96-100.
- **GULIG, P. A., K. L. BOURDAGE, ET *AL*., (2005).** "Molecular Pathogenesis of Vibrio vulnificus." J Microbiol 43 Spec No: 118-31.

H

- **HAAS D., DEFAGO G., (2005)**.Biologic*al* control of soil-borne pathogens by fluorescent *pseudomonads. National. Revue. Microbiology*. 3 : 307–319
- **HAAS D., KEEL C., (2003).** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. And relevance for biologic*al* control of plant disease. *Annual. Revue. Phytopathology*. 41 :117–153
- **HARF-MONTEIL C ET MONTEIL H., (2007).** Aeromonas. Précis de la bactériologie clinique; 2:1167-1175.
- **HARF-MONTEIL C, PREVOST G ET MONTEIL H., (2003).** Facteurs de virulence d'Aeromonas caviae isolés de cas cliniques. Virulence factors of clinic*al* Aeromonas caviae isolates. Doi :10.1016/j.patbi o.2003.09.011.
- **HART C. A., (2006).** *Klebsiella*. Citrobacter, *Enterobacter* and *Serratia* spp. In S. H.
- **HOCHEDEZ P, HOPE-RAPP E, OLIVE C, NICOLAS M, BEAUCAIRE G ET CABIE A., (2009).** Caractéristiques des bactériémies à Aeromonas hydrophila aux Antilles. Médecine et m*al*adies infectieuses ; 39 :S25.
- **HSUEH PR, TENG LJ, YANG PC, HO SW, LUH KT**. Susceptibilities of Chryseobacterium indologenes and Chryseobacterium meningosepticum to cefepime and cefpirome. J Clin Microbiol 1997 ;35(12) :3323–4.

I

- **IKEDIUGWU F.E.O., WEBSTER J., (1970)**. Hyph*al* interference by *Peniphora giganta* against *Heterobasidio nannosum*. Transaction of the British Mycologic*al* Society, 54, 307-9.
- **INAM-UL-HAQ M., JAVED N., AHMAD R., REHMANA., (2003).** Ev*al*uation of different strains of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of *Fusarium* wilt of chickpea. Pakistant Journ*al* of Plant Pathology, 2(1): 65-74.

J

- **JEAN LOUIS F., JAEN L., AVRIL., (2002)**. Bactériologie génér*al*e et médic*al*e, pp :199,214- 239,244-249-252-260-298-306-307.
- **JOFFE A.Z., (1966).** *Aspergillus Flavus* Link and other fungi associated with stored groundnut kernels. *Journal. Botany* 14,198.

- **Jones J.B, Jones P.J, St*all* et Zitter T.A., Eds., (1991)**. Compendium of tomato diseases. APS Press
- **JONES J.B, JONES P.J, ST*ALL* ET ZITTER T.A., EDS., (1991).** Compendium of tomato diseases. APS Press, Minnesota, p 73.
- **JUAN B., LEMAIRE J.M., LEMARCHAND E., (1974).** Mise au point sur la gangrène ou « *Phoma* » de la pomme de terrre, *Phoma exigua var. exigue et var. Foveata. Sciences Agronomiques* Rennes, 97-110.

K

- **KATZNELSON H., COLE C.E., (1965).** Production of gibberellin like substances
  by bacteria and actinomycetes.*Canadian Journal Microbiology*. 11: 733p.
- **KEISER T, BIBB M J, BUTTNER M J, CHATER K F, HOPWOOD D A.(2000).** Gener*al* introduction to actinomycete biology. In practic*al* *Streptomyces* genetics. The johninnes foundation, England. Pp. 1-21.
- **KHAN, I., WIELER, L. H., MELZER, F., ELSCHNER, M. C., MUHAMMAD, G., *ALI*, S., SAQIB, M., (2012).** Glanders in Anim*al*s: A Review on Epidemiology, Clinic*al* Presentation, Diagnosis and Countermeasures. Transboundary and Emerging Diseases, 60(3), 204–221. doi:10.1111/j.1865-1682.2012.01342.x.
- **KING, E. O., WARD, M. K ET RANEY, D. E., (1954).** Deux médias simples pour la démonstration de pyocyanine et de fluorescéine. J. Lab. Clin. Med. 44:301-307.
- **KITOUNI M., (2007).** Isolement de bactéries Actinomycet*al*es productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. Université Mentouri- Constantine. Thèse de doctorat. Pp, 15-17, 170-205.
- **KLOEPPER J. W., (1993).** Plant-growth-promoting rhizobacteria as biologic*al* control agents, *In*: Soil Microbi*al* Ecology-Applications in Agricultur*al* and Environment*al* Management. Ed., F.B. Metting , Journ*al*, Marcel Dekker inc., New York . p. 255-274.
- **KLOEPPER J. W., LITSHITZ R., ZABLOTOWICZ R. M., (1989).** Free living bacteri*al* inoculation for enhancing crop producitivity. Trends in Biotechnology, 7: 39-43.

- **KLOEPPER J. W., LITSHITZ R., ZABLOTOWICZ R. M., (1989).** Free living bacteri*al* inoculation for enhancing crop producitivity. Trends in Biotechnology, 7: 39-43.
- **KLOOS WE AND BANNERMAN TL, (1994).** Update on Clinic*al* Significance of Coagulase-Negative Staphylococci. Clinic*al* Microbiology Reviews. Vol: 7(1): 117- 140.

L

- **LAGANOWSKA M.L ET KAZNOWSKI A., (2004).** Restriction Fragment Length Polymorphism of 16S–23S rDNA Intergenic Spacer of Aeromonas spp. Syst Appl Microbiol; 27:549–557.
- **LEBONGUY, A. A., (2019).** Caracterisation des microorganismes isoles d'un sol pollue par mes hydrocarbures et du gasoil d'un fond de bac. These de doctorat unique, Universite Marien NGouabi, 183p.
- **LEBONGUY, A. A., GOMA- TCHIMBAK*AL*A, J., MIAMBI, E., ET KELEKE S., (2017)**. Isolation and caracterisation of petroleum product emulsifing *Pseudomonas* strains from a generation set fuel tank. African journ*al* of microbiology reasearch, 11(22): 920-926. DOI: 10.5897/AJMR2016.809
- **LEHNER A., ROGER S., FANNING.S., IVERSEN C., (2011)**. *Enterobacter* In : Molecular detection of human bacteri*al* pathogens. USA, CRC, pp 853-863.
- **LEMANCEAU P., (1992).**Effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie,* 12 : 413-437.
- **LIN JT, WANG WS, YEN CC, LIU JH, CHIOU TJ, YANG MH, ET *AL*.** Chryseobacterium indologenes bacteremia in a bone marrow transplant recipient with chronic graft-versus-host disease. Scand J Infect Dis 2003; 35(11-12):882–3.
- **LISTER P. D., WOLTER D. J., HANSON N. D., (2009).** Antibacteri*al*-resistant *Pseudomonas* aeruginosa: clinic*al* impact and complex regulation of chromosom*al*ly encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 22 : 582-610.
- **LLER D.M., (1988).** Biologic*al* control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with Bacteria, *Annual Revue Phytopathology.* 26: 379–407.

- **LOCKWOOD J.L., (1964).** Activation of soil microflora by fungus spores in relation to soil fungistasis. *Journal of Genetic Microbiology*. 35: 215-227.
- **LOLLOO, R., MAHARAIH, D., GÖRGENS, J., GARDINER, N., (2010).** A downstream process for production of a viable and stable*Bacillus cereus* aquaculture biologic*al* agent. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86: 499-508.
- **LUGITO NPH, NAWANGSIH C, KURNIAWAN A.** A leth*al* case of *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia in an immunocompromised patient. Case Report Infect. Dis. 2016; Article ID 3294639, 4 pages.
- **LUTCHMEAH R.S., COOK R.C., (1984).** Aspects of antagonism by the mycoparasits *Pythium oligandrum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 83, 696-700
- **LYNCHJ.M.,(1990),** The Rhizosphere. LynchJ. M., (ed.) John Wiley et Sons Ltd, Chichester. p.1-10.

M

- **MADIGAN M., MARTINKO J., (2007).** *Biologie des microorganismes*, (11th edition) Pearson education. France.
- **MAKANERA A, CONDE M, DI*AL*LO MA, CONDE M, CAMARA D, BARRY AO, DIAKITE T**. Profil de sensibilité des souches de *Sphingomonas paucimobilis* isolées de diverses secrétions biologiques à l'Hôpit*al* de l'Amitié Sino-guinéenne kipé/Conakry (Guinée). REV. CAMES - Science de la vie, de la terre et agronomie, 2017 ; 5 (1) :14-20.
- **MANTOVANI B., SC*AL*I V., (1990).** Preliminary report on a hybridogenetic stick-insect (Phasmatodea): the first case among invertebrates. Invert. Reprod. Develop. 18 (3), 185-188.
- **MANTOVANI B., SC*AL*I V., (1991).** *Al*lozymic characterization of Sardinian*Bacillus rossius* (rossi) and *B. atticus* Brunner (Insecta Phasmatodea). Genetica 83, 275-287
- **MARCH*AL* N., BOURDON J.L. (1982).** Les milieux de cultures pour isolement et l'identification biochimique des bactéries. DOIN éditeur, Paris, 442.
- **MARCH*AL* N., BOURDON J.L. (1982).** Les milieux de cultures pour isolement et l'identification biochimique des bactéries. DOIN éditeur, Paris,

442technologies.6ème édition. Dunod- Paris, p.480-490.

- **MATALLAH-BOUTIBA A., (1998).** La verticilliose de l'olivier: Approches cyto-histologique et ultrastrucyure des interactions olivier-*Verticillium dahliae* Kleb. Memoire de Magistère. University d'Oran, 105 p.
- **MINANA-GALBIS D, FARFAN M, FUSTE M.C ET LOREN J.G. (2007).** Aeromonas bivalvium sp. Nov., isolated from bivalve mollusks. Int J Syst Evol Microbiol; 57:582-587.
- **MOORE E.R.B., TINDALL B.J., MARTINS DOS SANTOS V.A.P., PIEPER D.H., RAMOS J.L., PALLERONIN.J. (2006).** Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646- 703. *In* M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), Prokaryotes, Springer, USA.
- **MOREAU R., SCHAEFFER R. (1959).** Etude forestière, pédologique et microbiologique d'un bois très dégradé de la Haute Saâone, Dans *Revue. Foresterie. Française.*, pp. 417-433.

N

- **NAM I.Y ET JOH K., (2007).** Rapid detection of virulence factors of Aeromonas isolated from a trout farm by Hexaplex-PCR. J Microbiol; 45:297-304.

O

- **OLEVER J. M., (1983).** - Les organismes antagonistes d'agents phytopathogènes, 145-163. In: Faune et Flore auxiliaires en agriculture, A.C.T.A., Paris, 367 p.
- **OSMAN K. T., (2013).** Concepts of soil. In: Osman K. T. (ed) Soils: Principles, Properties and Management. Springer Science Business Media, Dordrecht, p 1-7.

P

- **PALLERONI N. J., (2008).** The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P. (Ed.), *Pseudomonas*: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press, Belgium pp 1–18.
- **PARK C., PAULTZ T., BAKER R., (1956).** Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal microbial.* Vol. 33, 349-353

- **PATERSON D. L., ROSSI F., BAQUERO F., HSUEH P. R., WOODS G. L., SATISHCHANDRAN V., SNYDER T. A., HARVEY C. M., TEPPLER H., DINUBILE M. J., (2005).** In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdomin*al* infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobi*al* Resistance Trends (SMART). Journ*al* of Antimicrobi*al* Chemotherapy, 55 (6), 965.
- **PAYEN G.G., RUBILIANI C., HUBERT M., (1982).** Mise en évidence en fonction de synthèse d'absorption et de transfert de substances par les racines des rhizoceph*al*es Sacculinidae, 69 : 255.
- **PETER H., GEORGES B. J., RAVEN K. A., MASON J. B., LOSOS S. R., (2015)**. Biologies, 9ème Ed. amirécaine du Raven, p.1406.
- **PIANO C.G., TANG W.H., CHE Y.X., (1992).** Study of the biologic*al* activity of yield increasing bacteria. *China Journal Microbiology*, 4, 55-62
- **PILET C. H., BOURDON J. L., TOMA B., MARCH*AL* N., B*AL*BASTRE C., PERSON, J., (1987).** Bactériologie médic*al*e et vétérinaire. Systématique bactérienne, pp: 38-53-55-152-166-167- 190-170-171-230-248.
- **POCHON J. "MANUEL TECHNIQUE D'AN*AL*YSE MICROBIOLOGIQUE". MASSON ET CIE. PARIS ED., (1964),** pp.5-20. Prescott, L., Harley, J.P., Klein D.A., (2010). Microbiologie tome II. De Boeck,.
- **POPOV, S. F., B. I. MELNIKOV, M. P. LAGUTIN, AND V. KURILOV., (1991)**. Capsule formation in the causative agent of glanders. Mikrobiol. Zh. 53, 90–92.
- **POPOV, S. F., N. G. TIKHONOV, AND V. KURILOV, (1994**). Influence of capsule formation in *Pseudomonas* m*al*lei and *Pseudomonas* pseudom*al*lei on their relation with host cell. Immunol. Infect. Dis. 4, 142–145.
- **PRESCOTT L. M., HARLEY J. P., KLEIN D. A., (2003)**. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles.2ème édition. p.1164.
- **PRESCOTT L. M., HARLEY J. P., KLEIN D. A., CLAIRE M., BACQ C., DUSART J., (2007**). Microbiologie. Ed, De Boeck université, p.492.

R

- **RAAIJIMAKERS J.M., VLAMI M., DE SOUZA J.T. (2002).** Antibiotic production by bacteri*al* biocontrol agents. *Anton Leeuw.* 81,537-54

- **RAWAT S., MUSHTAQ A., (2015).** Plant growth promoting rhizobacteria, a formula for sustainable agriculture: A review. Asian Journ*al* of plant Science and Research, 5(4): 43-46.
- **REYES G. A., ELLIOT H et St. JOHNSON D., (2004).** The Drosophila AP axis is polarised by the cadherin-mediated positioning of the oocyte. PubMed;(18):3635-44.
- **RipertC., (2013)**. Mycologie médic*al*e. Edition Lavoisier.p.327.
- **RISHBETH J. (1952).** Control of *Fomes annosus* Fc. *Forestery 25*, pp 41-50.

S

- **SAHARAN B. S., NEHRA V., (2011)**, Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critic*al* Review. Life Sciences and Medicine Research, 21:1-30.
- **SCHER F.M., BAKER R., (1982).** Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* with pathogens. The *American phytopathological society* Vol.72, N° 12, 1567-1573.
- **SCOW K. M., (2004)**. Soil microbiology. In: Schaechter, M. (ed). The Desk Encyclopedia of Microbiology. Elsevier Ltd, China, p. 914-926.Minnesota, p 73. m*al*adies des plantes: un cadre pour l'év*al*uation scientifique. Biol. Contrôle. 14-24p
- **SENH, DUPLER M., ELAD Y. ET BAKER R., (1984)**. - Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* 1. sp. cucumerinum as affected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium* suppressive soil. Phytopathology, 74: 1115-1124.
- **SHANKARA N., VAN LIDT D. J., DE GOFFAU M., HILMI M., VAN DAM B., FLORIJN. A., (2005).** La culture de la tomate: Production, transformation et commerci*al*isation. 5ème (ed). Foundation Agromis et CTA, Wageningen.
- **SILVY C., RIBA G., (2002).** Perspectives de la lutte microbiologique contre les ravageurs de cultures. La lutte biologique. Dossier de la cellule environnement de l'INRA, 5.
- **SIMON D., RICHARD F., BELLANGER M., DENIM*AL*L D., GOUBERT C., JEUFFRAULT E., (1994)**. La protection des cultures. Les pratiques d'aujourd'hui et de demain en protection des cultures.

- **SINGLETON P., (2005).** Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les bio
- **SPEERT DAVID, P. *PAEDIATR. RESPIRATORY REV., (*2002)**.3, 230-235.
- **SUDHA, S.K.S. AND HEM*AL*ATHA, R., (2015).** Isolation and Screening of Antibiotic Producing Actinomycetes from Garden Soil of Sathyabama University, Chennai. AsianJourn*al* of Pharmaceutic*al* and Clinic*al* Research, 8, 110-114

V

- **VINCENT, J.M. (1977).** Root nodule symbiosis with Rhizobium. In the biology of nitrogen fixation quispel. A. Eds. North – Holland. Amsterdam. 256-341p.
- **VINCENT, J.M. (1977).** Root nodule symbiosis with Rhizobium. In the biology of nitrogen fixation quispel. A. Eds. North – Holland. Amsterdam. 256-341p. Tlemcen. p.18.

W

- **WAKSMAN S.A. (1948).** Antagonism microbiens et substances antibiotiques. Ed Dols Paris. Biologie des sols Document. (6) : 452.
- **WANG S.L., HSAIAO W.J., CHANG W.T. *ET AL., (*2002)**. Purification and characterization of an antimicrobi*al* chitinase extracellularly produces by Monoscus purpureus CCR 31499 in a shirmp and crab shell powder medium. J.Aric.Food.Chem., 50, 2249-2255.
- **Worley, G., ET G**. **Young., (1945)**: The glanders organism with reference to cell inclusion. J. Bacteriol. 49, 97–100. Worms and Germs Blog, 2011: Lions and tigers and glanders. Available at http://www.wormsandgermsblog.com/2011/01/ articles/anim*al*s/other anim*al*s/lions-and-tigers-and-glanders/ (accessed January 26, 2012).
- **WU C.J, WU J.J, YAN J.J ET LEE H.C. (2007).** Clinic*al* significance and distribution of putative virulence markers of 116 consecutive clinic*al* Aeromonas isolates in southern Taiwan. J Infect; 54:151-158 .

Z

- **Zahir Z. A., Arshad M., Frankenberger W. T., (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances

in Agronomy, 81: 97-168.