

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHANED OULHADJ

FACULTE DE SCIENCE ET DE VIE ET SCIENCE DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGUE



Réf :/UAMOB/FSNVST/DB/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

GUEBLI Bouchra & KHATIR Randa

Thème

**Activités enzymatiques des bactéries du sol : répartition,
impact et intérêt agricole de l'activité phosphatasique.**

Soutenu le : 12 /09/2023

Devant le jury composé de

Nom et Prénom

Grade

Amar ARAB

MCA

Univ. De Bouira

Président

Katia DJENADI

MCB

Univ. De Bouira

Examinatrice

Abdelwahab RAI

MCB

Univ. De Bouira

Promoteur

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, le Généreux et le Miséricordieux, pour nous avoir accordé la force, la patience, la volonté et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous Le remercions également de nous avoir guidés vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.

*Nous souhaitons exprimer toute notre gratitude à **Monsieur RAI Abdelwahab**, Maître de Conférences à l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira, pour avoir encadré et dirigé ce travail. Nous lui sommes reconnaissantes pour sa disponibilité, sa patience, sa compétence et ses précieux conseils. Sa confiance en nous et son suivi régulier ont grandement contribué à l'élaboration de ce mémoire. Nous le remercions pour ses orientations et ses encouragements, qui nous ont permis de progresser et d'élargir notre vision de la recherche. Que Dieu lui accorde Sa bénédiction permanente.*

Nous adressons nos remerciements à tous les membres du jury :

***Monsieur ARAB Amar** pour avoir accepté de présider le jury. Nous lui exprimons notre profond respect. Nous tenons également à remercier **Madame DJENADI Katia** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.*

Nous remercions chaleureusement tous nos précieux professeurs que nous avons eu la chance de rencontrer tout au long de notre parcours universitaire.

*Un grand merci également à l'ingénieure de laboratoire, **Monsieur DJEDDI Boudjema**, pour avoir fourni toutes les exigences de travail. Nous adressons nos remerciements à la responsable du laboratoire, **Madame GHERBI Fatma**, pour sa modestie, sa gentillesse et sa collaboration constante.*

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers toutes les personnes qui, de différentes manières et à différents moments, nous ont apporté leur aide.

Dédicace

Dédicace

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

À ma chère mère : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie. Je vous aime de tout mon cœur.

À mon cher père : Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

*À mes chères sœurs **Ibtissem** et son mari **Mahfoud**, et **Samar** et son mari **Mounir** : Pour leur soutien moral et leurs précieux conseils tout au long de mes études.*

*À mon cher frère **Idris**, sa femme **Sarah** et mon frère **Abdel Hakim** : Je vous remercie pour votre confiance, votre soutien et votre coopération constante envers moi.*

À ma chère grand-mère : À qui je souhaite une bonne santé.

*À mes chères amies **Hassiba**, **Maroi** et **Amina** : Pour leur aide et leur soutien dans les moments difficiles.*

Bouchra.

Avant tous, Tout cela est dû à la grâce du Dieu,

*A ceux qui partagent mes joies et mes peines, à la femme la plus merveilleuse qui soit « Ma chère maman **Barkahoum** » et celui qui m'a aidé et soutenu durant toute ma vie, mon cher papa **Ahmed**, l'homme le plus merveilleux de l'univers*

*A mes chères sœurs et frères **Mohamed, Meriem, Hadjer, Hanane***

*A mes chers amis **Chaïma, Fatima, Yasmine, Achouak, Rachida...**, que je remercie vraiment pour leur aide et leur soutien, avant, durant et après la réalisation de ce travail*

A toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien tant moral que physique et qui, de loin ou de près ont contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin j'ai levé mon chapeau adieu les années passées.

Randa.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1. Diversité des grands groupes de microorganismes dans le sol.....	4
Tableau 2. Taxonomie de la plante de choix (<i>Capsicum annuum</i> L).....	29
Tableau 3. pH (Eau et KCl), Θ_g et MOT des six échantillons étudiés.....	33
Tableau 4. ORP, Résistivité, DO et CE des six échantillons étudiés.	33
Tableau 5. Données relatives à l'étude des corrélations :.....	43
Tableau 6. Matrice des corrélations.....	44
Tableau 7. Effet de la salinité (EC) de l'échantillon MEB.....	46

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1. Les composants du sol.....	3
Figure 2. Échantillonnage et transport des échantillons (originale).....	18
Figure 3. Localisation géographique et dates des échantillons de sol.	19
Figure 4. Mesurer du pH.....	19
Figure 5. Détermination du contenu humide gravimétrique.....	20
Figure 6. Schéma des procédures de mesure la matière organique.....	21
Figure 7. Multi paramètres HANNA HI 9829.....	22
Figure 8. Milieu LB en préparation.....	22
Figure 9. Procédure d'isolement.....	23
Figure 10. Préparation des dilutions et ensemencement.....	23
Figure 11. Schéma récapitulative de la méthode des disques d'agar.....	24
Figure 12. Décantation de la chitine colloïdale.....	25
Figure 13. Inondation des boîtes avec de la Lugol.....	26
Figure 14. Milieux de culture des activités enzymatiques testées.....	27
Figure 15. Recherche de la catalase.....	28
Figure 16. Recherche de l'oxydase.....	29
Figure 17. Bactérisation des graines.....	30
Figure 18. Test in vivo sur graines de poivron.....	31
Figure 19. Plantation des graines.....	32
Figure 20. Quelques isolats sélectionnés pour l'étude de l'activité enzymatique.	34
Figure 21. Activité estérasique des 60 souches sélectionnées.....	35
Figure 22. Activité estérasique de l'isolat BOC2.....	35
Figure 23. Activité lipasique des 60 souches sélectionnées.....	36
Figure 24. Activité lipasique de l'isolat BOD6.....	36
Figure 25. Activité amylasique des 60 souches sélectionnées.....	37
Figure 26. Activité amylasique des isolats BOD1, BOD3 et BOD5.....	38
Figure 27. Activité protéasique de l'isolat MEA8.....	38
Figure 28. Activité protéasique des 60 souches sélectionnées.....	39
Figure 29. Activité cellulastique des isolats.....	39
Figure 30. Activité cellulastique des 60 souches sélectionnées.....	40
Figure 32. Activité chitinasique de l'isolat BOC10.....	41
Figure 33. Activité phosphatasique des 60 souches sélectionnées.....	42
Figure 34. Activité phosphatasique de l'isolat BOA2 (originale).	42

Figure 35. Coloration de Gram des deux isolats A : BOA2 et B : BOB.....	47
Figure 36. Résultats des tests de la catalase (A) et de l'oxydase (B).....	47
Figure 37. Nombre final des graines germées après une période de 24 jours.....	48
Figure 38. Poids frais des plantules germées après une période de 45 jours	49
Figure 39. Productivité totale estimée des plantules germées	49

Liste des abréviations

Liste des abréviations

SCP : *Single Cell Protein*

BSP : bactéries solubilisatrices de phosphate

Rpm : rotation par minute

M : molaire

μL : microlitre

μS : microsiemens

CMC : Carboxyméthylcellulose

Sommaire

Sommaire :

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction..... 1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

1. Les bactéries du sol.....	3
1.1. Le sol	3
1.1.1. Composition	3
1.1.2. Les vivants du sol.....	3
1.2. Les bactéries du sol.....	4
1.2.1. Diversité	4
1.2.2. Effet de l'environnement sur la diversité bactérienne du sol :.....	6
a. PH	6
b. Humidité	7
c. Matière organique	7
d. L'oxygène dissous	8
e. Salinité	8
2. Les activités lytiques bactériennes dans le sol.....	9
2.1. Cellulases.....	9
2.1.1. Définition	9
2.1.2. Intérêt biotechnologique.....	9
2.2. Amylases	10
2.2.1. Définition	10
2.2.2. Intérêt biotechnologique.....	10
2.3. Chitinases.....	11
2.3.1. Définition	11
2.3.2. Intérêt biotechnologique.....	11
2.4. Protéases	12
2.4.1. Définition	12

2.4.2.	Intérêt biotechnologique.....	12
2.5.	Lipase.....	14
2.5.1.	Définition	14
2.5.2.	Intérêt biotechnologique.....	14
2.6.	Estérase	14
2.6.1.	Définition	14
2.6.1.	Intérêt biotechnologique.....	15
2.7.	Phosphatase	15
2.7.1.	Définition	15
2.7.2.	Intérêt biotechnologique.....	15
3.	Les bactéries solubilisatrices du phosphate en agriculture	16
3.1.	Problème des engrais phosphatés en agriculture	16
3.2.	Les BSP comme alternative.....	16

Chapitre II. Matériel et méthodes

1.	Matériel.....	18
2.	Méthodes.....	18
2.1.	Échantillonnage du sol :	18
2.2.	Caractérisation physicochimique des échantillons	19
2.2.1.	PH.....	19
2.2.2.	Contenu humide gravimétrique.....	20
2.2.3.	Matière organique totale :	20
2.2.4.	Mesure multiparamètres	21
2.3.	Isolement et purification des bactéries de sol	22
2.3.1.	Préparation du milieu de culture	22
2.3.2.	Préparation des dilutions et ensemencement.....	22
2.3.3.	Purification :	23
2.4.	Études des activités enzymatiques.....	24
2.4.1.	Cellulase	24
2.4.2.	Chitinase.....	25
2.4.3.	Amylase.....	26
2.4.4.	Protéase	26
2.4.5.	Estérase.....	27
2.4.6.	Lipase	27

2.4.7.	Phosphatase	27
2.5.	Caractérisation morpho physicochimique des isolats sélectionnées	28
2.5.1.	Aspect des colonies :	28
2.5.2.	Coloration de Gram	28
2.5.3.	Recherche de la catalase	28
2.5.4.	Recherche de l'oxydase	28
2.6.	Effet des BSP isolées sur la croissance du poivron	29
2.6.1.	Préparation des inocula bactériens	29
2.6.2.	Stérilisation des graines de poivron	30
2.6.3.	Bactérisation des graines :	30
2.6.4.	Semis des graines	31
3.	Analyse statistique	32

Chapitre III. Résultats

1.	Propriétés physicochimiques des échantillons du sol	33
2.	Bactéries isolées	33
3.	Activités enzymatique des isolats	34
3.1.	Estérase	34
3.2.	Lipase	34
3.3.	Amylase	37
3.4.	Protéase	38
3.5.	Cellulase	38
3.6.	Chitinase	40
3.7.	Phosphatase	41
4.	Corrélation entre les activités enzymatiques et les propriétés des échantillons	43
4.1.	Données récapitulatives	43
4.2.	Matrice des corrélations	44
5.	Caractérisation morpho-physicochimique des isolats sélectionnés	47
5.2.	Coloration de Gram	47
5.3.	Recherche de la catalase et de l'oxydase	47
6.	Activité promotrice de la croissance du poivron	47

Chapitre IV. Discussion

Discussion	50
------------------	----

Conclusion 55

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

المخلص

Introduction

Introduction

Dans le sol, les microorganismes forment la majorité des organismes vivants, englobant une grande diversité génétique. Environ 10 à 100 milliards de bactéries et entre 6 000 et 50 000 espèces bactériennes peuvent être présentes par gramme de sol. Le sol est donc une entité vivante ayant des propriétés biochimiques et biologiques liées principalement aux activités microbiennes. Ses microorganismes jouent un rôle clé dans la dégradation des complexes organiques (cellulose, chitine, pectine, xylane etc.), qu'elles trouvent dans le sol (**Mezzache *et al.*, 2012**).

Dans ce contexte, les microorganismes, notamment les bactéries et les champignons, fournissent la majorité des enzymes présentes dans le sol. Au fil des décennies, les enzymes ont gagné en importance dans les biotechnologies en raison de leur valeur économique dans divers secteurs industriels (**Zhang *et al.*, 2023 ; Tate, 2020**).

Les enzymes lytiques d'origine bactérienne jouent un rôle essentiel en biotechnologie, offrant une myriade d'applications cruciales dans des domaines tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétique, l'agriculture et l'industrie (**Liu et Kokare, 2023**). En outre, l'industrie alimentaire et la production de biocarburants bénéficient également de ces enzymes pour faciliter la fermentation et la production de produits de haute qualité. En somme, les enzymes lytiques d'origine bactérienne représentent une ressource fondamentale pour la biotechnologie, offrant un potentiel considérable pour relever les défis actuels et futurs liés à la santé, à l'agriculture durable et à la production industrielle (**Salazar et Asenjo, 2007 ; Liu et Kokare, 2023**).

Les bactéries, étant les habitants les plus diversifiés et abondants du sol, jouent un rôle central dans les cycles biogéochimiques et dans la fertilité, la structure et la productivité des sols agricoles ainsi que dans la santé des plantes (**Dey *et al.*, 2004 ; He *et al.*, 2004**). Grâce à leur présence dans la rhizosphère des plantes, elles sont capables de réduire ou d'augmenter la libération, le transfert et l'absorption des nutriments et des métaux, participant ainsi à la protection des végétaux et à la promotion de leur croissance (**Zhang *et al.*, 2023**).

En agriculture, le phosphate (P) est essentiel à la croissance végétale et a de nombreuses activités métaboliques. Cependant, il est souvent peu accessible aux plantes en raison de sa réaction rapide avec des métaux tels que le fer (Fe), l'aluminium

(Al) et le calcium (Ca), ce qui limite son assimilation par les végétaux. Ainsi, même dans les sols riches, la majeure partie du phosphate demeure sous une forme insoluble (**Hii et al., 2020**). Pour optimiser les niveaux de phosphate dans les sols cultivés, l'utilisation d'engrais chimiques est courante, mais cette pratique a des effets néfastes sur la qualité des sols et l'environnement (**Prabhu et al., 2019**). Les fertilisant agricoles peuvent constituer une alternatif à cet enjeu. Cependant, ces derniers nécessitent un temps de dégradation avant d'être assimilés par les plantes, ce qui dépend à son tour de l'activité dégradante (lytique) la communauté microbienne du même sol (**Wang et al., 2018**). La richesse et la diversité lytique de cette communauté dépendent à leur tour, de l'environnement qui les hébergent. Ainsi, des propriétés tels que le pH, la salinité, le contenu en matière organique d'un sol etc. façonnent la nature des bactéries d'un sol et leurs potentiels enzymatiques (**Burns et al., 2013**).

Dans cette optique, notre recherche vise à évaluer l'impact des propriétés physicochimiques des sols (pH, salinité, matière organique etc.) sur la distribution des bactéries productrices d'enzymes. De surcroît, notre objectif secondaire à évaluer la capacité des bactéries solubilisatrices du phosphate, isolées lors de la première partie de l'étude, à favoriser la croissance des plants de poivron dans un sol calcaire en présence d'une source de phosphate non assimilable par les plantes.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Dans cette partie, une introduction aux notions de base liées aux sols en tant qu'environnements complexes et une initiation aux principaux types d'enzymes lytiques d'origine bactérienne pouvant être rencontrées dans les sols sont élucidés.

1. Les bactéries du sol

1.1. Le sol

Le sol agit comme un point de convergence entre les mondes : végétal, animal et minéral. Il constitue une base essentielle pour le cycle de la vie sur Terre, en abritant une activité biologique intense (**Tate, 2012**). C'est un élément intermédiaire entre la lithosphère (couche externe solide de la Terre), l'atmosphère (couche de gaz qui entoure la Terre) et l'hydrosphère (la composante de la Terre qui englobe l'ensemble de son eau), offrant également un support essentiel à une partie de la biosphère (**Duponnois et al., 2013**).

1.1.1. Composition

Le sol est constitué de cinq éléments principaux : la fraction minérale, la matière organique, l'eau, l'air et les organismes vivants (**Figure 1**). Ces composants s'agencent pour former des espaces qui sont occupés par l'air et l'eau (**Faugier, 2010**).

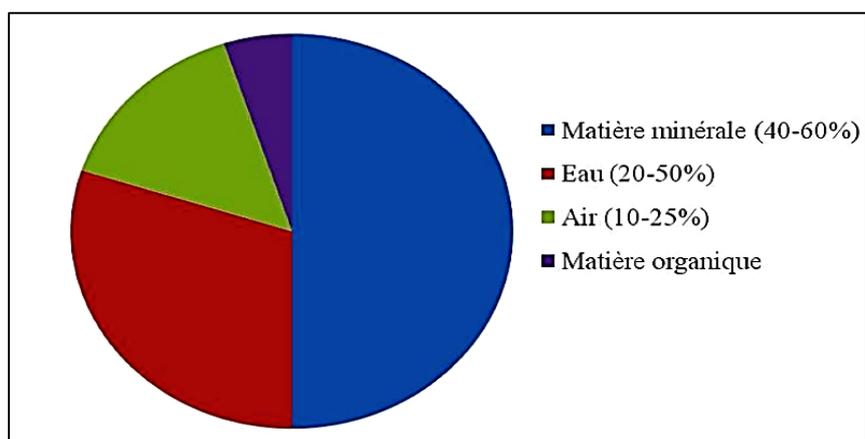


Figure 1. Les composants du sol (**White, 2006**).

1.1.2. Les vivants du sol

Les microorganismes vivants du sol sont principalement des bactéries, des champignons et des algues (**Tableau 1, Figure 2**). Ils participent tous, d'une manière ou d'une autre, à la formation et à l'évolution du sol (**Gobat et al., 2003**). Les microorganismes du sol jouent un rôle fondamental dans des aspects importants de la régulation des cycles biogéochimiques (**Dari, 2013**).

Tableau 1. Diversité des grands groupes de microorganismes dans le sol

Groupe	Exemples
Bactéries autres que les actinomycètes	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Azotobacter</i>
	<i>Azospirillum</i>
	<i>Azomonas</i>
	<i>Nitrosomonas</i>
Actinomycètes	<i>Mycobacterium</i>
	<i>Streptomyces</i>
	<i>Actinomyces</i>
	<i>Nocardia</i>
Champignons	Moisissures à plasmodium
	Champignons à flagelles
	Zygomycètes
Algues	Algues vertes
	Eugléniens
	Algues jaunes
	Diatomées

Synthétisé à partir de (Wollum, 1983 ; Roger et Garcia, 2001 ; Gyaneshwar *et al.*, 2002).

1.2. Les bactéries du sol

Les bactéries représentent l'un des groupes les plus abondants de microorganismes dans le sol. Nutritionnellement, elles se divisent en deux catégories : les bactéries autotrophes, utilisant le carbone sous forme minérale, et les bactéries hétérotrophes, qui utilisent le carbone sous forme organique. Les majorité des bactéries prospèrent davantage dans des environnements riches en azote, bien aérés, et avec un pH supérieur à 6 (Clark, 1967).

1.2.1. Diversité

De nombreux éléments biotiques et abiotiques interviennent pour façonner la configuration des communautés bactériennes dans les sols, aussi bien en termes de diversité que de caractéristiques spécifiques : types trophiques, métabolisme

énergétique, métabolisme secondaire etc. (**Hassink, 1993 ; Borneman *et al.*, 1996 ; Borneman et Triplett, 1997**).

La dynamique bactérienne joue également un rôle essentiel, étant donné que l'écosystème du sol est constamment soumis à des perturbations de diverses natures, qui ont un impact profond sur la structure des communautés. Cependant, la prise en compte de tous les paramètres influençant la composition de la microflore Terrestre et surtout leurs interactions, engendrant une multitude de conditions différentes, est un défi scientifique important (**Tarlera *et al.*, 2008**).

Dans la couche superficielle du sol, les actinomycètes représentent au moins 80% des microorganismes, tandis que dans les couches situées à une profondeur de 80 cm, leur proportion diminue jusqu'à atteindre 14% (**Maidoukia *et al.*, 2014**). D'autres types de bactéries sont associées aux racines, notamment les *Pseudomonas*. Ce sont des habitants typiques des sols agricoles et de la rhizosphère des plantes. Ils jouent un rôle essentiel dans de nombreuses interactions avec les plantes et sont considérés comme acteurs biologiques importants dans les terrains agricoles, contribuant à la suppression des maladies fongiques dans les cultures (**Mezzache, 2012**).

La diversité bactérienne dans le sol est incroyablement vaste et comprend une large gamme de familles et des milliers de genres. Voici quelques-uns des genres bactériens notablement couramment trouvés dans le sol :

- ***Bacillus*** : Les espèces de *Bacillus* sont couramment présentes dans le sol et sont connues pour leur capacité à produire des spores capables de survivre dans des conditions environnementales difficiles. Elles jouent un rôle dans le cycle des nutriments et peuvent avoir des propriétés favorisant la croissance des plantes (**Aslim *et al.*, 2002**).
- ***Pseudomonas*** : Les espèces de *Pseudomonas* sont connues pour leur polyvalence et leur adaptabilité. Elles peuvent dégrader divers composés organiques et sont souvent impliquées dans les processus de remédiation du sol. Certaines souches ont également des effets bénéfiques pour les plantes (**Madsen et Alexander, 1982**).
- ***Streptomyces*** : Les Streptomyces sont célèbres pour leur rôle dans la production d'antibiotiques et d'autres composés bioactifs. On les désigne souvent sous le

nom d'actinomycètes et contribuent à la décomposition de la matière organique du sol (Schlatter *et al.*, 2009).

- ***Rhizobium*** : Ces bactéries forment des associations mutuelles avec les plantes légumineuses, où elles fixent l'azote atmosphérique sous une forme utilisable par les plantes. Cela est crucial pour le cycle de l'azote et la fertilité du sol (Mwenda *et al.*, 2023).
- ***Nitrobacter*** et ***Nitrosomonas*** : Ces genres sont impliqués dans la nitrification, une étape clé du cycle de l'azote. Ils convertissent l'ammoniac en nitrite, puis en nitrate (Atuanya *et al.*, 2023).
- ***Clostridium*** : Les espèces de *Clostridium* sont connues pour leur capacité à fermenter la matière organique et à produire divers acides organiques et gaz. Elles sont importantes dans les processus de décomposition anaérobie (Hashimoto *et al.*, 2023).
- ***Mycobacterium*** : Certaines espèces de *Mycobacterium* sont présentes dans le sol et sont connues pour leur rôle dans la décomposition de composés organiques récalcitrants (Honda, 2023).
- ***Acidobacteria*** : Les *Acidobacteria* sont un groupe diversifié que l'on trouve dans le sol, et elles jouent un rôle essentiel dans le cycle du carbone et la régulation du pH du sol (Liao *et al.*, 2023).
- ***Chloroflexi*** : Les *Chloroflexi* sont impliqués dans la décomposition de la matière organique complexe et sont souvent présents dans des environnements anaérobies du sol (Dan *et al.*, 2023).
- ***Cyanobacteria*** : Dans certains sols, notamment ceux exposés à la lumière, les cyanobactéries peuvent contribuer à la fertilité du sol en fixant l'azote atmosphérique et en produisant de la matière organique (Mao *et al.*, 2023).

1.2.2. Effet de l'environnement sur la diversité bactérienne du sol :

a. PH

L'effet du pH sur les microorganismes dépend de leur tolérance envers ce facteur.

On peut classer les microorganismes en quatre catégories distinctes :

- **Les bactéries neutrophiles** qui préfèrent des pH proches de la neutralité, voire légèrement basiques. C'est le cas notamment d'*Azotobacter*, de *Nitrosomonas*, de *Nitrobacter*, et de nombreux Actinomycètes.
- **Les bactéries acidophiles**, exigeants des environnements nettement acides. Un exemple classique en est *Acidithiobacillus thiooxidans* et *A. ferrooxidans*, dont les valeurs optimales de pH se situent entre 2,0 et 3,5 (Yi *et al.*, 2023).
- **Les bactéries basophiles**, ayant une intolérance à des pH inférieurs à 8,0 (Dommergues et Mangenot, 1970).
- **Les bactéries indifférents**, capables de se développer dans une vaste plage de pH. Cette capacité est observée chez de nombreuses bactéries, pour lesquelles la croissance est optimale entre les pH 6,0 et 9,0 (Stanier *et al.*, 1966).

b. Humidité

L'humidité joue un rôle régulateur de l'activité biologique bactérienne de plusieurs manières. Elle agit directement sur le développement des organismes vivants, en tant qu'élément nécessaire à leur croissance. L'humidité a également un impact indirect en modifiant les échanges gazeux et assurant le transport vertical ou horizontal de diverses substances, y compris les substrats énergétiques et certains éléments de la microflore tels que les cellules végétatives ou les spores (Dommergues et Mangenot, 1970).

c. Matière organique

Les bactéries du sol sont principalement hétérotrophes, ce qui signifie qu'ils dépendent des sources de la matières organiques environnante. Ils sont souvent appelés microorganismes décomposeurs. En fait, les microorganismes ne se répartissent pas uniformément dans le sol, mais plutôt en microcolonies, la plupart étant dans un état de dormance. En présence d'une source d'énergie, les bactéries sortent de leur état de dormance. L'introduction d'une source d'énergie peut se produire lorsque les racines en croissance passent à proximité d'une colonie ou lorsque le sol est amendé. Les amendements courants incluent les résidus de culture, les fumiers ainsi que d'autres produits tels que les résidus de papier et les composts (Martine et Denis, 2005).

d. L'oxygène dissous

Les bactéries peuvent être classés en quatre groupes en fonction de leur réaction à l'oxygène atmosphérique (**Dommergues et Mangenot, 1970**) :

- Les bactéries **aérobies obligatoires** (ou stricts) nécessitent l'oxygène pour leur développement et leur survie.
- Les bactéries **aéroanaérobies facultatifs** peuvent se développer en présence ou en absence d'oxygène, tant qu'ils ont des substrats appropriés.
- Les bactéries **anaérobies obligatoires** (ou stricts) sont inhibées ou tuées par même de faibles concentrations d'oxygène. Cela est probablement dû à l'oxydation irréversible des transporteurs d'électrons ou à la formation de peroxyde toxique.
- Les bactéries **microaérophiles** sont des microorganismes aérobie obligatoires dont la croissance est favorisée dans des conditions de faible teneur en oxygène.

e. Salinité

La salinité a été identifiée comme le facteur le plus influent sur la distribution mondiale des microorganismes (Zhang *et al.*, 2019). Un sol qui contient des sels en excès au point de compromettre sa productivité est désigné comme un sol salin. L'accumulation de sels dans la solution du sol, appelée salinité, peut impacter les processus du sol (**Yan *et al.*, 2015**). En revanche, une teneur en sel appropriée peut stimuler le métabolisme microbien et favoriser l'activité respiratoire et métabolique des microorganismes (**Huijun *et al.*, 2017**).

En général, une forte salinité du sol entraîne une réduction de l'activité microbienne, incluant celle des bactéries. Cependant, certains groupes bactériens peuvent croître et se reproduire même dans des conditions de salinité relativement élevée. Il est important de noter que la quantité et l'activité de certains types de bactéries, tels que les actinomycètes, peuvent surpasser celles d'autres bactéries lorsque la salinité du sol augmente (**Al-Mamoori *et al.*, 2022**).

2. Les activités lytiques bactériennes dans le sol

2.1. Cellulases

2.1.1. Définition

Les cellulases constituent une classe d'enzymes chargées de la décomposition de la cellulose dans le milieu naturel (**Khelil, 2017**). Ces enzymes sont majoritairement synthétisées par divers microorganismes tels que les champignons, les bactéries, et en particulier les bactéries halophiles (**Dari, 2013**).

2.1.2. Intérêt biotechnologique

L'utilisation des cellulases dans le secteur de la fabrication de papier a gagné en importance ces dix dernières années. L'ajout de cellulases aux mélanges de pâte en cours de lavage ou aux suspensions de papier recyclé améliore considérablement leur capacité à être filtrés, entraînant ainsi des économies importantes en termes de consommation d'eau (**Scriban, 1993**).

Depuis 1990, les cellulases sont devenues essentielles dans l'industrie textile et des détergents. Dans le domaine textile, elles sont utilisées pour modifier l'aspect des jeans après lavage, pour raviver les couleurs des fibres et pour éliminer les taches des tissus (**Scriban, 1993 ; Gusakov et al., 2000 ; Ando et al., 2002**).

Les cellulases sont largement employées dans la biotechnologie alimentaire. Elles sont particulièrement utiles dans l'amélioration des procédés d'extraction, de clarification et de stabilisation lors de la production de jus de fruits et de légumes. Elles sont souvent combinées avec d'autres enzymes telles que les xylanases et les pectinases pour faciliter la filtration de suspensions contenant des fibres de cellulose (**Odier et Rouau, 1985 ; Scriban, 1993**).

Les usages des cellulases dans le domaine de la nutrition animale ont suscité un grand intérêt en raison de leur potentiel à améliorer les performances nutritionnelles des animaux (**Kolarova et Farkas, 1981 ; Odier et Rouau, 1985**). Ces enzymes sont adoptées en tant qu'additifs dans l'alimentation animale, car l'intégration de cellulases dans les régimes alimentaires destinés aux volailles et aux porcs augmente leur digestibilité, limitant la libération de cellulose non digérée et réduisant la charge polluante des excréments (**Scriban, 1993 ; Gusakov et al., 2000**).

2.2. Amylases

2.2.1. Définition

Les amylases sont des enzymes ayant la capacité de décomposer l'amidon (à la fois l'amylose et l'amylopectine) ainsi que ses composés résultant de la dégradation tels que les dextrans et les autres oligosaccharides (**Kermiche, 2013**).

2.2.2. Intérêt biotechnologique

En industrie textile et dans la phase de tissage, les fils subissent une forte tension, ce qui peut les rompre. Pour prévenir cela, une couche de protection gélatineuse base d'amidon est appliquée temporairement. Cette couche est aisément éliminée par dégradation enzymatique avec l'utilisation d'amylases (**Hendriksen et al., 1999**).

En boulangerie, les amylases sont utilisées pour prévenir le rassissement du pain et d'autres produits en améliorant leur texture et leur durée de conservation. L'ajout d'additifs tels que des produits chimiques et des émulsifiants à la pâte est courant (**Azizi et al., 2003**). L'incorporation des α -amylases thermorésistantes renforce la structure, le volume, la texture, la saveur et la longévité du pain (**Amigo et al., 2016**).

Les amylases occupent la seconde place après les protéases en termes d'utilisation dans la composition des détergents enzymatiques. Plus de 90% des détergents liquides intègrent ces enzymes (**Gupta et al., 2003**). Dans les produits de lessive et des détergents, ces enzymes servent à décomposer les résidus et à améliorer la solubilité des produits (**Roy et Mukherjee, 2013**).

Dans le secteur pharmaceutique, les amylases sont exploitées en tant qu'agents anti-inflammatoires et également comme auxiliaires digestifs pour prévenir les dyspepsies et les fermentations intestinales (**Pandey et al., 2000**).

La teneur en amidon des lentilles d'eau peut varier considérablement, allant de 3 à 75% du poids sec en fonction de l'espèce (**Landolt et Kandler, 1987**). Pour produire du bioéthanol, la biomasse des lentilles d'eau est décomposée par les enzymes pullulanase et amyloglucosidase, ce qui génère des sucres réducteurs. Ces sucres sont ensuite convertis en bioéthanol (**Chen et al., 2007 ; Prakash et al., 2012**).

Les amylases jouent un rôle essentiel dans la dépollution et la valorisation des déchets, notamment les déchets alimentaires (pain, pâtisseries), les déchets céréaliers

(blé, maïs, riz) ainsi que les résidus agricoles (oranges, paille, marc de raisin, résidus d'olives). Ces déchets subissent une transformation de leur teneur en amidon en sucres réducteurs, notamment du glucose, du maltose et des malto-oligosaccharides. Ces produits biotechnologiques précieux trouvent une variété d'applications dans les secteurs de la nutrition, la cosmétique, la production d'énergie et la pharmacie (**El-Aty et Mostafa, 2015 ; Rashid *et al.*, 2018**).

2.3. Chitinases

2.3.1. Définition

Les chitinases sont des enzymes ayant la capacité de décomposer la chitine (un polymère linéaire dont la structure rappelle celle de la cellulose) en composés plus simples. Elles ont des propriétés fongicides et antifongiques, offrant des applications en l'agriculture, ingénierie environnementale, cosmétiques et en industrie alimentaire. Elles peuvent également détecter les champignons dans le sol, ce qui leur ouvre des perspectives commerciales diverses (**Garima et Amil, 2020**).

2.3.2. Intérêt biotechnologique

Les microorganismes possédant des chitinases s'avèrent très utiles pour contrôler les insectes et les phytopathogènes, offrant ainsi une approche prometteuse de biolutte en agriculture. Les principaux agents pathogènes végétaux tels que *Fusarium*, *Alternaria* et *Aspergillus*. De même, les arthropodes représentent les principaux ravageurs présents dans divers écosystèmes, où la chitine constitue la paroi intestinale et l'exosquelette des insectes. Dans ce contexte, les conséquences nocives et les coûts élevés des pesticides chimiques font en sorte que les biopesticides chitinolytiques gagnent en popularité. En effet, certaines chitinases bactériennes (*Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* etc.) semblent être capables de dégrader des structures pariétales fongiques et des cuticules d'insectes, majoritairement composées de chitine (**Garima et Amil, 2020**).

Les protéines unicellulaires (SCP : *Single Cell proteins*) peuvent servir d'additifs alimentaires en protéines et offrir une alternative économique aux sources traditionnelles coûteuses telles que la farine de poisson et la farine de soja. Les déchets solides des coquillages, principalement composés de chitine, peuvent être dégradés

grâce à l'action des chitinases pour produire des SCP (**Dahiya et al., 2006 ; Garima et Amil, 2020 ; Sharma et al., 2023**).

En microbiologie du sol, il semble qu'une corrélation existe entre la proportion de la population fongique et l'activité chitinasique globale d'un sol. Ainsi, l'activité de la chitinase peut servir d'indicateur pour évaluer la croissance fongique dans le sol. Par ailleurs, l'activité de la chitinase peut également être utilisée comme indicateur d'infections fongiques (**Salzer et al., 2000 ; Garima et Amil, 2020 ; Devlin et Behnsen, 2023**).

Les chitinases offrent un vaste potentiel dans les domaines médicaux et pharmaceutiques, étant utilisées comme additifs pour améliorer l'efficacité des médicaments antifongiques. Elles peuvent être intégrées dans les lotions pour la peau et les crèmes antifongiques en tant qu'éléments complémentaires. Les chitinases humaines agissent comme indicateurs d'inflammation et de cancer. Comme la chitine est absente des cellules mammifères normales, le traitement à la chitinase n'entraîne aucun effet indésirable. En plus d'avoir un rôle de marqueurs pour surveiller diverses approches thérapeutiques, les chitinases sont également utilisées dans la cicatrisation des plaies et la régénération nerveuse (**Devlin et Behnsen, 2023**).

Les oligomères dérivés de la chitine tels que la N-acétylglucosamine, les chitoooligosaccharides, la glucosamine et le chitosane agissent comme stimulants de la défense des plantes et sont également utilisés dans les médicaments humains comme agents anti-inflammatoires et dans la préservation des denrées alimentaires (**Garima et Amil, 2020**).

2.4. Protéases

2.4.1. Définition

Les protéases, également appelées protéinases, sont classées parmi les hydrolases. Elles constituent des enzymes qui facilitent l'hydrolyse des protéines en rompant les liaisons peptidiques reliant deux acides aminés au sein d'un peptide. Ces enzymes sont produites à la fois à l'extérieur et à l'intérieur des cellules (**Guendouz et Belibel, 2014**).

2.4.2. Intérêt biotechnologique

Les protéases sont largement utilisées à l'échelle commerciale dans l'industrie des détergents. Divers produits de l'industrie des détergents contenant des protéases

comme composants ou ingrédients essentiels sont utilisés pour le nettoyage du linge domestique, des prothèses dentaires ou des lentilles de contact (**Razzaq et al., 2019**).

Les méthodes traditionnelles de trempage et d'épilage des cuirs, ainsi que de battage impliquent généralement l'utilisation de divers produits chimiques, entraînant un risque significatif de pollution des résidus de tannage. Par conséquent, les protéases naturelles sont de plus en plus employées comme alternatives dans le processus de trempage afin de faciliter l'absorption d'eau par le cuir (**Chander, 2019**).

En médecine, des protéases dérivées d'*Aspergillus* (Luizym et Nortase) sont utilisées comme suppléments digestifs afin de corriger certains syndromes de carence enzymatique lysosomale. De même, la collagénase clostridiale (*Clostridium*) est utilisée avec des antibiotiques à large spectre dans le traitement des brûlures et des plaies (**Rao et al., 1998**). D'un autre côté, Les protéases issues de sources microbiennes se sont avérées efficaces dans le traitement de diverses affections (tumeurs, inflammations, cancer). Notamment, *Aspergillus oryzae* produit une nouvelle protéase aidant au traitement de certains syndromes de déficience enzymatique. Les protéases jouent également un rôle dans plusieurs processus biochimiques et physiologiques, incluant la signalisation cellulaire, l'apoptose, la migration cellulaire, l'adhésion cellulaire et les métastases (**Banerjee et Ray, 2017**).

Les protéases trouvent une variété d'utilisations dans le secteur alimentaire. Elles sont employées de manière efficace pour altérer les caractéristiques des protéines alimentaires, ce qui permet d'améliorer la valeur nutritionnelle, la solubilité, la digestibilité, le goût et l'appétence de certains produits alimentaire et de réduire leurs contenus en composés allergènes (**Singh et al., 2016**).

Les plumes de volaille, riches en kératine (environ 5 % du poids total de l'oiseau), représentent une source de protéines adaptées à la consommation humaine et animale (**Chander, 2019**). Par le biais du processus kératinolytique, les déchets issus de la volaille peuvent être transformés en aliments pour les animaux et en produits alimentaires à travers des formules protéolytiques issues de *B. subtilis*, de *B. amyloliquefaciens* et de *Streptomyces* Sp. (**Razzaq et al., 2019**).

2.5. Lipase

2.5.1. Définition

Ce sont des enzymes capables de décomposer les longues chaînes de triglycérides, engendrant la création de diglycérides, de monoglycérides, de glycérols et d'acides gras libres (**Kermiche, 2013**).

2.5.2. Intérêt biotechnologique

L'utilisation des lipases microbiennes dans les détergents trouve un exemple concret. Elles sont incorporées comme additifs dans les produits de lessive et d'entretien ménager. Une lipase spécifique se distingue par son activité élevée dans des conditions alcalines et à température élevée, ce qui simplifie la décomposition d'une variété de triglycérides présents dans les taches de graisse (**Dos Santos et al., 2017**).

Dans l'industrie agroalimentaire contemporaine, les lipases microbiennes ont conquis de vastes champs d'application en remplacement certaines produits chimiques classiques. Elles sont fréquemment employées pour élaborer divers produits tels que les jus de fruits, les produits de boulangerie, les légumes fermentés, le fromage, le beurre, les vinaigrettes ainsi que les soupes et les sauces (**Berekaa et al., 2009**).

Du fait de leurs caractéristiques régiosélectives, les lipases, en tant que catalyseurs biologiques, trouvent une large utilisation dans l'industrie pharmaceutique. Ces enzymes lipolytiques catalysent diverses réactions pour la synthèse de médicaments. En particulier, elles sont essentielles pour la production de composés destinés à combattre le VIH ainsi que pour la création d'agents antitumoraux, d'antibiotiques et de vitamines. (**Dueramae et al., 2017**).

2.6. Estérase

2.6.1. Définition

Les estérases font partie de la catégorie des hydrolases et jouent un rôle crucial dans la catalyse, de la rupture et de la création de liaisons ester (**Kulkarni et al., 2013**). Elles sont impliquées dans diverses réactions telles que l'interestérisation et la transestérisation (**Kohli et Gupta, 2016**).

2.6.1. Intérêt biotechnologique

Les estérases occupent une position clé dans la décomposition de matières naturelles et de contaminants industriels, notamment les résidus de céréales, les plastiques et d'autres substances chimiques nocives. Elles sont essentielles dans la synthèse de composés optiquement purs, de parfums et d'antioxydants (**Benmamar et al., 2016**). Ces enzymes peuvent également être exploitées dans des réactions où la régiosélectivité est essentielle. Un exemple frappant est l'utilisation des estérases carboxylates pour libérer de l'acide férulique à partir de polysaccharides de la paroi cellulaire des plantes (**Bornscheuer, 2002**).

2.7. Phosphatase

2.7.1. Définition

Les phosphatases sont des enzymes catalysant la libération de groupements phosphate à partir des composés organiques phosphatés. Elles peuvent être produites par un grand nombre de bactéries telluriques, surtout celles associées aux racines des plantes (**Rodríguez et Fraga, 1999**). Ces bactéries ont un effet bénéfique sur la croissance des plantes à travers la minéralisation du phosphate organique. Elles sont aussi utilisées comme des biofertilisants et agents de contrôle pour l'amélioration des cultures (**Glick, 1995 ; Lemanceau, 1992**). Parmi ces bactéries, *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Rhizobium* se trouvent en première ligne (**Rodríguez et Fraga, 1999**).

2.7.2. Intérêt biotechnologique

Les phosphatases sont des enzymes essentielles en biotechnologie moléculaire. Elles facilitent la modification, la manipulation et l'analyse des biomolécules, notamment l'ADN, l'ARN et les protéines. Leur utilisation précise et contrôlée est cruciale pour de nombreuses techniques de laboratoire et de recherche dans le domaine de la biotechnologie (**Millán, 2006**).

D'après **Khan et al., (2009)** de nombreux bactéries solubilisatrices du phosphate (BSP) telles que *Emericella*, *Serratia*, *Chaetomium*, *Pseudomonas*, *Proteus mirabilis*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Citrobacter* ont développé des enzymes libératrices du phosphate inorganique (Pi) à partir des complexes organophosphorés. Ces enzymes sont appelées phosphatases. En fonction de leurs pH optimaux d'activité, elles sont classées en phosphatases alcalines (pH > 7) ou acides (pH < 6). Ces enzymes catalysent

l'hydrolyse du phosphate à partir de nombreuses macromolécules (alcools primaires, secondaires et cycliques, phénols et amines).

3. Les bactéries solubilisatrices du phosphate en agriculture

3.1. Problème des engrais phosphatés en agriculture

Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes. En cas de carence, le P devient un élément nutritif limitant de la croissance végétale. Même dans les sols riches en phosphate, la plus grande quantité de cet élément n'est pas forcément sous forme assimilable par les végétaux (Ezawa *et al.*, 2002). En agriculture, le manque du phosphate est généralement compensé par l'ajout d'engrais chimiques phosphatés au sol. Cependant, il est rapidement immobilisé et devient donc inutile pour les plantes (Mara *et al.*, 2014). De plus, le coût élevé des engrais, l'accumulation des contaminants phosphatés dans le produit agricole, les sous-produits de l'agroalimentaire et l'atmosphère, mais aussi l'accumulation de métaux lourds en trace (présents dans l'engrais) dans le sol ont obligé à rechercher de meilleurs outils pour réduire l'utilisation de tels engrais chimiques (Song *et al.*, 2008 ; Sharma *et al.*, 2013).

3.2. Les BSP comme alternative

En agriculture, un biofertilisant ou fertilisant organique est un biostimulant de la croissance et du rendement d'une plante, lorsqu'il appliqué en petite quantité, durant tout le cycle de la culture (Mohanty *et al.*, 2013). Les biofertilisants sont définis comme des préparations contenant des cellules vivantes de souches de microorganismes efficaces qui aident à l'absorption des éléments minéraux par les plantes cultivées. Dans ce contexte, certaines bactéries solubilisatrices du phosphate sont de plus en plus utilisées afin de réduire l'utilisation des phosphates chimiques en agriculture (Vessey, 2003 ; Riaz *et al.*, 2021).

Les bactéries solubilisatrices du phosphate (BSP) sont des bactéries bénéfiques capables d'assimiler le phosphate inorganique à partir de composés insolubles. La capacité de P-solubilisation des microorganismes de la rhizosphère est considérée comme l'un des traits les plus importants associés à la nutrition des phosphates végétaux. Il est généralement admis que le mécanisme de solubilisation du phosphate minéral par les souches de BSP est associé à la libération d'acides organiques aux poids moléculaires légers, à travers lesquels leurs groupes hydroxyle et carboxyle chélatent

les cations liés au phosphate, le convertissant ainsi en formes solubles (**Malboobi et al., 2009**).

L'exploitation des bactéries solubilisatrices du phosphate (BSP) se présente comme l'une des solutions les plus écologiques pour réduire, voire éliminer, l'usage excessif de produits chimiques phosphatés en agriculture (**Vijayalakshmi et al., 2016**). Les bactéries solubilisatrices du phosphate, telles que *Bacillus* et *Pseudomonas* ont été identifiées comme d'excellents choix écologiques pour améliorer la nutrition phosphatée des plantes (**Chibani, 2017**). Les avantages agronomiques des bactéries solubilisatrices du phosphore sont nombreux : (1) augmentation de la disponibilité du phosphore inorganique ; (2) stimulation des premières étapes de croissance ; (3) accroissement du développement racinaire ; (4) renforcement des tissus végétaux ; (5) amélioration de la formation des grains ; (6) amélioration des rendements (**Assemien, 2018**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire numéro 07 de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la Terre de l'université de Bouira. Il s'étale sur une période de 4 mois (mars-juin 2023) et a pour objectif d'évaluer l'impact des propriétés physicochimiques des sols sur la capacité des bactéries autochtones à produire des enzymes lytiques. Le travail porte également comme objectif secondaire : l'évaluation de la capacité des bactéries solubilisatrices du phosphate, isolées dans le cadre de la première partie, à promouvoir la croissance du poivron dans un sol calcaire en présence et en absence du phosphate tricalcique.

1. Matériel

Les appareillages, verreries, petits équipements, et consommables utilisés dans le cadre de ce travail sont étalés sur les tableaux 1 et 2 de l'**annexe 1**.

2. Méthodes

2.1. Échantillonnage du sol :

Les échantillons du sol ont été prélevés de façon aseptique à partir de six sites agricoles (Figure 2, Tableau 2). Environ 500 g de sol de chaque site ont été prélevés en utilisant des spatules métalliques préalablement désinfectés (Éthanol 70%). Le prélèvement a été réalisé à une profondeur approximative allant de 10 à 30 cm, tout en évitant la partie superficielle en contact direct avec l'air. Les échantillons ont été immédiatement transportés au laboratoire dans des sacs en plastique stérile (à usage unique) pour une éventuelle caractérisation physicochimique.



Figure 2. Échantillonnage et transport des échantillons (originale).

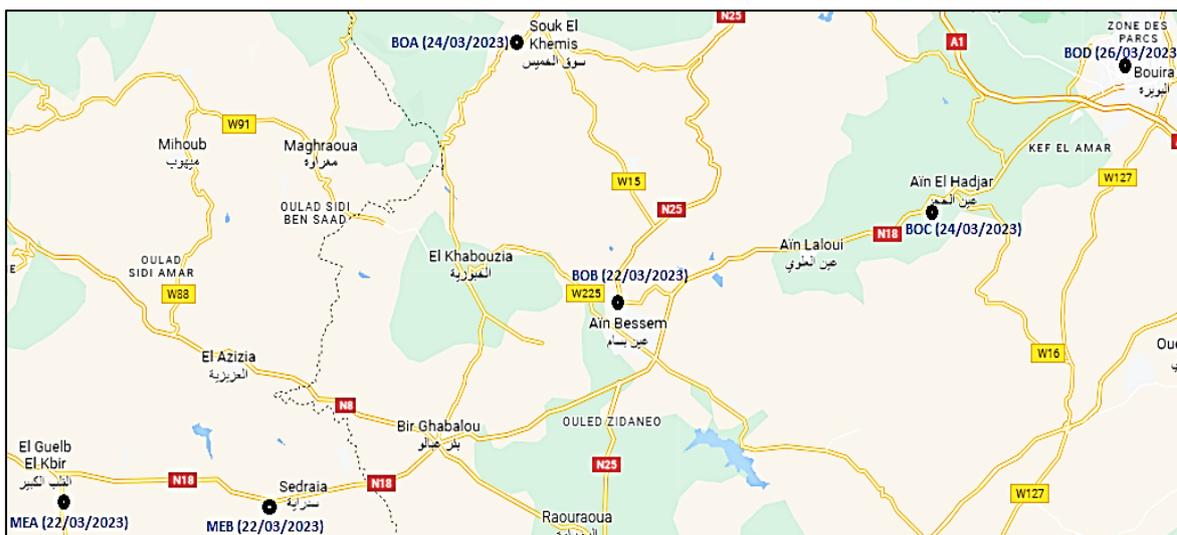


Figure 3. Localisation géographique et dates des échantillons de sol.

2.2. Caractérisation physicochimique des échantillons

2.2.1. PH

L'acidité d'un sol est déterminée par sa teneur en ions H^+ . Les valeurs **pH-eau** (acidité effective) et **pH-KCl** (acidité titrable ou de réserve) des échantillons de sol ont été déterminés selon le protocole suivant : 25 ml d'eau distillée (pour le pH-eau) ou d'une solution KCl 1N (pour le pH-KCl) sont ajoutés à 10 g de l'échantillon de sol préalablement tamisé (< 2 mm) et séché à 40°C dans un Bécher. L'ensemble est agité pendant une minute à l'aide d'une baguette en verre puis laissé décanter pendant une heure. L'électrode d'un pH-mètre (Hanna Instruments HI 2210) est plongée dans la solution pour la lecture des valeurs de pH (figure 3) (Rouiller *et al.* 1994).

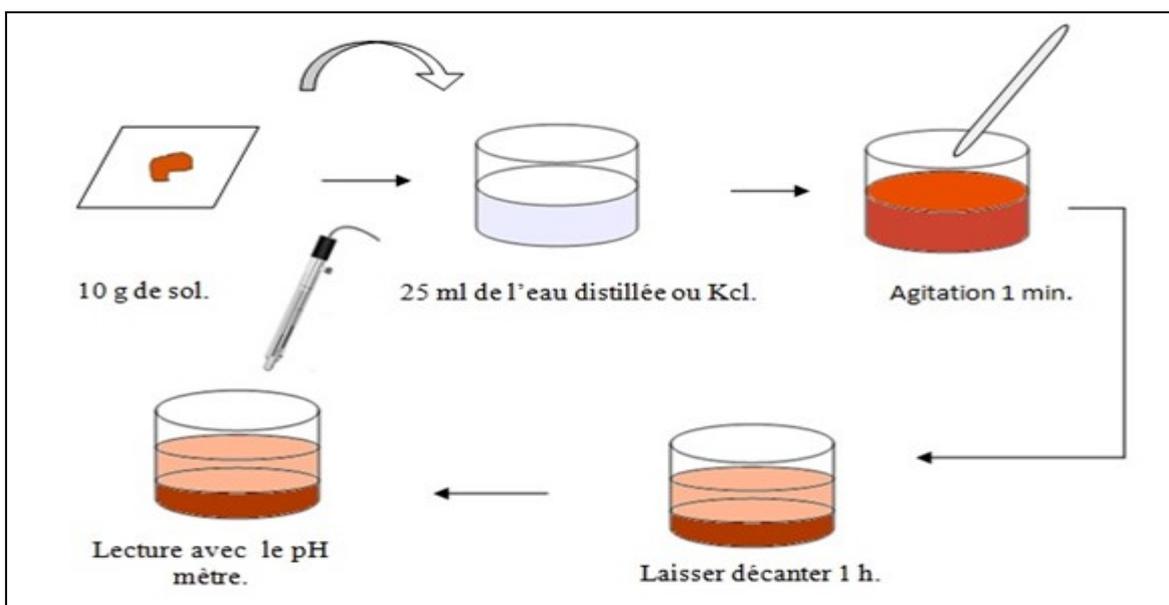


Figure 4. Mesurer du pH (Rai, 2017).

2.2.2. Contenu humide gravimétrique

Dans les analyses microbiologiques des sols, l'humidité d'un sol est souvent reportée comme le contenu humide gravimétrique « *gravimetric moisture content* : θ_g » qui, comme son nom l'indique, cette mesure correspond au rapport entre la masse d'un échantillon de sol lorsqu'il est humide et la masse du même échantillon à l'état sec. Pour obtenir cette mesure, un échantillon de masse initialement connue est soumis à un processus de séchage dans une étuve, à une température comprise entre 165 et 175°C. Pendant ce processus, l'échantillon est pesé à plusieurs reprises jusqu'à ce que son poids atteigne un état stable (figure 4) (Pepper et Gerba, 2004).

La valeur du contenu humide gravimétrique est donnée par la formule suivante :

$$\theta_g = (m - d) / d \text{ Où :}$$

- θ_g : contenu humide gravimétrique,
- m : la masse initiale d'un sol (à l'état humide),
- d : la masse de ce même sol après séchage (à l'état sec).

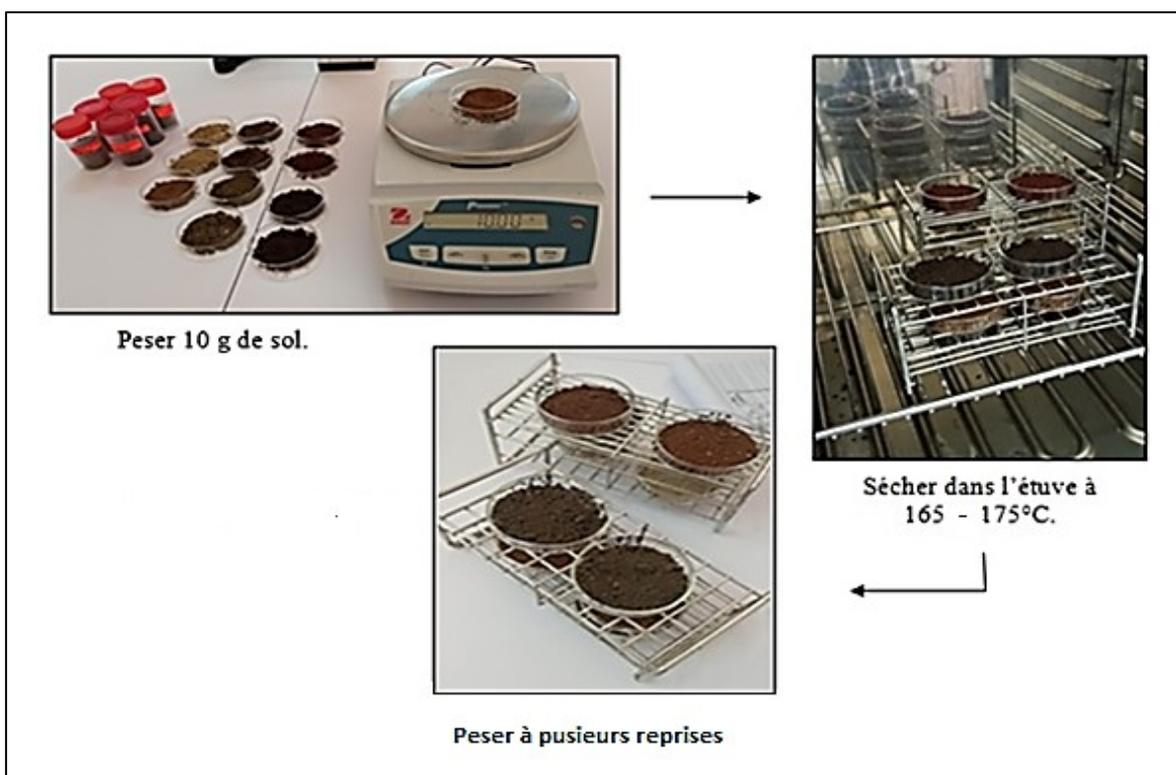


Figure 5. Détermination du contenu humide gravimétrique (originale).

2.2.3. Matière organique totale :

Un (01) g de l'échantillon est pesé dans un bécher 250 mL. 10 mL d'eau distillée et 10 mL de 30% d' H_2O_2 sont ajoutés à l'échantillon avant de couvrir le bécher avec du papier

aluminium. L'ensemble est placé sur un bain de vapeur et suivi jusqu'à ce que la réaction s'arrête (plus de bulles qui se forment). La digestion se termine habituellement dans une heure. Le contenu du bécher est mélangé occasionnellement durant la réaction afin d'amener les particules les plus de la matière organique en contact avec la solution. A la fin, l'échantillon est séché à 105°C puis pesée à plusieurs reprises jusqu'à ce que son poids se stabilise (figure 5) (Huang *et al.*, 2009). La proportion de la matière organique présente dans l'échantillon est déterminée par la formule suivante :

$$\text{MOT (\%)} = P_{\text{sec}} / P_{\text{original}} \text{ O\`u :}$$

- **MOT** : Matière Organique Totale.
- **P_{sec}**: la masse de l'échantillon avant traitement.
- **P_{original}** : la masse de l'échantillon après traitement et séchage.

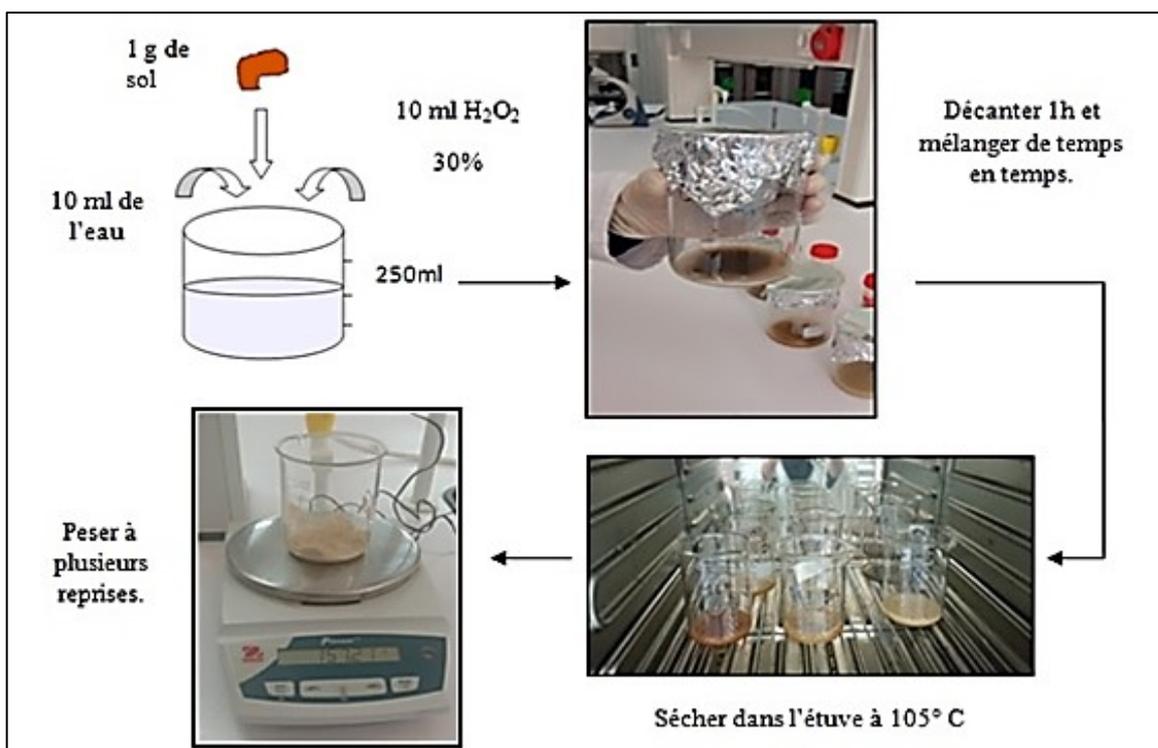


Figure 6. Schéma des procédures de mesure la matière organique (originale).

2.2.4. Mesure multiparamètres

Vingt (20) g de chaque échantillon est pesé dans un bécher 250 mL. 100 mL d'eau distillée sont ajoutés à l'échantillon. L'ensemble est agité pendant un heure à l'aide d'un agitateur puis laissé décanter pendant 15 min. Les électrodes de l'appareil (Multi paramètres HANNA HI 9829) sont plongées dans la solution pour la lecture des valeurs du Potentiel

d'oxydoréduction (POR), de la Résistivité, de l'Oxygène dissous (DO) et de Conductivité électrique (CE) des six échantillons étudiés (figure 6).



Figure 7. Multi paramètres HANNA HI 9829 (originale).

2.3. Isolement et purification des bactéries de sol

2.3.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu Luria Bertani (LB) ; Composition en g/L d'eau distillée : [Extrait de levure (10) ; Tryptone (5) ; NaCl (5) ; Agar (15) ; pH 7] a été utilisé pour l'isolement des bactéries à partir des échantillons (figure 7).



Figure 8. Milieu LB en préparation (originale).

2.3.2. Préparation des dilutions et ensemencement

Dix (10) g de chaque échantillon de sol sont ajoutés à 90 ml d'eau distillée stérile et mélangés pour constituer la première dilution 10^{-1} , à partir de laquelle, des dilutions

décimales jusqu'à 10^{-6} ont été préparées. Des boîtes de Pétri contenant le milieu LB sont ensemencées par inondation avec 1 ml de chaque dilution puis incubées à 30°C / 24 à 48 h.

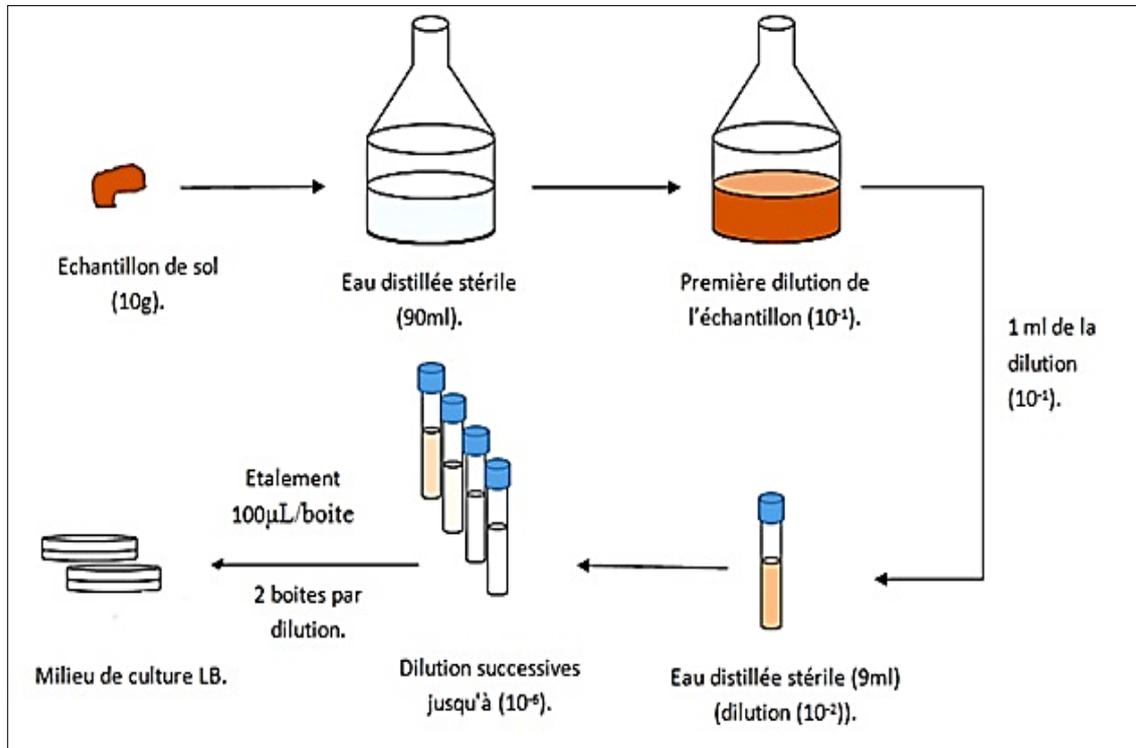


Figure 9. Procédure d'isolement (Rai, 2017).



Figure 10. Préparation des dilutions et ensemencement (originale).

2.3.3. Purification :

Après incubation et à partir de chaque échantillon de sol, dix colonies présentant des aspects différents sont purifiées sur le même milieu de culture en utilisant la méthode des stries croisées.

Les 60 souches purifiées au cours de la première étape de ce travail (10 souches à partir de chaque échantillon du sol) ont été testées pour déterminer leur capacité, ou non, à produire

les enzymes lytiques suivantes : cellulase, chitinase, protéase, lipase, estérase, amylase et phosphatase

2.4. Études des activités enzymatiques

Certaines enzymes produites par les bactéries du sol (cellulase, la chitinase, protéase etc.) jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique dans le sol en participant à sa fertilité et à la disponibilité des éléments minéraux nécessaires pour la nutrition des plantes. Ces enzymes sont également utilisées en biotechnologies moderne dans presque tous les domaines. L'expression d'éventuelles enzymes par les 60 isolats purifiés a été réalisée. Tous les tests des activités enzymatiques ont été réalisés en duplicata.

2.4.1. Cellulase

Pour révéler l'expression d'enzymes à activité cellulasique, des disques d'agar de 5 mm de diamètre contenant des cultures bactériennes jeunes sont déposés à l'intérieur de boîtes de Pétri contenant le milieu de Carder (1986) ; composition en g/L : Na_2HPO_4 (6) ; KH_2PO_4 (3) ; NaCl (0,5) ; NH_4Cl (1) ; Extrait de levure (3) ; CMC (carboxyméthylcellulose) (7) ; Agar (15) ; 7.2 ± 0.02 pH. Les boîtes sont par la suite incubées pendant environ une semaine à 30°C (figure 10) (Carrim *et al.*, 2006)

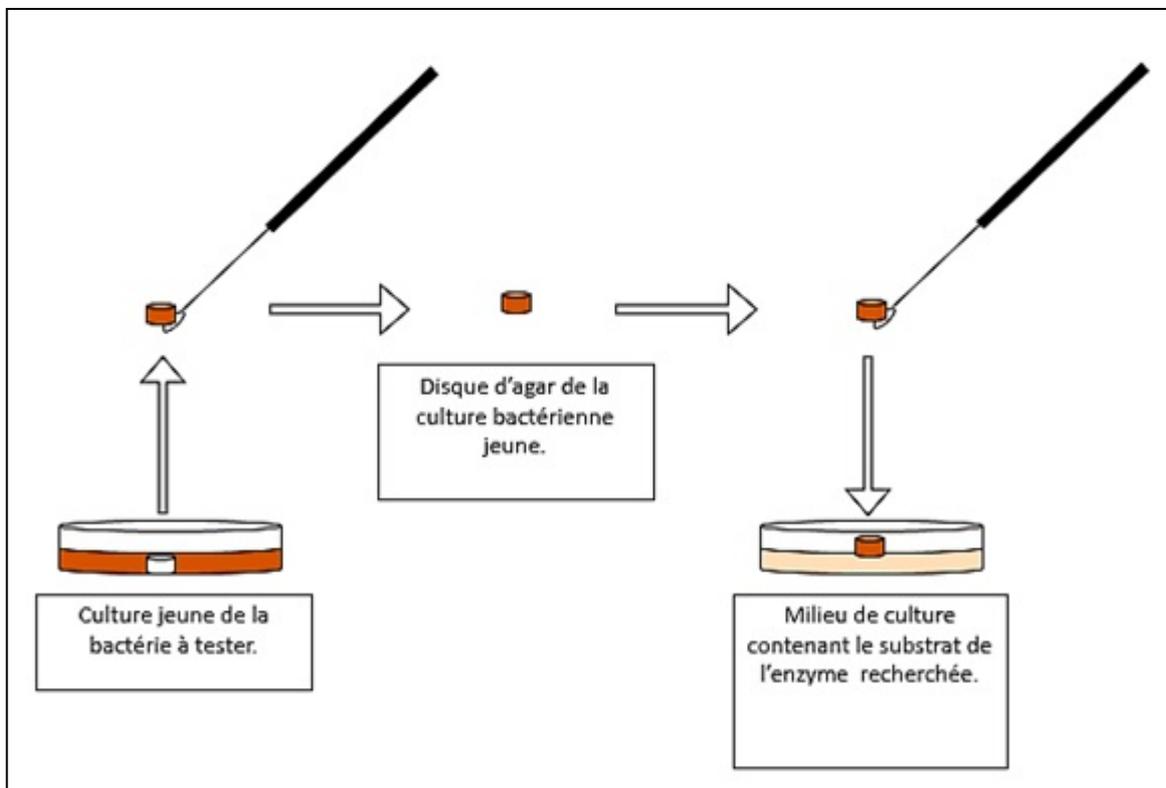


Figure 11. Schéma récapitulatif de la méthode des disques d'agar (Rai, 2017).

Après incubation, une solution de rouge Congo (1%) est ajoutée à la surface des colonies (figure 11). 20 minutes après, la surface de la boîte est inondée avec une solution de NaCl 1M puis laissée au repos pendant une nuit. L'apparition d'un halo clair autour des cylindres indique la dégradation de la CMC et implique la présence d'une cellulase extracellulaire.

2.4.2. Chitinase

Pour la révélation de l'activité chitinasique des isolats, on utilise le milieu de culture décrit par **Kopečný *et al.* (1996)** et contenant en g/L d'eau distillée : La chitine colloïdale (0.8 à 0.6) ; K_2HPO_4 (2.7) ; KH_2PO_4 (0.3) ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.7) ; Na Cl (0.5) ; KCl (0.5) ; Extrait de levure (0.13) ; Agar (15) ; 7.2 ± 0.02 pH.

Le milieu est ensemencé par la méthode des cylindres d'agar, les boîtes sont incubées une semaine à 30°C. La présence de la chitinase extracellulaire dans le milieu se manifeste par l'apparition d'un halo claire autour des disques.

- Préparation de la chitine colloïdale :

Un (1) gramme de chitine est suspendue dans 9 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl). Cette solution doit être agitée pendant 2 heures jusqu'à ce que la chitine se dissolve complètement, ce qui est indiqué par sa transformation en pâte brune. Ensuite, la solution est transférée dans une fiole de 250 mL en complétant le volume avec de l'eau distillée. Après avoir laissé reposer la solution pendant une nuit, séparez le matériau solide du liquide en écartant le surnageant. Le résidu solide est ensuite suspendu dans de l'eau distillée (figure 11). Le lavage est répété trois fois à l'eau du robinet, suivie de trois fois à l'eau distillée. Enfin, le surnageant est éliminé et la chitine est décantée à travers un tamis métallique 0,5 mm. L'effluent résultant est conservé dans une bouteille opaque à une température de 4°C pour être utilisé dans le milieu de culture.



Figure 12. Décantation de la chitine colloïdale (originale).

2.4.3. Amylase

La mise en évidence de la capacité des souches étudiées à dégrader l'amidon est réalisée sur un milieu de culture à base d'amidon, préparé selon la méthode décrite par **Vinoth *et al.* (2009)** ; composition en g/L : KNO₃ (0.5) ; K₂HPO₄ (1.0) ; MgSO₄ (0.2) ; CaCl₂ (0.1) ; FeCl₃ (0.001) ; amidon soluble (10.0) ; agar (15.0) ; 7.2 ± 0.02 pH. Le test est réalisé selon la méthode des disques d'agar contenant des cultures jeunes des isolats à tester et déposés à la surface du milieu préalablement coulé dans des boîtes de Pétri.

Les boîtes sont incubées durant une période allant de 48-72 h à 30°C. A la fin de la période d'incubation, une solution de Lugol est utilisée pour inonder le milieu de culture à (figure 11). Après quelques minutes, les boîtes sont lavées à l'eau distillée. La solution de Lugol révèle la dégradation de l'amidon dans le milieu par l'apparition de zones claires autour des disques d'agar, ce qui est traduit par la présence d'amylase extracellulaires d'origine bactérienne dans le milieu. Les zones dont l'amidon n'est pas dégradé apparaissent en bleu noirâtre.

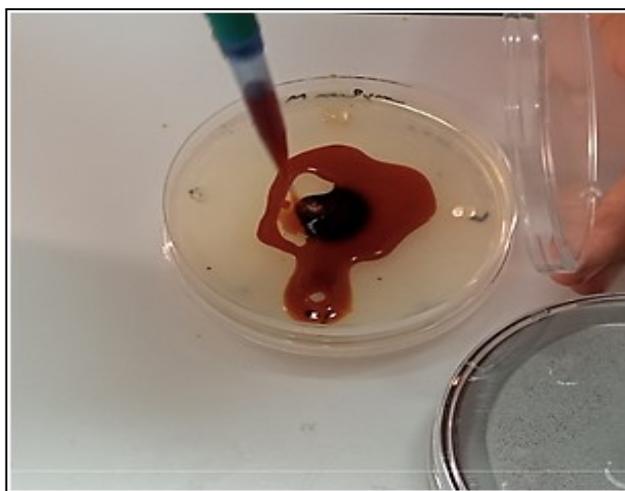


Figure 13. Inondation des boîtes avec de la Lugol (originale).

2.4.4. Protéase

La révélation de l'activité protéasique des isolats est réalisée selon la méthode proposée par **Kavitha *et al.* (2013)**, en utilisant le milieu ayant la composition suivante dans 1L d'eau distillée : caséine pancréatique (5) ; Extrait de levures (2,5) ; Glucose (1), et Agar (15).

Le milieu est ajusté à pH 7 et autoclavé 20 minutes à 120°C. Parallèlement, 100 ml d'une solution de lait écrémé à 10% autoclavée (120°C/10 min) est préparée et ajoutée au

milieu. Ce dernier est ensuite ensemencé par la méthode des disques. Les bactéries ayant une activité protéasique montrent un halo transparent autour des disques.

2.4.5. Estérase

Le milieu de culture utilisé est celui utilisé par **Sierra (1957) (Carrim *et al.*, 2006)**. Il contient en g/L : peptone (10) ; NaCl (5.0) ; CaCl₂ 2H₂O (0.1) ; Tween 80 (1%, v/v) et Agar (18). Le pH est ajusté à 7,4. Le milieu est ensemencé et incubé à 30°C/48h. La présence d'une activité estérasique est traduite par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Sierra, 1957).

2.4.6. Lipase

La recherche de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité estérasique. Toutefois, le tween 80 est remplacé par le tween 20. Un résultat positif est déterminé par la présence d'un halo clair autour des colonies (**Sierra, 1957 ; Carrim *et al.* 2006**).

2.4.7. Phosphatase

La solubilisation du phosphate est effectuée sur milieu Pikovskaya (PVK) contenant en g/L : extrait de levure (0,5) ; glucose (10) ; MgSO₄ 7H₂O (0.1) ; Agar (1,5) ; (NH₄)₂SO₄ (0,5) ; Ca₃(PO₄)₂ (5) ; NaCl (0,2) ; KCl (0,2) ; MnSO₄ 2H₂O (0,002) et FeSO₄ 7H₂O (0,002). Après autoclavage (120°C/20min), 20 ml d'une solution stérile du phosphate tricalcique (10%) sont rajoutés. L'activité phosphatasique est traduite par l'apparition d'un halo transparent autour des colonies (**Sonam *et al.*, 2011**).

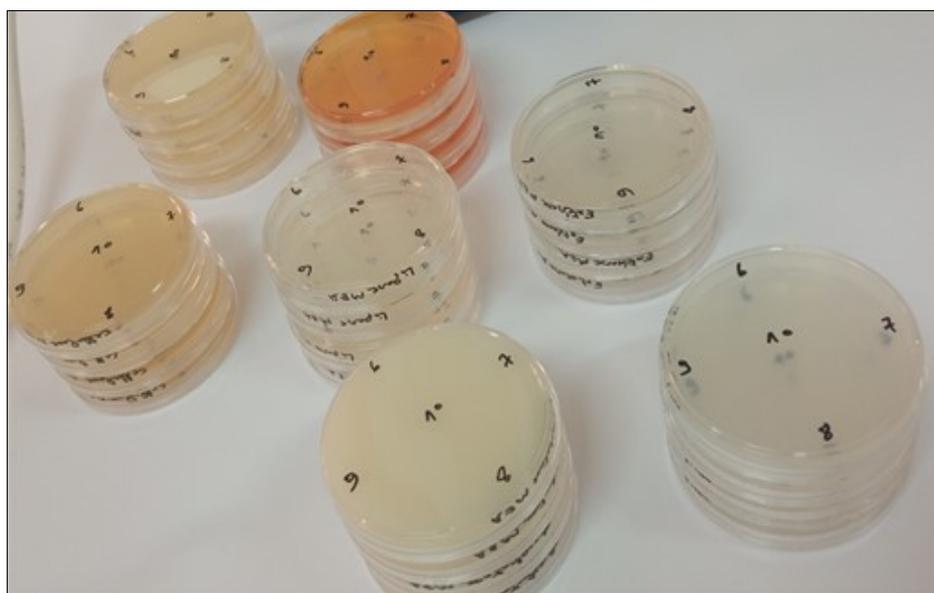


Figure 14. Milieux de culture des activités enzymatiques testées (originale).

Sur la base des résultats de l'activité phosphatasique, les isolats ayant démontré une dégradation du phosphate tricalcique ont été caractérisés (coloration de Gram, catalase oxydase) et utilisés pour une étude *in vivo* de leur capacité à promouvoir la croissance du poivron en présence et en absence du phosphate insoluble comme engrais chimique.

2.5. Caractérisation morfo physicochimique des isolats sélectionnées

2.5.1. Aspect des colonies :

Après repiquage des souches, les colonies sont soumises à l'observation macroscopique (forme, couleur, relief, diamètre etc....). L'observation est réalisée après culture sur le milieu LB,

2.5.2. Coloration de Gram

La coloration a été réalisée selon le protocole cité dans (Prescott, 2002).

2.5.3. Recherche de la catalase

Une colonie bactérienne est déposée sur une lame en verre propre en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 10 volumes. Une réaction positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (figure 14) (Levy *et al.*, 1992).

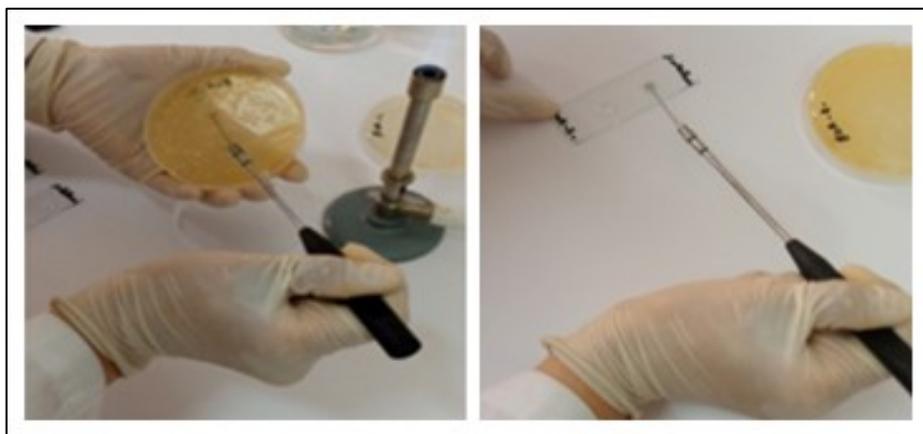


Figure 15. Recherche de la catalase (originale).

2.5.4. Recherche de l'oxydase

L'oxydase est recherchée sur des bandelettes commercialisés. Une colonie pure est déposée sur la bandelette, la réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violacée au bout de 10 secondes ; la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes (figure 15).

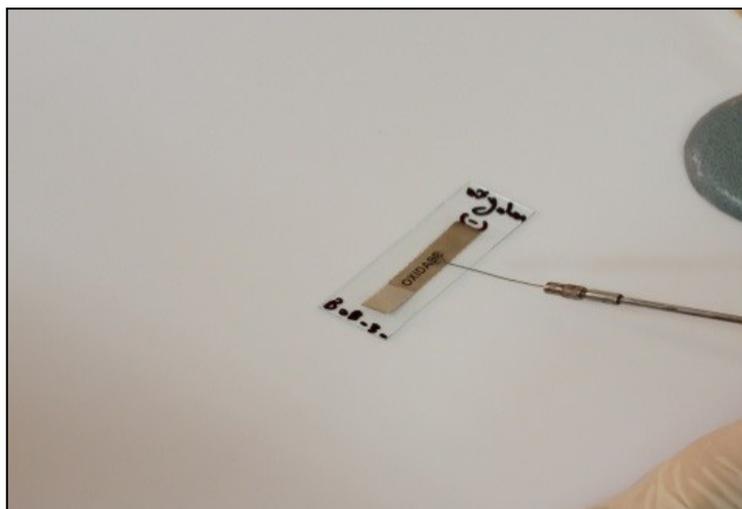


Figure 16. Recherche de l'oxydase (originale).

2.6. Effet des BSP isolées sur la croissance du poivron

Afin de déterminer l'effet des souches solubilisatrices du phosphate (BOA2 et BOB3) sur la germination et la croissance des graines de poivron en présence et en absence de phosphate tricalcique le protocole expérimental suivant a été utilisé :

L'espèce de *Capsicum annuum* L. provenant du magasin de la faculté des sciences et de la Terre de l'université de Bouira a été utilisé comme plante de choix (tableau 3).

Tableau 2. Taxonomie de la plante de choix (*Capsicum annuum* L) (De, 2003).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Genre	<i>Capsicum</i>
Espèce	<i>annuum</i>

2.6.1. Préparation des inocula bactériens

Les bactéries ayant montré une capacité à solubiliser le phosphate, précisément les deux isolats (BOB3) et (BOA2), sont repiquées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu LB. Après incubation (30 °C pendant une période de 48 h), des colonies pures de chacune des souches sont repiquées dans des tubes coniques contenant 10 mL du milieu LB liquide. En tout, 14 tubes coniques sont utilisés à raison de 7 tubes par souche. Ces tubes sont ensuite incubés pendant 48 à 30 °C.

Les cultures liquides sont par la suite centrifugées (3000 rpm pendant 10 min) afin d'obtenir des culots bactériens au fond de chaque tube. Les surnageants sont éliminés et les culots obtenus sont lavés trois fois (centrifugation/resuspension) avec de l'eau physiologique stérile afin d'éliminer les traces du milieu LB.

2.6.2. Stérilisation des graines de poivron

Les graines ont été stérilisées selon la méthode de **Götz *et al.* (2006)** en trois étapes :

- Les graines sont trempées dans de l'éthanol (70% pendant 1 min) avec une douce agitation.
- Les graines sont remises dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 12% pendant 15 minutes.
- Pour se débarrasser du chlore, six lavages successifs à l'eau distillée stérile sont enfin appliqués (15 minutes au minimum)

2.6.3. Bactérisation des graines :

Après la stérilisation des graines, elles sont réparties en quatre groupes distincts :

- Le premier groupe a été immergé dans une suspension bactérienne contenant la souche (BOA2).
- Le deuxième groupe a été immergé dans une suspension bactérienne contenant la souche (BOB3).
- Le troisième groupe a été immergé dans une suspension bactérienne contenant à la fois les souches (BOB3) et (BOA2).
- Le quatrième groupe a été plongé dans de l'eau physiologique stérile en tant que groupe témoin (figures 16, 17).

La période de contact entre les bactéries et les graines a été fixée à 30 minutes (figure.

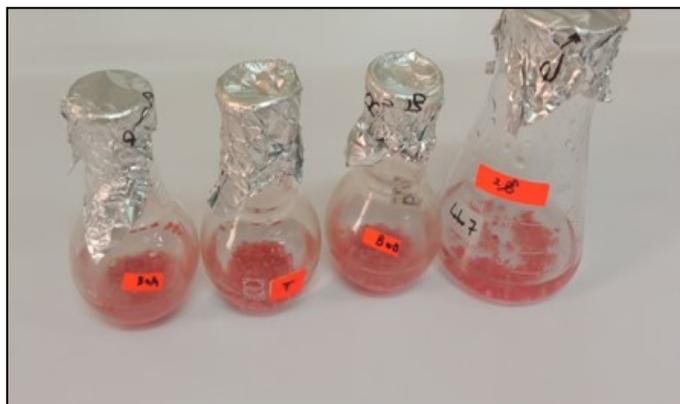


Figure 17. Bactérisation des graines (originale).

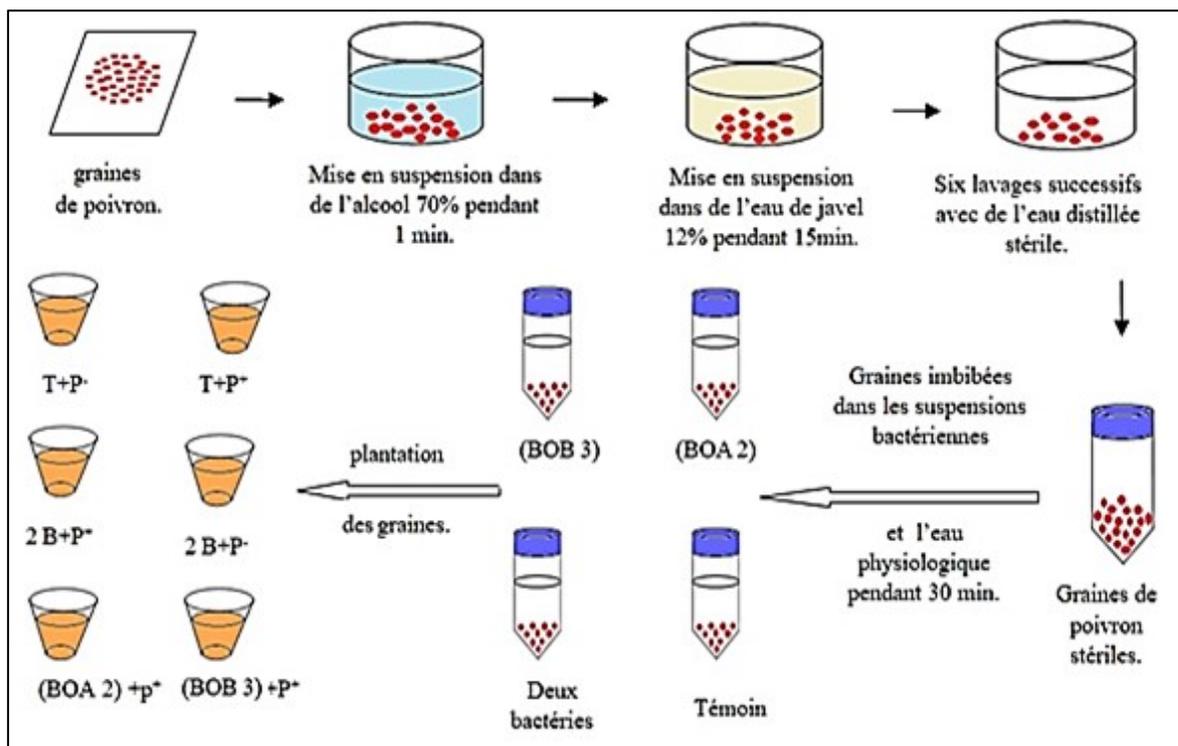


Figure 18. Test in vivo sur graines de poivron (originale).

2.6.4. Semis des graines

Comme support de plantation, un sol calcaire, connu pour avoir une faible teneur en phosphate, a été utilisé. Les graines sont semées dans des pots en plastique d'environ 6 cm de diamètre et 10 cm de profondeur. Plusieurs préparations ont été utilisées et tous les traitements ont été semés à raison de 4 graines par pots et 5 pots par traitement. Chaque pot contient 160 g de sol additionné ou non de 5 g de phosphate tricalcique selon le traitement. Voici l'ensemble des traitements réalisés :

- Graines témoins (sans bactérisation) semées dans du sol sans phosphate tricalcique.
- Graines inoculées (BOB3) semées dans du sol additionné de phosphate tricalcique.
- Graines inoculées (BOA2) semées dans du sol additionné de phosphate tricalcique.
- Graines inoculées avec les deux souches bactériennes (BOB3) et (BOA2) semées dans du sol additionné de phosphate tricalcique.

Les graines de poivron sont plantées à une profondeur d'environ 0.5 cm dans les pots. Chaque pot est irrigué quotidiennement avec de l'eau du robinet (figure 18).

Le nombre total des graines germées de chaque traitement a été déterminé après 24 jours du début de l'expérience. Le poids frais moyen et la productivité totale de chaque traitement ont été mesurés à la fin de l'expérience (45 jours après la plantation).

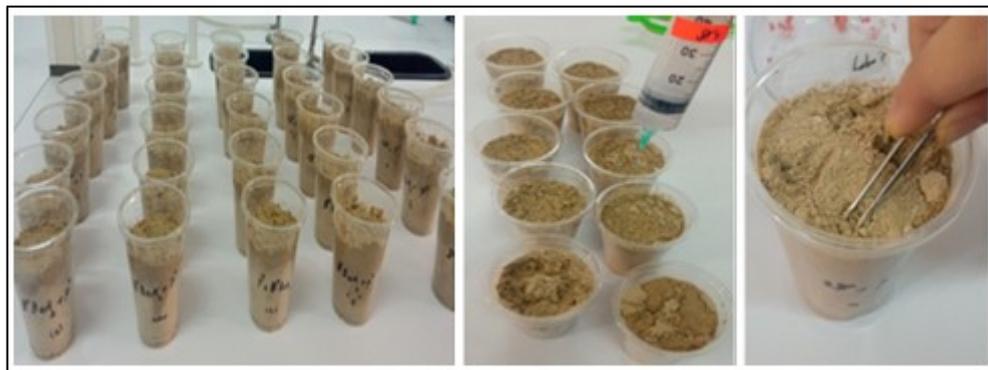


Figure 19. Plantation des graines (originale).

3. Analyse statistique

Les corrélations entre les propriétés physicochimiques des échantillons et les activités enzymatiques des 60 isolats sélectionnés ont été déterminées en mesurant leurs coefficients de corrélation respective à travers une matrice de corrélation globale réalisée par le logiciel *Microsoft Office Excel* (V. 2021).

Les résultats du test *in vivo* sur graines de poivron ont été analysés en utilisant le test statistique *One-way ANOVA (Fisher LSD test)* réalisé par le logiciel statistique *GraphPad Prism V. 9.3.1*.

Chapitre III

Résultats

1. Propriétés physicochimiques des échantillons du sol

Tous les échantillons se sont avérés neutres à légèrement alcalins. En matière de pH-Eau, l'échantillon MEA s'avère le plus alcalin (8.3). Les échantillons MEB et BOD ont donné les valeurs de pH les plus proches à la neutralité (7.31 et 7.61, respectivement). En matière de pH-KCl, L'échantillon BOD a donné les valeurs de pH les plus faibles (6.9).

Le contenu humide gravimétrique des différents échantillons varie de 0.032 (BOD) à 0.066 (BOB), tandis que leurs contenus en matière organique varient entre 0.94 (BOD) et 0.82 (BOB). L'échantillon MEB est caractérisé par le potentiel d'oxydoréduction et la conductivité électrique les plus élevés (213.6 mV et 1444 $\mu\text{S}/\text{cm}^3$, respectivement) et par les valeurs de résistivité et d'oxygène dissous les plus faibles (0.001 $\text{M}\Omega.\text{cm}$ et 2.155 ppm, respectivement). Les propriétés physicochimiques détaillées des échantillons du sol sont illustrées dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 3. pH (Eau et KCl), contenu humide gravimétrique (Θg) et matière organique totale (MOT) des six échantillons étudiés.

	PH - H ₂ O		PH - KCL		Θg		MOT (%)	
MEA	8,370	$\pm 0,665$	7,100	$\pm 0,085$	0,047	$\pm 0,005$	0,895	$\pm 0,021$
MEB	7,315	$\pm 0,361$	7,545	$\pm 0,106$	0,040	$\pm 0,004$	0,905	$\pm 0,007$
BOA	7,735	$\pm 0,742$	7,360	$\pm 0,014$	0,050	$\pm 0,001$	0,890	$\pm 0,000$
BOB	7,745	$\pm 0,205$	7,020	$\pm 0,000$	0,066	$\pm 0,001$	0,820	$\pm 0,014$
BOC	7,760	$\pm 0,311$	7,430	$\pm 0,014$	0,052	$\pm 0,006$	0,835	$\pm 0,021$
BOD	7,610	$\pm 0,000$	6,935	$\pm 0,007$	0,032	$\pm 0,001$	0,940	$\pm 0,000$

Tableau 4. Potentiel d'oxydoréduction (ORP), Résistivité, Oxygène dissous (DO) et Conductivité électrique (CE) des six échantillons étudiés.

	POR (mV)		Résistivité ($\text{M}\Omega.\text{cm}$)		OD (ppm)		CE ($\mu\text{S}/\text{cm}^3$)	
MEA	175,100	$\pm 0,707$	0,007	$\pm 0,000$	2,260	$\pm 0,028$	132,000	$\pm 0,000$
MEB	213,600	$\pm 0,141$	0,001	$\pm 0,000$	2,155	$\pm 0,007$	1444,500	$\pm 14,849$
BOA	175,350	$\pm 0,778$	0,007	$\pm 0,000$	2,315	$\pm 0,092$	131,000	$\pm 0,000$
BOB	188,850	$\pm 0,778$	0,008	$\pm 0,000$	2,260	$\pm 0,000$	115,500	$\pm 2,121$
BOC	191,900	$\pm 0,849$	0,007	$\pm 0,000$	2,210	$\pm 0,000$	144,000	$\pm 1,414$
BOD	191,950	$\pm 0,778$	0,009	$\pm 0,000$	2,285	$\pm 0,007$	105,500	$\pm 0,707$

2. Bactéries isolées

A partir du total des bactéries purifiées sur le milieu LB, 60 isolats bactériens ont été sélectionnés afin de poursuivre le chemin de l'étude. Les isolats ont été sélectionnés au hasard à partir des boîtes d'isolement issues de chaque échantillon de sol. Dix isolats

de chaque échantillon ont été choisis on se basant sur l'hétérogénéité de leurs aspects sur l'agar. Les souches sélectionnées de chaque échantillon ont été codifiées de 1 à 10 précédées du nom de l'échantillon du sol. A titre d'exemple, l'isolat BOA1 représente la première souche de l'échantillon BOA). La figure 19 montre quelques isolats sélectionnés de chaque échantillon.

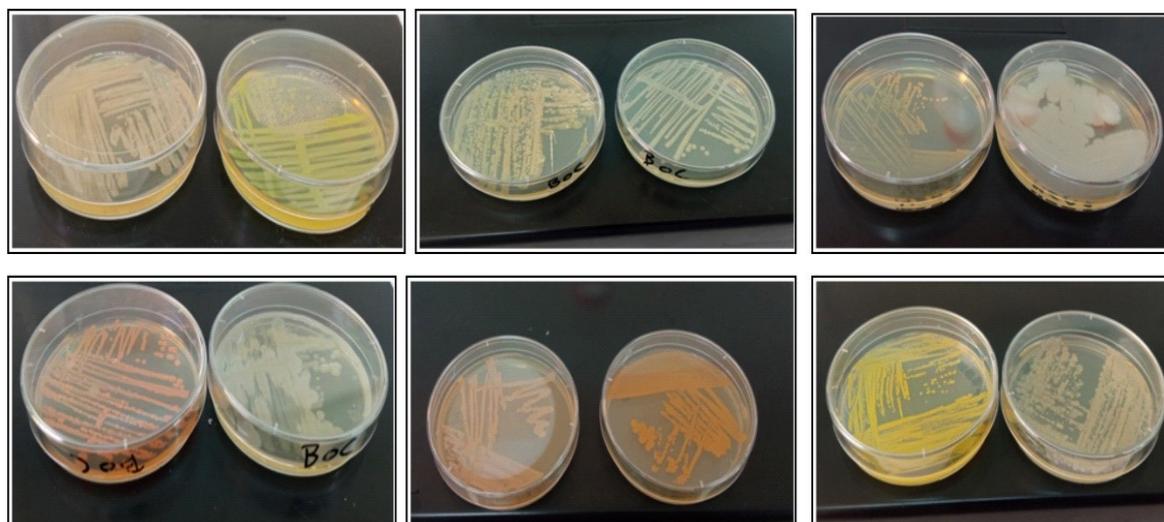


Figure 20. Quelques isolats sélectionnés pour l'étude de l'activité enzymatique (originale).

3. Activités enzymatique des isolats

3.1. Estérase

Seuls les isolats S1, S4, S5 et S7 ont exprimé une activité estérasique parmi ceux de l'échantillon MEA. La production la plus intense d'estérase a été constaté avec les isolats S3, S5 et S10 de l'échantillon BOC, avec des diamètres de dégradation de 1.1, 1.2 et 1 cm, respectivement. L'échantillon BOB présente l'activité estérasique la plus faible, avec une seule souche active (S2 : 1 cm). L'échantillon BOC semble avoir le nombre d'isolat (estérase +) le plus élevé avec 7 isolats actifs. Les résultats de l'activité estérasique des différentes souches sélectionnées de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 20.

3.2. Lipase

Les échantillons BOD et MEB semblent avoir le nombre d'isolats (lipase +) le plus élevé avec 9 isolats actifs de chacun des deux. Les activités lipasique les plus intense ont été constatées avec les isolats S1 et S7 DE L'échantillon MEA et S6 de l'échantillon MEB, avec des diamètres de dégradation de 1.1, 1.1 et 1.2 cm, respectivement. L'échantillon BOB présente le nombre d'isolats Lipase + le plus faible,

avec seulement 3 isolats actifs (S6, S7 et S8). Les résultats de l'activité lipasique des de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 22.

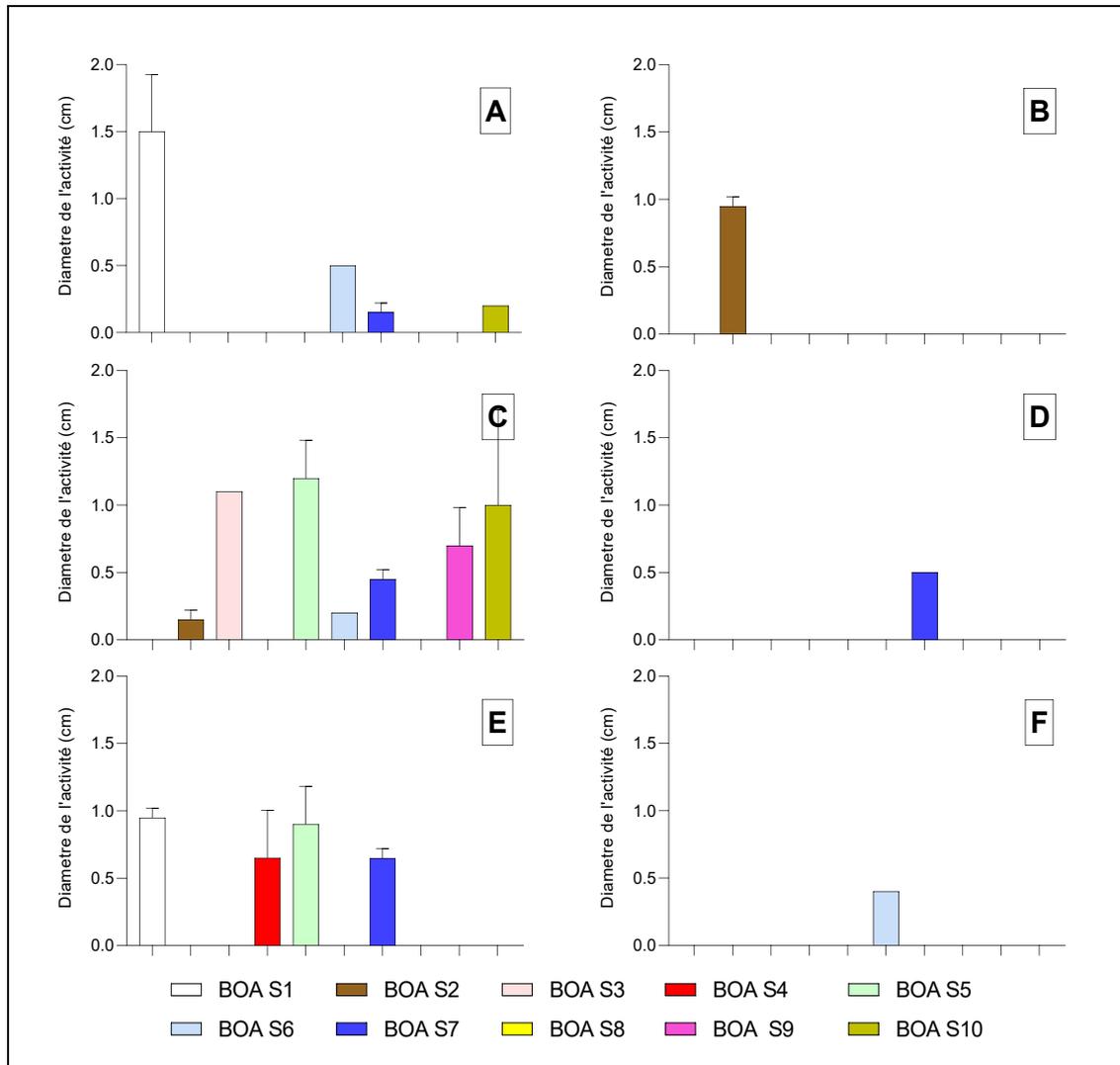


Figure 21. Activité estérasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F).



Figure 22. Activité estérasique de l'isolat BOC2 (originale).

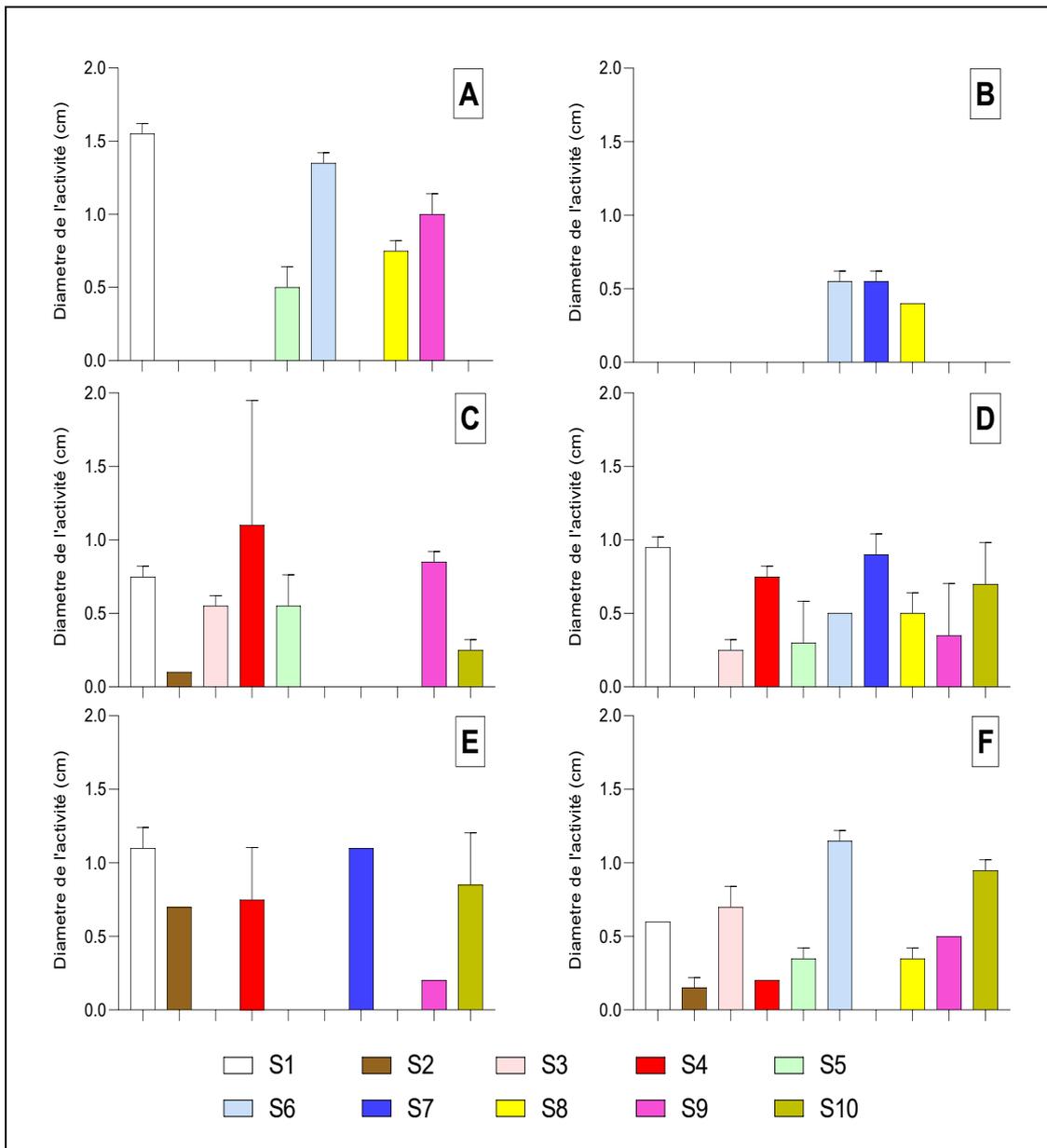


Figure 23. Activité lipasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F).



Figure 24. Activité lipasique de l'isolat BOD6 (originale).

3.3. Amylase

L'échantillon MEA ne présente aucune activité amylasique. Par contre, l'échantillon BOD présente le nombre de bactérie (amylase +) le plus élevé, avec des diamètres de dégradation allant de 0.1 (S10) à 0.5 cm (S05). L'isolat S1 de l'échantillon BOA a démontré l'activité amylasique la plus intense avec une zone de dégradation de 1.4 cm de diamètre. L'activité amylasique des isolats de l'échantillon MEB varie de 0.6 cm de diamètre pour l'isolat S7 à 0.1 cm de diamètre pour les isolats S3, S9 et S10. Les isolats S8 et S10 de l'échantillon BOA, S3, S5 et S9 de l'échantillon BOB, S4 de l'échantillon MEB, S2 et S3 de l'échantillon BOC n'ont montré aucune activité amylasique. Les résultats de l'activité amylasique des différentes souches sélectionnées de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 24.

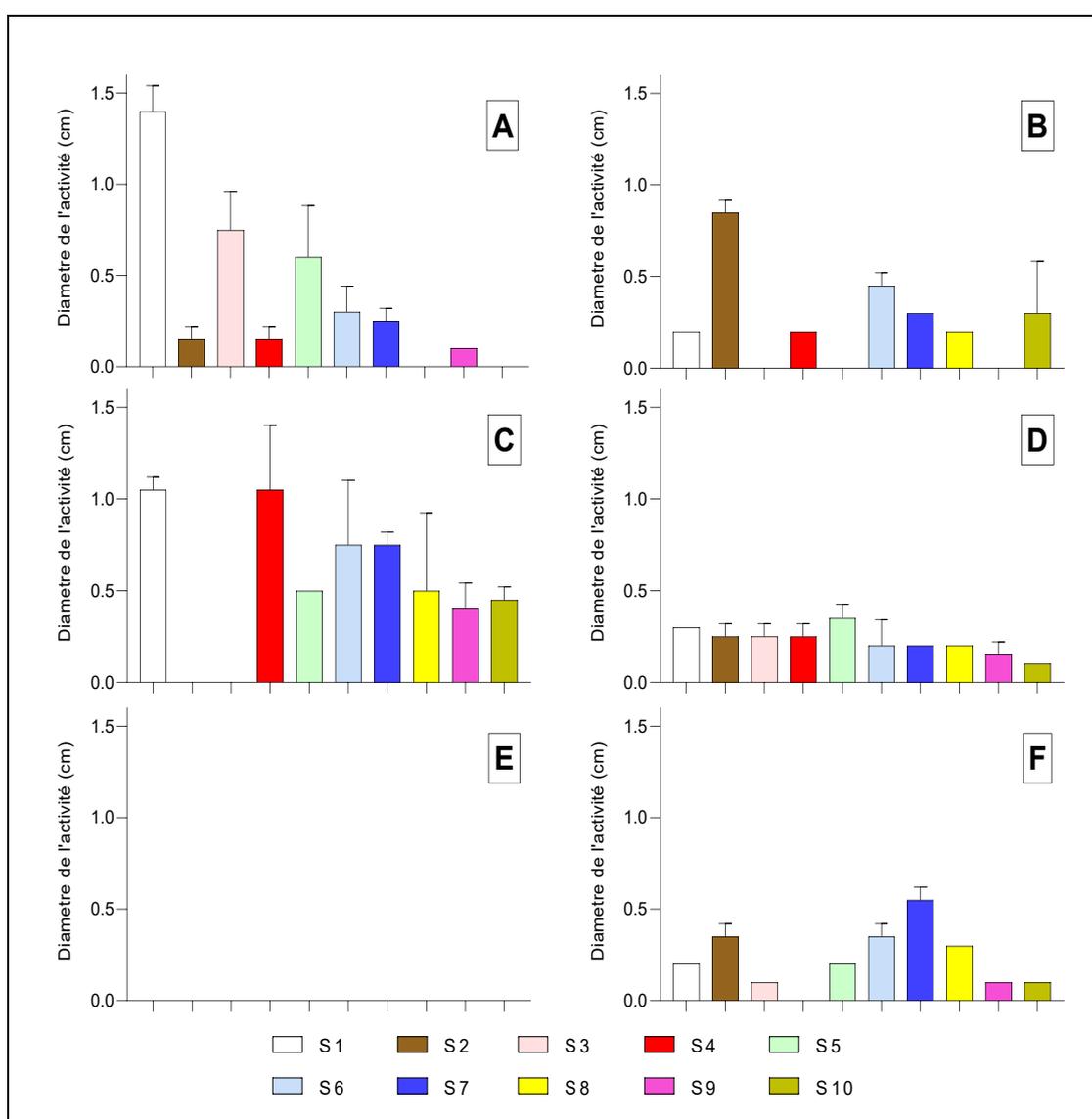


Figure 25. Activité amylasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F)

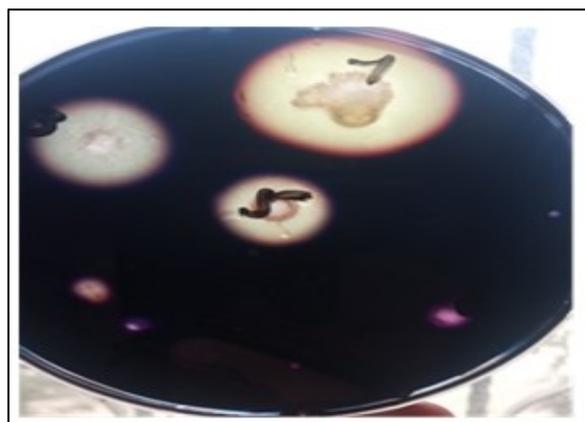


Figure 26. Activité amylasique des isolats BOD1, BOD3 et BOD5 (originale).

3.4. Protéase

Seule l'isolat S8 de l'échantillon MEA a montré une activité protéasique (0.9 cm de diamètre) et seul l'isolat S6 de l'échantillon BOD s'est avéré (protéase + : 0.6 cm de diamètre). L'échantillon BOA présente le nombre d'isolats (protéase +) le plus élevé avec un nombre total de 5 isolats actifs et des diamètres de dégradation allant de 0.6 cm de diamètre pour l'isolat S10 à 0.1 cm de diamètre pour l'isolat S7. Les isolat S2, S5 et S10 de l'échantillon BOC se sont avérés (protéase +) avec des diamètres d'activité de 0.5, 0.7 et 0.7 cm, respectivement. Les résultats de l'activité protéasique des différentes souches sélectionnées de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 27.



Figure 27. Activité protéasique de l'isolat MEA8 (originale).

3.5. Cellulase

Aucun des isolats de l'échantillon BOB ne s'est avéré producteur de cellulase. Cependant, tous les isolats de l'échantillon BOA ont montré une activité cellulastique allant de 2.1 cm de diamètre pour les deux isolats S4 et S5 à 1.2 cm pour l'isolat S9. Seul l'isolat S2 de l'échantillon MEA s'est avéré producteur de cellulase (2.2 cm). 3 isolats de l'échantillon BOC (S1, S6 et S7) et trois isolats de l'échantillon MEB (S4,

S5 et S6) sont producteurs de cellulases. Les résultats de l'activité cellulosique de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 29.

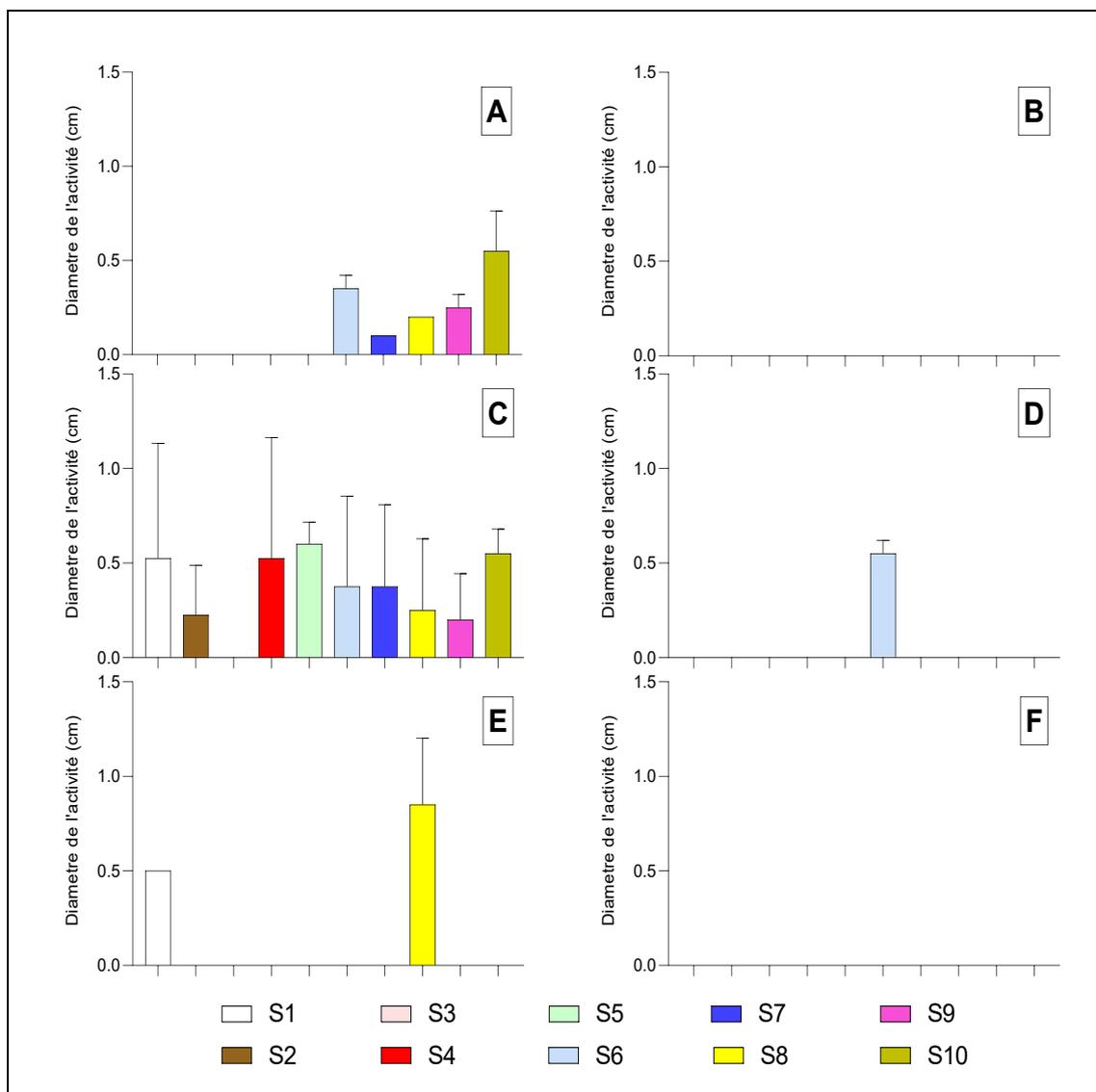


Figure 28. Activité protéasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F)

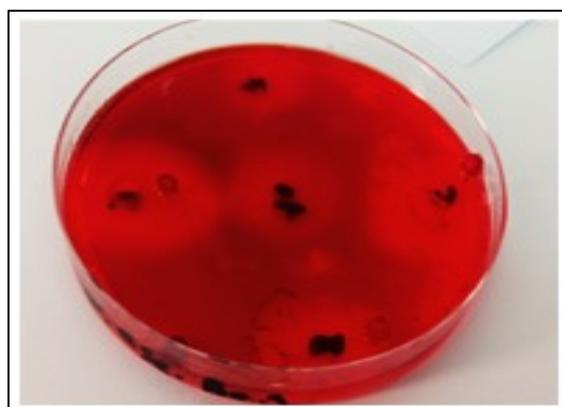


Figure 29. Activité cellulosique des isolats BOA6, BOA7, BOA8, BOA9 et BOA10 (originale).

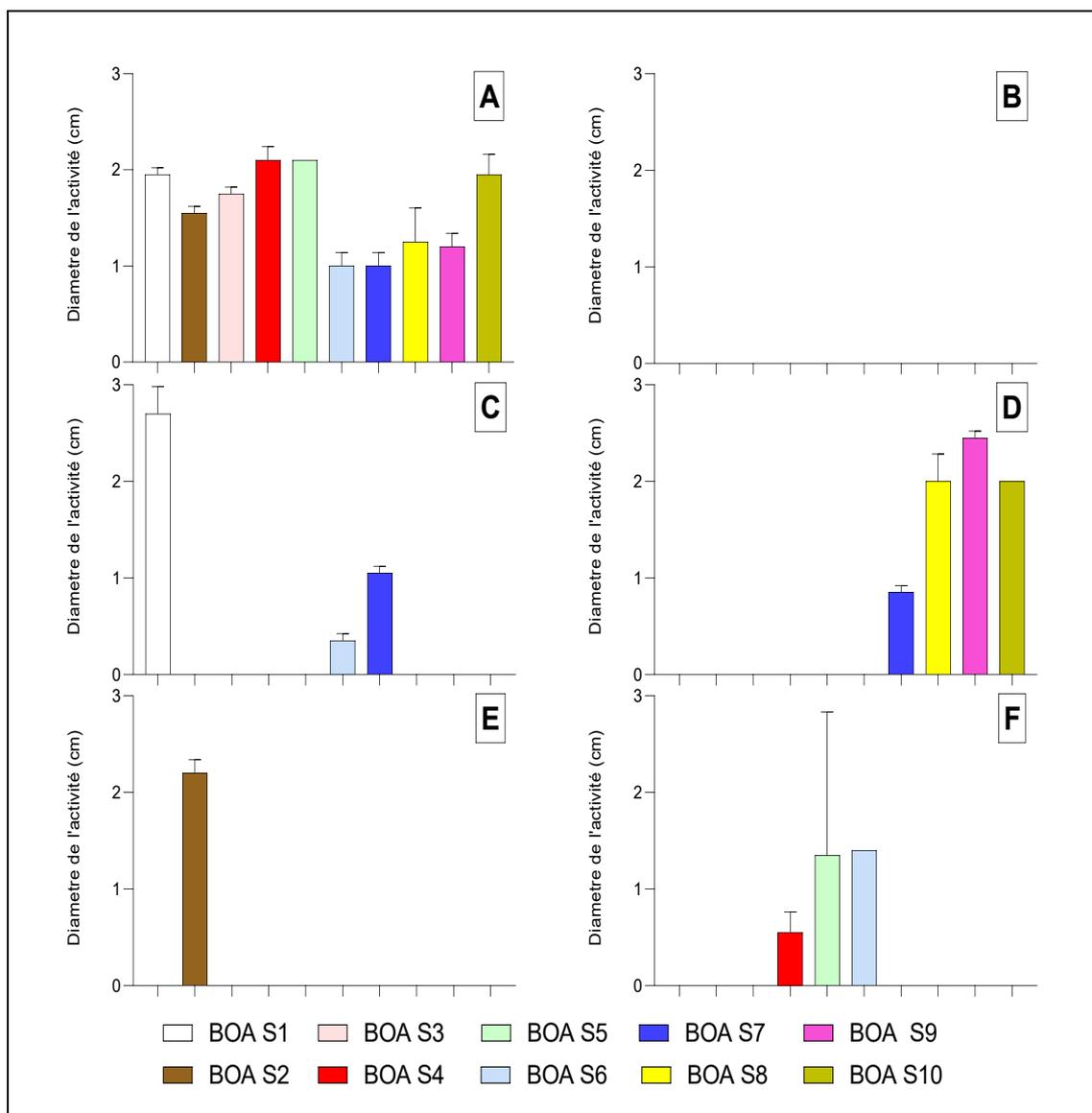


Figure 30. Activité cellulosique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F)

3.6. Chitinase

Les résultats de l'activité chitinasique ont révélé que seul l'isolat S10 de l'échantillon MEA et l'isolat S10 de l'échantillon BOC sont producteurs de chitinase, avec des diamètres de dégradation de 0.5 cm et 0.7 cm, respectivement. Aucun autre isolat des 6 échantillons étudiés n'est producteur de chitinase. Les résultats de l'activité chitinasique des différentes souches sélectionnées de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 30. l'activité chitinasique de l'isolat BOC10 est photographiée dans la figure 31.

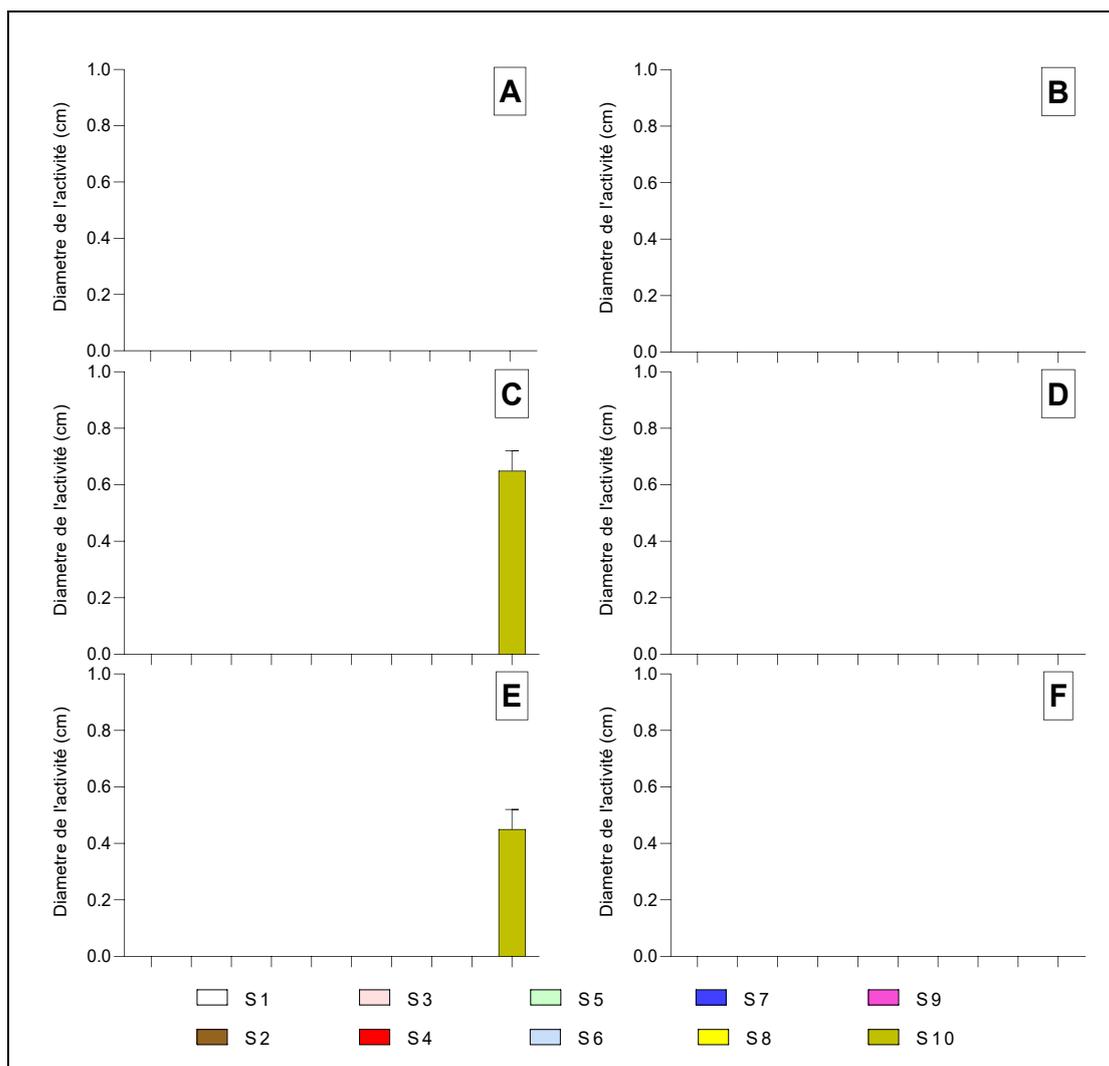


Figure 31. Activité chitinasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F)



Figure 32. Activité chitinasique de l'isolat BOC10 (originale).

3.7. Phosphatase

Seul les isolats S2 de l'échantillon MEA, S2 de l'échantillon BOC et S3 de l'échantillon BOB sont producteurs de chitinase, avec des diamètres de solubilisation

de 0.3, 0.6 et 0.5 cm, respectivement. Les résultats des activités phosphatasiques de chaque échantillon sont exprimés dans la figure 32.

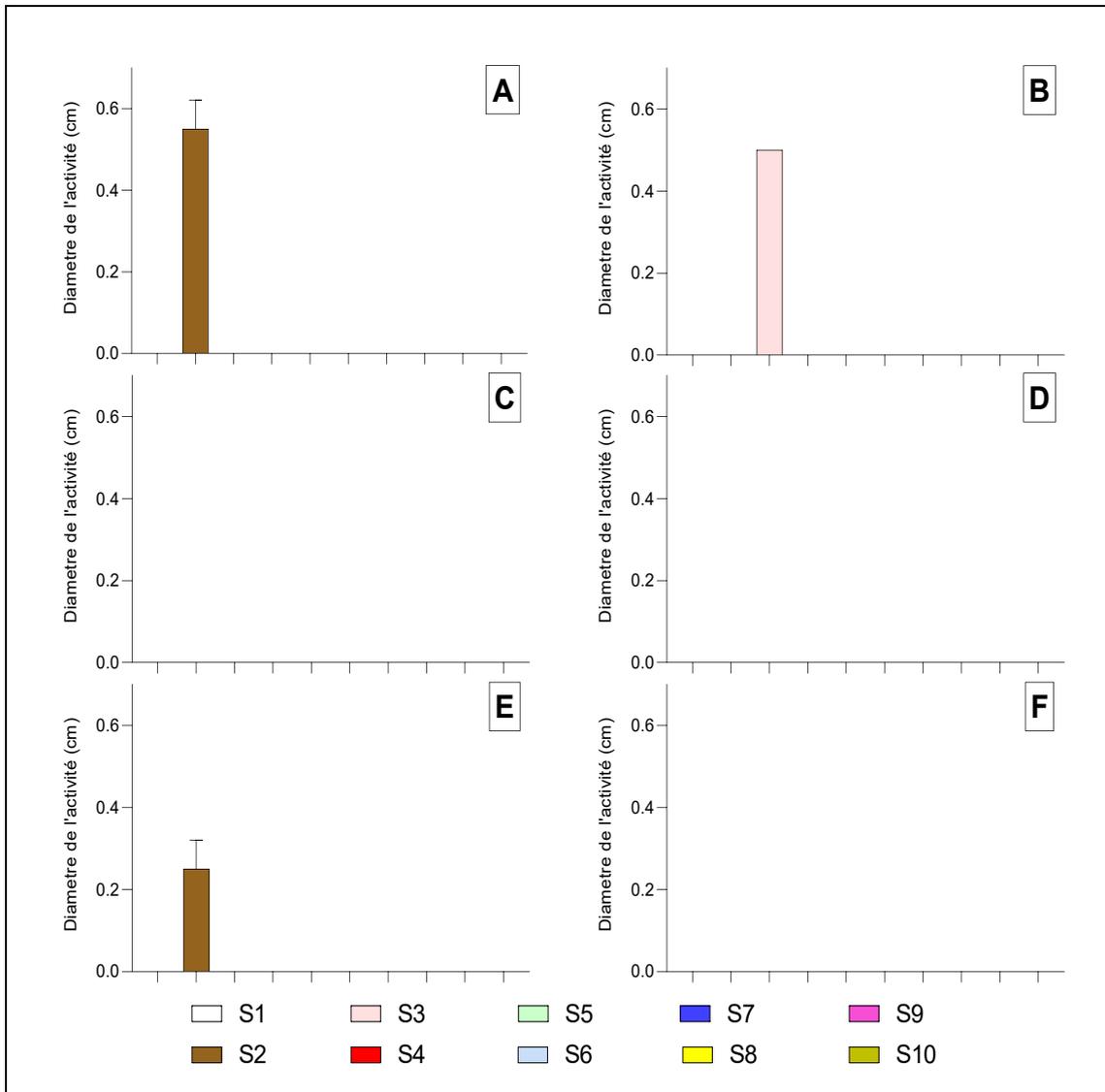


Figure 33. Activité phosphatasique des 60 souches sélectionnées à partir des échantillon BOA (A), BOB (B), BOC (C), BOD (D), MEA (E) et MEB (F)



Figure 34. Activité phosphatasique de l'isolat BOA2 (originale).

4. Corrélation entre les activités enzymatiques et les propriétés des échantillons

4.1. Données récapitulatives

Cette partie s'intéresse à l'étude de possibles liens existants entre les propriétés physicochimiques de chacune des échantillons étudiés et la capacité des bactéries de cet échantillon à synthétiser des enzymes lytiques. Le tableau 6 résume l'ensemble des données expérimentales utilisées pour les études des corrélations. Les résultats détaillés des activités enzymatique en données numériques (duplicata) sont exprimés en **annexe 2**.

Tableau 5. Données relatives à l'étude des corrélations :

	MEA	BOA	BOB	MEB	BOC	BOD
pH H2O	8,03	7,34	8,18	8,01	7,72	7,90
pH KCl	7,10	7,36	7,02	7,55	7,43	6,94
Θg	0,05	0,05	0,07	0,04	0,05	0,03
MOT	0,90	0,89	0,82	0,91	0,84	0,94
ORP	175,10	175,35	188,85	213,60	191,90	191,95
Résistivité	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01
DO	2,26	2,32	2,26	2,16	2,21	2,29
EC	0,14	0,14	0,13	1,49	0,15	0,11
AEC	132,00	131,00	115,50	1444,50	144,00	105,50
Nombre des Amylase +	0,00	8,00	7,00	9,00	8,00	10,00
Intensité Amylasique	0,00	3,70	2,50	2,25	5,45	2,35
Nombre des Lipase +	6,00	5,00	3,00	9,00	8,00	10,00
Intensité Lipasique	4,70	5,15	1,50	4,95	4,15	5,20
Nombre des Estérase +	4,00	4,00	1,00	1,00	7,00	1,00
Intensité Estérasique	3,15	2,35	0,95	0,40	4,80	0,50
Nombre des Chitinase +	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
Intensité Chitinasique	0,45	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00
Nombre des Cellulase +	1,00	10,00	0,00	3,00	3,00	4,00
Intensité Cellulasique	2,20	15,85	0,00	3,30	4,10	7,30
Nombre des Protéase +	2,00	5,00	0,00	0,00	3,00	1,00
Intensité Protéasique	1,35	1,45	0,00	0,00	1,80	0,55
Nombre des Phosphatase +	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00
Intensité Phosphatasique	0,25	0,55	0,50	0,00	0,00	0,00
NTBPE*	15,00	33,00	12,00	22,00	30,00	26,00
IAEG**	12,10	29,05	5,45	10,90	20,95	15,90

* nombre total de bactéries productrices d'enzymes. ** Intensité de l'activité enzymatique globale

4.2. Matrice des corrélations

Cette matrice représente les coefficients de corrélation entre les paramètres exprimés dans le tableau précédent. La force de corrélation est exprimée en coloration de la case correspondante (bleue foncée : corrélation positive ; rouge foncée : corrélation négative ; blanc : absence de corrélation) (tableau 7). Les propriétés physicochimiques sont affectées les unes par les autres. En effet, une forte corrélation négative entre le contenu en eau d'un échantillon et son contenu en matière organique est observée. La conductivité électrique est inversement proportionnelle à sa résistivité et à son contenu en oxygène. Le potentiel d'oxydoréduction d'un échantillon est inversement corrélé à sa résistivité et à son contenu en oxygène dissout.

Tableau 6. Matrice des corrélations.

	<i>pH</i> H ₂ O	<i>pH</i> KCl	Øg	MOT	ORP	Résistivité	DO	EC	AEC
pH H ₂ O	1,00								
pH KCl	-0,40	1,00							
Øg	0,14	-0,04	1,00						
MOT	-0,14	-0,12	-0,93	1,00					
ORP	0,39	0,43	-0,31	0,10	1,00				
Résistivité	-0,13	-0,78	0,23	-0,14	-0,75	1,00			
DO	-0,43	-0,61	0,10	0,14	-0,84	0,83	1,00		
EC	0,24	0,64	-0,33	0,25	0,83	-0,97	-0,80	1,00	
AEC	0,24	0,64	-0,33	0,25	0,83	-0,97	-0,80	1,00	1,00
Nombre des Amylase + Intensité Amylasique	-0,27	0,22	-0,27	0,11	0,57	-0,16	-0,13	0,27	0,27
Nombre des Lipase + Intensité Lipasique	-0,03	0,20	-0,89	0,66	0,55	-0,33	-0,41	0,40	0,40
Nombre des Estérase + Intensité Estérasique	-0,53	0,39	0,21	-0,37	-0,41	0,17	0,02	-0,38	-0,38
Nombre des Chitinase + Intensité Chitinasique	-0,05	0,19	0,15	-0,36	-0,24	0,12	-0,23	-0,29	-0,29
Nombre des Cellulase + Intensité Cellulasique	-0,94	0,35	-0,28	0,35	-0,26	0,02	0,45	-0,07	-0,07
Nombre des Protéase + Intensité Protéasique	-0,93	0,28	0,05	-0,01	-0,65	0,29	0,52	-0,45	-0,45
Nombre des Phosphatase + Intensité Phosphatasique	-0,05	-0,32	0,63	-0,30	-0,75	0,39	0,59	-0,45	-0,45
NTBPE*	-0,90	0,47	-0,40	0,26	-0,03	-0,01	0,16	-0,05	-0,05
IAEG**	-0,99	0,37	-0,21	0,19	-0,40	0,16	0,41	-0,27	-0,27

* nombre total des bactéries productrice d'enzymes. ** Intensité de l'activité enzymatique global

Concernant l'interaction : propriétés des sols-activités enzymatique, il apparaît clairement que le pH d'un échantillon est inversement proportionnel à ses activités protéasiques et cellulases. Cette corrélation négative, bien qu'existante, est moins constatable avec les activités amylasique, lipasique et estérasique. Étonnamment, une forte corrélation négative est observée entre le pH d'un échantillon de sol et le nombre total des bactéries productrices d'enzymes au sein de cet échantillon, mais aussi l'intensité de son activité enzymatique globale.

Le contenu humide gravimétrique d'un échantillon de sol est inversement corrélé à l'activité lipasique de ses bactéries ($r = -0.98$). Cette dernière est positivement corrélée au contenu des échantillons en matière organique ($r = +0.82$). Cependant, une légère corrélation positive est constatée entre ce même paramètre est l'aptitude des bactéries de l'échantillon à solubiliser le phosphate tricalcique ($r = +0.68$).

Selon cette matrice, une légère corrélation positive existe entre l'oxygène dissout (DO) d'un sol, son activité cellulase ($r = +0.57$) et son activité phosphatasique ($r = +0.63$) échantillon (conductivité électrique).

En raison des fortes similitudes obtenus pour les mesures de la conductivité électrique des différents échantillons (à l'exception de l'échantillon MEB), rendant difficile la détermination de liens possibles entre la conductivité électrique d'un sol et son activité enzymatique, et afin de faciliter la détection de possibles corrélations ici, nous avons considéré les valeurs moyennes des activités enzymatiques pour les échantillons similaires en matière de conductivité électrique (MEA, BOA, BOB, BOC et BOD) comme des valeurs à comparer, une par une, aux valeurs des activités enzymatiques de l'échantillon MEB (tableau 8). Vue de cet angle, l'échantillon salin (MEB) présente un nombre de bactérie à activités amylasique et lipasique plus élevé (9 vs 6.6 et 6.4, respectivement). Cependant, le nombre et l'intensité phosphatasique des échantillons non salins sont plus élevés que ceux de l'échantillon MEB. En générale, la salinité affecte négativement le nombre et l'intensité de l'activité enzymatique globale, ce qui est traduit par les valeurs du nombre totale des bactéries productrices d'enzymes et de l'activité enzymatique globale des échantillons (MEA, BOA, BOB, BOC et BOD) : NTBPE = 23.2 et IAEG = 16.7, respectivement (vs NTBPE = 22 et IAEG = 10.9, respectivement concernant l'échantillon MEB).

Tableau 7. Effet de la salinité (EC) de l'échantillon MEB et la salinité moyenne des autres échantillons sur la distribution des activités enzymatiques bactériennes.

	Moyenne (MEA, BOA, BOB, BOC et BOD)	MEB
EC	0,134	1,49
AEC	125,6	1444,5
Nombre des Amylase +	6,6	9
Intensité Amylasique	2,8	2,25
Nombre des Lipase +	6,4	9
Intensité Lipasique	4,14	4,95
Nombre des Estérase +	3,4	1
Intensité Estérasique	2,35	0,4
Nombre des Chitinase +	0,4	0
Intensité Chitinasique	0,22	0
Nombre des Cellulase +	3,6	3
Intensité Cellulasique	5,89	3,3
Nombre des Protéase +	2,2	0
Intensité Protéasique	1,03	0
Nombre des Phosphatase +	0,6	0
Intensité Phosphatasique	0,26	0
NTBPE*	23,2	22
IAEG**	16,69	10,9

* nombre total de bactéries productrices d'enzymes. ** Intensité de l'activité enzymatique globale

Dans la partie restante du travail, les deux isolat solubilisatrices du phosphate (BOA2 et BOB3) ont été caractérisés (coloration de Gram, oxydase, catalase) et utilisés, chacune seule ou en consortium, comme stimulateurs de la croissance du poivron en présence d'une source de phosphate non assimilable par les plantes (phosphate tricalcique)

5. Caractérisation morpho-physicochimique des isolats sélectionnés

5.2. Coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram a révélé que les deux isolats BOA2 et BOB3 sont des bactéries Gram négatif (Figure 34).

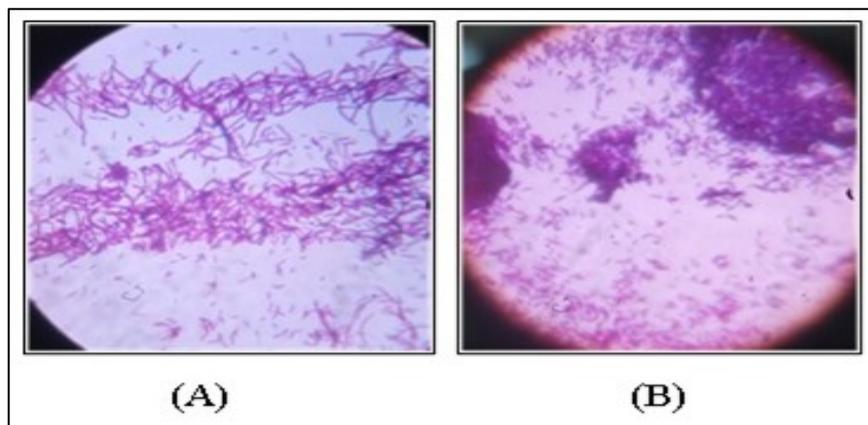


Figure 35. Coloration de Gram des deux isolats A : BOA2 et B : BOB3 (originale).

5.3. Recherche de la catalase et de l'oxydase

Les résultats des tests de l'oxydase et de la catalase ont révélé que les deux isolats sélectionnés (BOA2 et BOB3) sont positifs pour le test de la catalase et négatifs pour celui de l'oxydase (Figure 35).

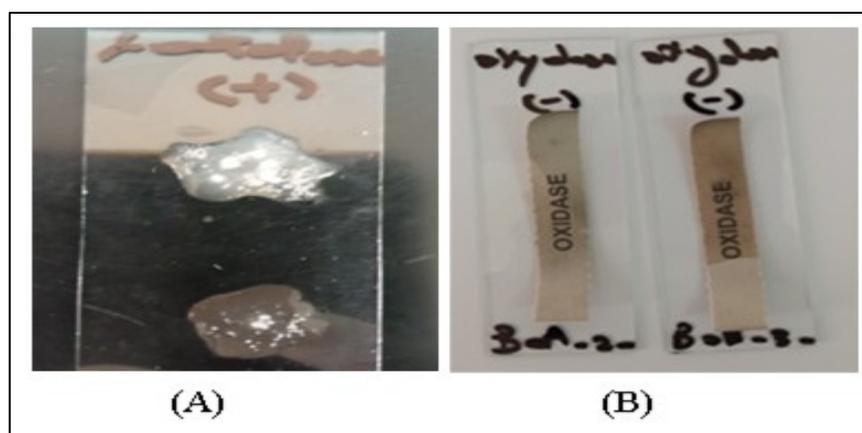


Figure 36. Résultats des tests de la catalase (A) et de l'oxydase (B) pour les deux isolats sélectionnés (originale).

6. Activité promotrice de la croissance du poivron

Dans cette partie, les deux bactéries solubilisatrices du phosphate tricalcique BOA2 et BOB3 ont été utilisées afin de tester leurs potentiel promoteur de la germination et de la croissance des graines de poivron. Les deux bactéries ont été utilisées sur des graines plantées dans un sol calcaire connu pour sa pauvreté minérale

et son faible contenu en phosphate assimilable. Elles ont été testées séparément l'une de l'autre et en consortium, en présence du phosphate tricalcique comme élément phosphaté non assimilable.

Les résultats de la germination montrent qu'appliquée séparément, aucune des souches n'a un effet positif sur le nombre des graines germées. Cependant, l'isolat BOB3 appliquée en combinaison avec le phosphate tricalcique semble avoir un léger effet stimulateur de la germination du poivron par rapport au témoins non inoculés. La combinaison des deux isolats en absence ou en présence d'additif phosphaté semble avoir le meilleur effet stimulateur de la germination du poivron avec La figure x montre le nombre final des graines germées pour chaque traitement après une période de suivi de 24 jours (Figure 36).

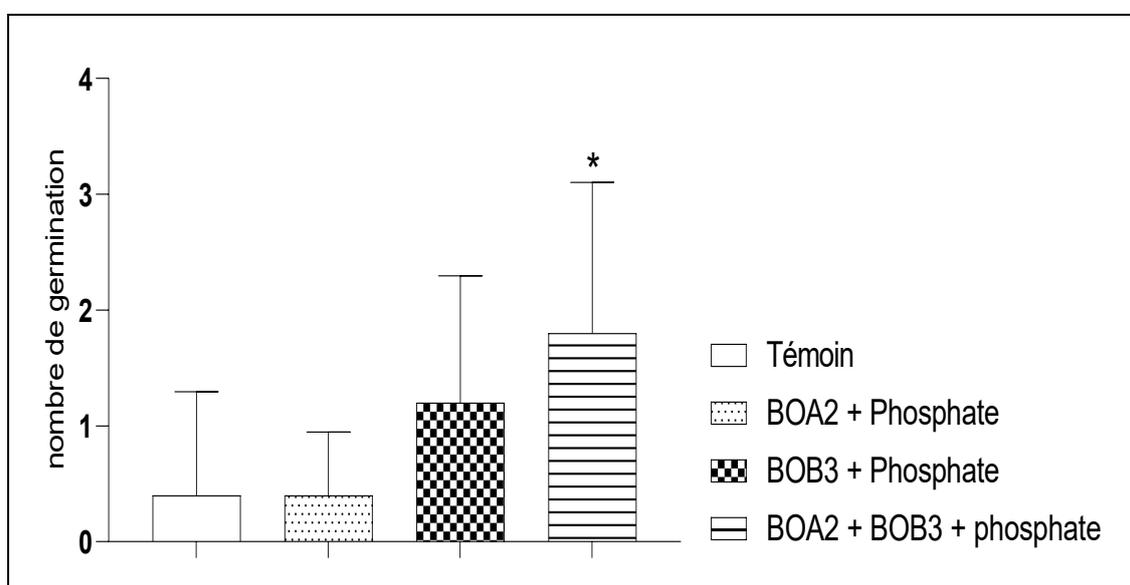


Figure 37. Nombre final des graines germées après une période de 24 jours. Comparaison statistique One-Way ANOVA (Fisher LSD test), GraphPad Prism v. 9.3.1. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.005$; **** $p \leq 0.001$.

Quarante-cinq (45) jours après plantation, l'isolat BOA2 ne semble avoir aucun effet, ni sur le poids frais moyen des plantules de poivron, ni sur leur productivité totale estimée en matière de poids frais. Cependant, l'isolat BOB3 a permis, en présence de phosphate tricalcique, d'obtenir des plantules de poivron de 46 mg/plante, correspondant à une augmentation d'environ 144% par rapport au témoins non inoculés (32.5 mg/plante). Le consortium BOA2+BOB3 a permis d'augmenter significativement le poids frais des plantules à 38.4 g/plante (figure 37).

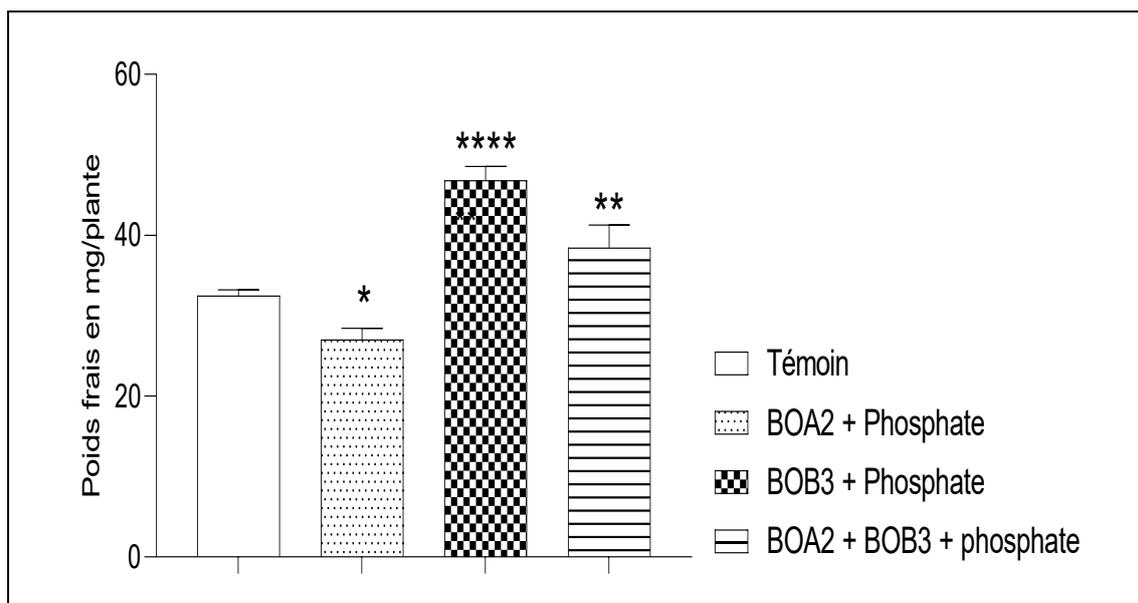


Figure 38. Poids frais des plantules germées après une période de 45 jours. Comparaison statistique One-Way ANOVA (Fisher LSD test), GraphPad Prism v. 9.3.1. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.005$; **** $p \leq 0.001$.

La combinaison des deux isolats BOB3+BOA2 a permis d'obtenir le meilleur rendement en matière de productivité totale estimée avec un poids global d'environ 346 mg (témoins non inoculés 65 mg). L'isolat BOB3 semble également avoir un effet sur la productivité total en plantules de poivron (281 mg). Cependant, la souche bactérienne BOA2 ne semble avoir aucun effet stimulateur de la productivité globale du poivron (figure 38).

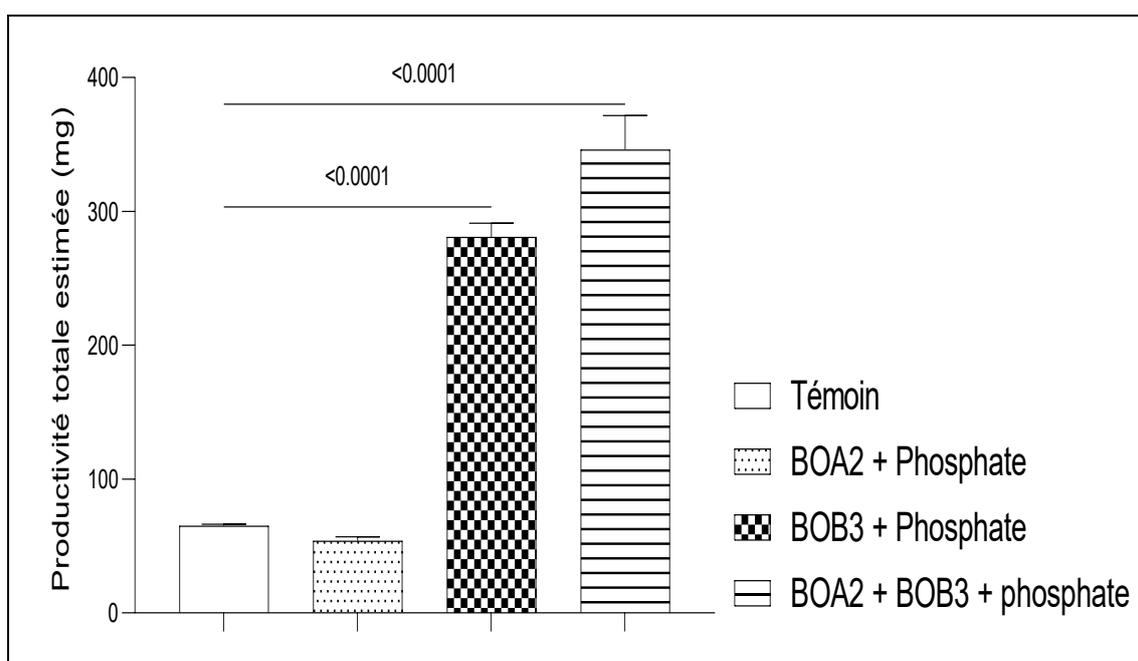


Figure 39. Productivité totale estimée des plantules germées après une période de 45 jours. Comparaison statistique One-Way ANOVA (Fisher LSD test), GraphPad Prism v. 9.3.1. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.005$; **** $p \leq 0.001$.

Chapitre IV

Discussion

Discussion

Dans ce travail, 60 bactéries ont été isolées à partir de 6 échantillons du sol. Les caractères physicochimiques (pH, conductivité électrique, contenu humide gravimétrique, contenu en matière organique, résistivité et oxygène dissous) des 6 échantillons ont été déterminés afin d'évaluer l'impact des propriétés physicochimiques des sols sur la capacité des bactéries autochtones à produire des enzymes lytiques. Le travail porte également comme objectif secondaire : l'évaluation de la capacité des bactéries solubilisatrices du phosphate, isolées dans le cadre de la première partie, à promouvoir la croissance du poivron dans un sol calcaire en présence du phosphate tricalcique comme source de phosphate inassimilable.

Un document publié en 1998 par le service de conservation des ressources naturelles aux Etats Unis (NRCS : *Natural resources conservation service*) signale que les sols caractérisés par des pH allant de 6.6 à 7.3 sont considérés comme neutres. Les sols dont le pH varie de 7.4 à 7.8 sont légèrement alcalins, tandis que ceux ayant des valeurs du pH comprises entre 7.9 et 8.4 sont considérés comme Modérément alcalins (NRSCS, 1998). Les échantillons analysés dans le cadre de ce travail sont donc caractérisés par des valeurs de pH allant de neutres à légèrement alcalins.

Dans ce travail, une forte corrélation négative a été constatée entre le contenu en eau d'un échantillon de sol et son contenu en matière organique. Cela peut être expliqué par le fait que les sols riches en matière organique ont généralement une meilleure capacité de rétention d'eau que les sols pauvres en matière organique. Cela signifie que les sols riches en matière organique peuvent retenir davantage d'eau, ce qui réduit la quantité d'eau libre disponible dans le sol (Rawls *et al.*, 2003). D'un autre côté, La matière organique dans le sol est souvent constituée de débris végétaux, de résidus de plantes et d'autres matières organiques en décomposition. Les micro-organismes du sol, tels que les bactéries et les champignons, décomposent cette matière organique. Lorsque le sol est plus humide, les processus de décomposition sont généralement plus actifs. Par conséquent, dans les sols plus humides, une plus grande partie de la matière organique peut être décomposée, ce qui réduit son contenu (Thomsen *et al.*, 1999).

Dans notre investigation, le pH d'un échantillon est inversement proportionnel à ses activités protéasiques et cellulasiques. L'effet de la dégradation de la matière organique, notamment les protéines et les sucres sur le pH et l'effet du pH du sol affecte

sur la disponibilité des nutriments pour les micro-organismes, y compris les bactéries n'est pas très discuté. Dans les sols acides, certains nutriments essentiels, tels que le fer et le manganèse, peuvent être plus facilement disponibles pour les bactéries décomposeuses. Cela peut favoriser leur croissance et leur activité enzymatique (**Lucas et Davis, 1961 ; Peterson, 1982 ; Bougiatioti et al., 2016**).

La dégradation de la matière organique par les bactéries fermentaire aboutit à la formation des acides organiques, menant le pH du sol à la baisse, ce qui peut également expliquer la corrélation négative constaté entre le pH et les deux activité protéasique et cellulasique des bactéries (**Sauer et al., 2008**).

D'autre côté, Les sols à faible pH peuvent avoir tendance à contenir plus de matière organique, telle que des débris végétaux et des feuilles mortes, qui sont riches en cellulose et en protéines. Les bactéries décomposeuses sont plus susceptibles de prospérer dans un environnement riche en matière organique, ce qui peut être le cas dans les sols à faible pH (**Kleber et al., 2005**).

Dans le cadre de ce travail, nous avons également constaté que le contenu humide gravimétrique d'un échantillon de sol est inversement corrélé à l'activité lipasique de ses bactéries. En effet, la disponibilité en eau, l'accès aux substrats, l'activité enzymatique et l'équilibre entre les micro-organismes dans le sol sont des facteurs qui interagissent pour influencer l'activité des bactéries lipasiques en fonction de la teneur en eau du sol (**Torsvik et Øvreås. 2002**).

Une légère corrélation positive a été constaté entre l'oxygène dissout (DO) d'un sol et son activité cellulasique. Ce résultat peut être expliquer par le fait que les bactéries cellulolytiques, responsables de la dégradation de la cellulose, sont généralement des microorganismes aérobies, c'est-à-dire qu'ils nécessitent de l'oxygène pour leur métabolisme. Lorsque l'oxygène dissout est présent dans le sol, ces bactéries ont un environnement favorable à leur activité et sont donc amener à survivre plus que le reste de la communauté microbienne de l'échantillon (**Akhtar et al., 2016**).

Dans un travail intéressant réalisé par **Ling et al. (2010)**, l'impacts des pluies acides simulées sur les activités enzymatiques du sol a été évalué, il a été constaté que l'activité amylasique prend son optimum à pH acide (pH=4). Ces résultats son en concordance avec les notre, ou la dégradation de la matière organique (activité enzymatique globale) est plus constatable dans les sols à faible pH.

Le fait que les activités amylasiques et lipasiques étaient plus intenses dans l'échantillon de sol salin (MEB) par rapport aux sols à faible teneur en sel peuvent s'expliquer par l'adaptation des microorganismes dégradant l'amidon et les lipides aux sols salins, la disponibilité de substrats organiques, l'interaction entre le sel et certaines enzymes, et la composition des communautés microbiennes spécifiques à ces environnements (**Burns et Dick, 2002**).

D'un autre côté, le fait que notre échantillon de sol salin (MEB) ne contient pas de bactéries solubilisatrices de phosphate parmi les 10 souches sélectionnées pourrait s'expliquer par une tendance générale indiquant que la salinité élevée affecte la solubilisation du phosphate au sein des communautés microbiennes. (**Srividya et al., 2009**).

Malheureusement, la similitude constatée dans certaines propriétés physicochimiques des échantillons étudiés ne nous a pas permis de déceler, avec plus de détails, l'impact de ces propriétés sur la diversité métaboliques des bactéries telluriques, particulièrement en matière d'enzymes lytiques. Dans la deuxième partie de ce travail, les deux isolats BOA2 ET BOB3, ayant donné des résultats positifs en matière de solubilisation de phosphate tricalcique, ont été testés pour leur capacité à promouvoir la croissance du poivron sur un sol calcaire. Ce genre de sols est connu son faible contenu en phosphate assimilable et pourra donc nous permettre de déceler l'avantage des bactéries solubilisatrices du phosphate dans de tels environnements.

Dans le cadre de ce travail, l'utilisation de l'isolat BOB3 seule ou en combinaison avec l'isolat BOA2 a permis d'améliorer de façon significative les différents paramètres de croissance mesurés sur les plantules de poivron (germination, poids frais, production totale estimée en matière de poids frais). L'emploi croissant de souches de bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB) pour augmenter la productivité agricole reflète une tendance grandissante visant à réduire l'usage de produits chimiques dans le but de préserver la santé des plantes et de diminuer les coûts de production. De nombreuses études ont été menées pour identifier de nouvelles souches de PSB efficaces, en tant qu'alternatives aux engrais chimiques (**Karagoz et Dursun, 2019**).

L'utilisation des bactéries solubilisatrices du phosphate, appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Serratia* et *Chryseobacterium*, afin d'améliorer le

rendement du poivron a été déjà abordée par certains travaux scientifiques (**Ramachandran et al., 2007 ; Sang et al., 2018 ; Mei et al., 2021**).

L'effet positive de la souche BOB3 sur la germination et la croissance du poivron peut être expliquée par la capacité de la bactérie à solubiliser le phosphate tricalcique additionné au sol, le rendant assimilable par les plantules. Elle peut être également expliquée par la capacité de cet isolat à produire d'autres métabolites d'intérêt agricole tel que les sidérophores, les phytohormones, les antibiotiques etc. (**Rai, 2017**).

Avec le changement climatique et la propagation des phénomènes de pollution à l'échelle mondiale, il est évident que les solutions écologiques, telles que l'application des bactéries promotrices de la croissance des plantes, occupent une place de plus en plus importante en agriculture moderne.

En fin, il est important de signaler que la diversité des bactéries du sol a été exprimée en utilisant une large gamme d'indices et de modèles mathématiques (**Tokeshi, 1993 ; Bulla, 1994 ; Kennedey et Smith, 1995**). Cependant, aucun modèle général ne décrit clairement la relation entre l'abondance, la richesse et la dominance des espèces. Il est donc raisonnable que les facteurs gérant cette diversité soient étudiés séparément afin de les maîtriser (**Ekschmitt et Griffiths, 1998**). La complexité de l'étude de la diversité bactérienne d'un point de vue taxonomique, fonctionnel et génétique est plus compliquée, découle du grand nombre d'espèces bactériennes présentes dans l'environnement (**Torsvik et al., 1990**).

Parmi cette diversité bactérienne tellurique, seulement 2 à 5% des bactéries de la rhizosphère sont considérées comme PGPR (**Antoun et Prévost, 2005**). Certaines d'entre elles ont été commercialement produites comme inoculant en agriculture, mais il est primordial de mentionner que l'inoculation de tels organismes dans les sols peut être responsable d'un désordre de la communauté microbienne allochtone. Ces changements doivent être profondément étudiés car ils sont reliés à l'efficacité de ces biofertilisants une fois appliqués aux sols agricoles (**Van Veen et al., 1997 ; Ramos et al., 2003**). Contrairement à ça, plusieurs études se sont intéressées à l'étude de l'efficacité des PGPR sous différentes conditions physicochimiques et biologiques, observant que ces bactéries sont efficaces uniquement dans des conditions déterminées (**Enebak et al., 1998 ; Bashan, 1998**).

Une meilleure compréhension de la structure physicochimique de la rhizosphère et son effet sur la variabilité fonctionnelle des bactéries du sol, mais aussi la maîtrise des autres processus au sein du système tels que la complexité, la sélection naturelle, les interactions entre les microorganismes (symbiose, parasitisme, mutualisme et compétence) constituent, ensemble, la clé pour une utilisation plus correcte des bactéries bénéfiques en agriculture et en biotechnologie (**Van Veen *et al.*, 1997**).

Conclusion

Conclusion

Dans le sol, les microorganismes forment la majorité des organismes vivants, englobant une grande diversité génétique. Environ 10 à 100 milliards de bactéries et entre 6 000 et 50 000 espèces bactériennes peuvent être présentes par gramme de sol. Notre travail visait l'évaluation de l'impact des propriétés physicochimiques des sols (pH, salinité, matière organique, oxygène dissout, résistivité) sur la distribution des bactéries productrices d'enzymes lytique et d'étudier l'effet de quelques bactéries solubilisatrices du phosphate, isolées lors de la première partie de l'étude, à favoriser la croissance des plants de poivron dans un sol calcaire en présence d'une source de phosphate non assimilable par les plantes.

D'un côté, il apparaît clairement qu'en matière de diversité bactérienne, le sol constitue un environnement très complexe. La compréhension des différents mécanismes gérant la distribution des activités métaboliques dans les sols reste un défi. Néanmoins, ce travail constitue, à travers les résultats obtenus, une initiation pour une meilleure compréhension de l'impact des propriétés d'un environnement sur le comportement, l'évolution et la distribution de ses microorganismes.

Ce travail constitue, à travers sa deuxième partie, une initiation à l'utilisation de quelques bactéries bénéfiques du sol dans la promotion de la croissance des plantes afin de réduire l'utilisation des engrais chimiques chers et nuisibles. Cependant, d'autres travaux restent nécessaires afin de comprendre la diversité métabolique des bactéries du sol et la possibilité de l'utilisation de l'isolat BOB3 comme agent promoteur de la croissance de poivron.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Akhtar, N., Goyal, D., et Goyal, A. (2016).** Biodiversity of cellulase producing bacteria and their applications. *Cellulose chemistry and technology*, 50(09-Oct), 983-995.
- Dommergues, Y., & Mangenot, F. (1970).** *Ecologie microbienne du sol* (No. 631.461 DOM). Paris : Masson.
- Tate III, R. L. (2020).** *Soil microbiology*. John Wiley & Sons.
- Clark, F. E. (1967).** Bacteria in soil. *Soil biology*, 15-49.
- Al-Mamoori, S. O., Jabuk, S. I., Mahdi, R. K., Naji, N. M., et Almaamori, A. M. (2022).** THE EFFECT OF SOIL SALINITY ON PLANTS AND BACTERIA. *British Journal of Global Ecology and Sustainable Development*, 2, 114-121.
- Amigo, J. M., Delolmo Alvarez, A., Engelsen, M. M., Lundkvist, H., Engelsen. (2016).** Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic alpha amylases. Part1: spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. *Food Chem*, 208, 318-325.
- Ando S., Ishia H., Kosugi Y., Ishikawa K. (2002).** Hyperthermostable Endoglucanase from *Pyrococcus horikoshii*. *Applied and Environnemental Microbiology*. 68(1)
- Antoun, H., et Prévost, D. (2005).** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. 1-34pp. *PGPR: biocontrol and biofertilization*. Siddiqui, ZA (Ed.).
- Aslim, B., Sağlam, N., et Beyatli, Y. (2002).** Determination of some properties of *Bacillus* isolated from soil. *Turkish Journal of Biology*, 26(1), 41-48.
- Assemien, E. F. L. (2018).** Impact de pratiques agricoles conventionnelles et innovantes sur la fertilité des sols et les acteurs microbiens impliqués dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire (Doctoral dissertation, Université de Lyon).
- Atuanya, E. I., Iserhienrhien, G. O., et Emejulu, M. J. (2023).** Effect of ProducedFormation Water on Soil Nitrifying Bacteria and Earthworms. *Journal of AppliedSciences and Environmental Management*, 27(4), 869-876.

- Azizi, M. H., Rajabzadeh, N., et Riahi, E. (2003).** Effect of mono-diglyceride and lecithin on dough rheological characteristics and quality of flat bread. *LWT-Food Science and Technology*, 36(2), 189-193.
- Banerjee, G., et Ray, A. K. (2017).** Impact of microbial proteases on biotechnological industries. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 33(2), 119-143.
- Bashan, Y. (1998).** Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology advances*, 16(4), 729-770.
- Bashan, Y., Holguin, G., et De-Bashan, L. E. (2004).** *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, 50(8), 521-577.
- Benmammour, Y. et al. (2016).** Étude de quelques activités enzymatiques d'une collection d'actinomycètes. Mémoire de Magister en Écologie microbienne. Université Frères Mentouri -Constantine. Pp 4-19.
- Berekaa, M. M., El Aassar, S. A., El-Sayed, S. M., et El Borai, A. M. (2009).** Production of Poly- γ -Glutamate (PGA) Biopolymer by batch and semicontinuous cultures of immobilized *Bacillus licheniformis* Strain-R. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 715-724.
- Borneman, J., et Triplett, E. W. (1997).** Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and environmental microbiology*, 63(7), 2647-2653.
- Bornscheuer, U. T. (2002).** Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. *FEMS microbiology reviews*, 26(1), 73-81.
- Bougiatioti, A., Nikolaou, P., Stavroulas, I., Kouvarakis, G., Weber, R., Nenes, A., ... et Mihalopoulos, N. (2016).** Particle water and pH in the eastern Mediterranean: source variability and implications for nutrient availability. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 16(7), 4579-4591.
- Bulla, L. (1994).** An index of evenness and its associated diversity measure. *Oikos*, 167-171.

- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., ... et Zoppini, A. (2013).** Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Burns, R. G., et Dick, R. P. (Eds.). (2002).** Enzymes in the environment: activity, ecology and applications. CRC press.
- Carrim, A. J. I., Barbosa, E. C., et Vieira, J. D. G. (2006).** Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 353-359.
- Chantigny, M., et Angers, D. (2005).** Activités microbiologiques et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds. In Colloque en environnement : « des outils d'intervention à notre échelle », Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (Vol. 10).
- Chen, Y., Sharma-Shivappa, R. R., Keshwani, D., et Chen, C. (2007).** Potential of agricultural residues and hay for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 142, 276-290.
- Chibani, H. R. (2017).** Sélection et caractérisation des bactéries solubilisant le phosphate isolé du sol salin dans l'ouest Algérien : effet sur la promotion de la croissance du blé (*Triticum* sp.) (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).
- Dahiya, N., Tewari, R., et Hoondal, G. S. (2006).** Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 71, 773-782.
- Dan, Y., Wang, X., Ji, M., Sang, W., Shen, Z., et Zhang, Y. (2023).** Influence of temperature change on the immobilization of soil Pb and Zn by hydrochar: Roles of soil microbial modulation. *Environmental Pollution*, 320, 121109.
- Dari, R. (2013).** Dénombrement de la biomasse microbienne des sols arides exemple d'un sol salé sous deux types de cultures (Doctoral Dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).
- De, A. K. (Ed.). (2003).** *Capsicum: the genus Capsicum*. CRC Press.

- Devlin, J. R., et Behnsen, J. (2023).** Bacterial Chitinases and Their Role in Human Infection. *Infection and Immunity*, e00549-22.
- Dey, R. K. K. P., Pal, K. K., Bhatt, D. M., et Chauhan, S. M. (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological research*, 159(4), 371-394.
- Dommergues, Y et Mangenat, F (1970).** *Ecologie microbienne de sol*. MASSON ET Cie, ÉDIT E LI RS 120, boulevard Saint-Germain, PARIS Vie.
- Dos Santos, J. B. C., da Silva Cruz, R. G., et Tardioli, P. W. (2017).** Production of whole-cell lipase from *Streptomyces clavuligerus* in a bench-scale bioreactor and its first evaluation as biocatalyst for synthesis in organic medium. *Applied biochemistry and biotechnology*, 183, 218-240.
- Dueramae, S., Tangchirapat, W., Chindaprasirt, P., et Jaturapitakkul, C. (2017).** Influence of activation methods on strength and chloride resistance of concrete using calcium carbide residue–fly ash mixture as a new binder. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 29(4), 04016265.
- Duponnois, R., Hafidi, M., Ndoye, I., Ramanankierana, H., et Bà, A. M. (2013).** Des champignons symbiotiques contre la désertification : écosystèmes méditerranéens, tropicaux et insulaires. *Marseille: Édition IRD*.
- Ekschmitt, K., et Griffiths, B. S. (1998).** Soil biodiversity and its implications for ecosystem functioning in a heterogeneous and variable environment. *Applied Soil Ecology*, 10(3), 201-215.
- El-Aty, A. A. A., et Mostafa, F. A. (2015).** Production and characterization of fungal α -amylase from marine *Alternaria alternata* utilizing lignocellulosic wastes and its application. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 813-825.
- Enebak, S. A., Wei, G., et Kloepper, J. W. (1998).** Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. *Forest Science*, 44(1), 139-144.

- Ezawa, T., Smith, S. E., et Smith, F. A. (2002).** P metabolism and transport in AM fungi. *Plant and Soil*, 244, 221-230.
- Garima D, Anil K. (2020).** Distribution and Biotechnological Applications of Chitinase: A Review, 452001, P 23-24.
- Glick, B. R. (1995).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*, 41(2), 109-117.
- Gobat, J. M., et Matthey, W. (2003).** Le sol Vivant, base de pédologie et biologie du sol, Presse Polytechnique et Universitaire Romandes.
- Götz, M., Nirenberg, H., Krause, S., Wolters, H., Draeger, S., Buchner, A., ... et Smalla, K. (2006).** Fungal endophytes in potato roots studied by traditional isolation and cultivation-independent DNA-based methods. *FEMS microbiology ecology*, 58(3), 404-413.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., et Chauhan, B. (2003).** Microbial α -amylases : a biotechnological perspective. *Process biochemistry*, 38(11), 1599-1616.
- Gusakov, A. V., Sinitsyn, A. P., Markov, A. V., Skomarovsky, A. A., Sinitsyna, O. A., Berlin, A. G., et Ankudimova, N. V. (2000).** Indigo-binding domains in cellulase molecules. *Biocatalysis-2000: fundamentals and applications*, 41(6), 77-80.
- Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L. J., et Poole, P. S. (2002).** Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and soil*, 245, 83-93.
- Hashimoto, A., Suzuki, H., et Oonaka, K. (2023).** Prevalence of cpe-positive *Clostridium perfringens* in surface-attached soil of commercially available potatoes and its significance as a potential source of food poisoning. *Anaerobe*, 79, 102687.
- Hassink, J., Bouwman, L. A., Zwart, K. B., et Brussaard, L. (1993).** Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(1), 47-55.
- He, J., Qi, R., Wang, S., Duan, X., Meng, L., Ai, S., ... & Song, W. (2023).** Distinct composition patterns of bacterial and fungal communities and biogeochemical

cycling genes depend on the vegetation type in arid soil. *Applied Soil Ecology*, 191, 105064.

Hendriksen, H. V., Pedersen, S., et Bisgard-Frantzen, H. (1999). A process for textile warp sizing using enzymatically modified starches. Patent application.

Hii, Y. S., San, C. Y., Lau, S. W., et Danquah, M. K. (2020). Isolation and characterisation of phosphate solubilizing microorganisms from peat. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101643.

Honda, J. R. (2023). Environmental Sources and Transmission of Nontuberculous Mycobacteria. *Clinics in Chest Medicine*.

Huang, P. T., Patel, M., Santagata, M. C., et Bobet, A. (2009). Classification of organic soils.

Karagoz, F. P., Dursun, A. (2019). Assessment of Different PGPR Formulations as a Biological Fertilizer in Cultivation of Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*). *Frontiers in Environmental Microbiology*, 5(2), 48-59.

Kavitha, T., Nelson, R., et Jesi, S. J. (2013). Screening of rhizobacteria for plant growth promoting traits and antifungal activity against charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(4).

Kennedy, A. C., et Smith, K. L. (1995). Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil*, 170, 75-86.

Kermiche, M., et Bekhouche, F. (2013). Caractérisation de certaines souches microbiennes évoluant dans le blé fermenté et mise en évidence de leurs activités enzymatiques (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Naqvi, S. S., et Rasheed, M. (2009). Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J. agric. biol. sci*, 1(1), 48-58.

Khelil, O. (2017). Production de cellulase et d'enzymes associées par des souches de *Bacillus* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des sciences et de la technologie).

- Kleber, M., Mikutta, R., Torn, M. S., et Jahn, R. (2005).** Poorly crystalline mineral phases protect organic matter in acid subsoil horizons. *European Journal of Soil Science*, 56(6),717-725.
- Kohli. P., Gupta. R. (2016).** Medical aspects of esterases. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 8 (8), 1-6.
- Kolarova, N., etFarkaš, V. (1981).** Sensitivity of various yeasts to crude cellulolytic enzyme complexes from *Trichoderma reesei*. *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 13, 184-187.
- Kopečný, J., Hodrová, B., et Stewart, C. S. (1996).** The isolation and characterization of a rumen chitinolytic bacterium. *Letters in applied microbiology*, 23(3), 195-198.
- KULKARNI. S ., Sadichha,P., et Surekha, S, (2013).** Microbial esterases. *Journal of current microbiology and applied sciences*, 2 (7), 135-146.
- Landolt, E., etKandeler, R. (1987).** Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (Lemnaceae): The Family of Lemnaceae-a Monographic Study. *Phytochemistry; Physiology; Application; Bibliography*. GeobotanischesInstitut der ETH.
- Lemanceau, P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie*, 12(6), 413-437.
- Levy, E., Eyal, Z., Chet, I., et Hochman, A. (1992).** Resistance mechanisms of *Septoria tritici* to antifungal products of *Pseudomonas*. *Physiological and molecular plant pathology*, 40(3), 163-171.
- Liao, Z., Ye, S., et Wang, S. (2023).** Soil bacterial community structure as affected by standage in Chinese fir plantations: Insights at the aggregate scale. *Land Degradation et Development*, 34(2), 389-402.
- Ling, D. J., Huang, Q. C., et Ouyang, Y. (2010).** Impacts of simulated acid rain on soilenzyme activities in a latosol. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 73(8), 1914-1918.
- Liu, X., et Kokare, C. (2023).** Microbial enzymes of use in industry. In *Biotechnology ofmicrobial enzymes* (pp. 405-444). Academic Press.

- Lucas, R. E., et Davis, J. (1961).** Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil science*, 92(3), 177-182.
- Madsen, E. L., et Alexander, M. (1982).** Transport of Rhizobium and Pseudomonas through soil. *Soil Science Society of America Journal*, 46(3), 557-560.
- Malboobi, M. A., Owlia, P., Behbahani, M., Sarokhani, E., Moradi, S., Yakhchali, B., ... et Morabbi Heravi, K. (2009).** Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 1471-1477.
- Mao, Q., Xie, Z., Pei, F., Irshad, S., Issaka, S., et Randrianarison, G. (2023).** Indigenous cyanobacteria enhance remediation of arsenic-contaminated soils by regulating physicochemical properties, microbial community structure and function in soil microenvironment. *Science of The Total Environment*, 860, 160543.
- Mara, P. R., Isabel, C. M. C. J., Luiz, C. R. dos S., Marcos, A. S., Flvia, D. P., Edson, L. S., Fabiano, G. S. (2014).** Phosphate solubilization and phytohormone production by endophytic and rhizosphere *Trichoderma* isolates of guanandi (*Calophyllum brasiliense Cambess*). *African Journal of Microbiology Research*, 8(27), 2616–2623.
- Martine, C., et Denis, A. (2005).** Activité microbiologique et qualité des sols : quoi de neuf sous nos pieds, p 2
- Mei, C., Chretien, R. L., Amaradasa, B. S., He, Y., Turner, A., et Lowman, S. (2021).** Characterization of phosphate solubilizing bacterial endophytes and plant growth promotion in vitro and in greenhouse. *Microorganisms*, 9(9), 1935.
- Mezaache, S. (2012).** Localisation Des Déterminants De La Suppression De Quelques Souches De Pseudomonas Isolées De La Rhizosphère De La Pomme De Terre (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).
- Microorganism (PSMs) From Soil. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 1: 90-95
- Millán, J. L. (2006).** Mammalian alkaline phosphatases: from biology to applications in medicine and biotechnology. John Wiley et Sons.

- Mohanty, D., Adhikary, S. P., et Chattopadhyay, G. N. (2013).** Seaweed liquid fertilizer (SLF) and its role in agriculture productivity. *The Ecoscan*, v. 3, n. special.
- Mwenda, G. M., Hill, Y. J., O'Hara, G. W., Reeve, W. G., Howieson, J. G., et Terpolilli, J. J. (2023).** Competition in the *Phaseolus vulgaris*-*Rhizobium* symbiosis and the role of resident soil rhizobia in determining the outcomes of inoculation. *Plant and Soil*, 1-17.
- Odier, E., et Rouau, X. (1985).** Les cellulases et les enzymes de dépolymérisation de la lignine.
- Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., et Mohan, R. (2000).** Advances in microbial amylases. *Biotechnology and applied biochemistry*, 31(2), 135-152.
- Pepper, I. L. et Gerba, C. P. (2004).** *Environmental Microbiology, a Laboratory Manual*, 2nd edition. Elsevier Academic Press, USA.
- Peterson, J. C. (1982).** Effects of pH upon nutrient availability in a commercial soilless root medium utilized for floral crop production. Ohio State University and Ohio Research and Development Center. *Cir*, 268, 16-19.
- Prabhu, N., Borkar, S., et Garg, S. (2019).** Phosphate solubilization by microorganisms: overview, mechanisms, applications and advances. *Advances in biological science research*, 161-176.
- Prakash, N., Gupta, S., Ansari, M., Khan, Z. A., et Suneetha, V. (2012).** Production of economically important products by the use of pullulanase enzyme. *International Journal of Science Innovations and Discoveries*, 2(2), 266-273.
- Prescott MI, Harle JD, Klein DA. (2002).** *Microbiology of Food*. 5th ed. McGraw-Hill Ltd, New York, USA. pp. 964-976.
- RAI, A. (2017).** Effet du stress salin sur les bactéries du sol : rôle d'extraits dérivés de *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* et *Opuntia ficus-indica* sur la relation bactérie-Plante sous stress salin (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif).

- Ramachandran, K., Srinivasan, V., Hamza, S., et Anandaraj, M. (2007).** Phosphatesolubilizing bacteria isolated from the rhizosphere soil and its growth promotion on black pepper (*Piper nigrum* L.) cuttings. In First international meeting on microbial phosphate solubilization (pp. 325-331). Springer Netherlands.
- Ramos, B., García, J. A. L., Probanza, A., Barrientos, M. L., et Mañero, F. J. G. (2003).** Alterations in the rhizobacterial community associated with European alder growth when inoculated with PGPR strain *Bacillus licheniformis*. *Environmental and Experimental Botany*, 49(1), 61-68.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., et Deshpande, V. V. (1998).** Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(3), 597-635.
- Rashid, N., Shehzad, A., Ahmad, N., Hussain, Z., et Haider, M. S. (2018).** Valorization of waste foods using pullulan hydrolase from *Thermococcus kodakarensis*. *Amylase*, 2(1), 39-43.
- Rawls, W. J., Pachepsky, Y. A., Ritchie, J. C., Sobecki, T. M., et Bloodworth, H. (2003).** Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma*, 116(1-2), 61-76.
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., et Ashraf, M. (2019).** Microbial proteases applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 110.
- Riaz, U., Murtaza, G., Anum, W., Samreen, T., Sarfraz, M., et Nazir, M. Z. (2021).** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers and biopesticides. *Microbiota and biofertilizers: a sustainable continuum for plant and soil health*, 181-196.
- Rodríguez, H., et Fraga, R. (1999).** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319-339.
- ROGER, P., GARCIA J.L., (2001).** Introduction à la microbiologie du sol. Marseille, Université de Provence. p 193.

- Rouiller, J., Souchier, B., Bruckert, S., Feller, C., Toutain, F., et Védý, J. C. (1994).** Méthodes d'analyses des sols. *Pédologie*, 2, 619-652.
- Roy, J. K., et Mukherjee, A. K. (2013).** Applications of a high maltose forming, thermo-stable α -amylase from an extremely alkalophilic *Bacillus licheniformis* strain AS08E in food and laundry detergent industries. *Biochemical Engineering Journal*, 77, 220-230.
- Sala, O. E., Stuart Chapin, F. I. I. I., Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., ... et Wall, D. H. (2000).** Global biodiversity scenarios for the year 2100. *science*, 287(5459), 1770-1774.
- Salazar, O., et Asenjo, J. A. (2007).** Enzymatic lysis of microbial cells. *Biotechnology letters*, 29, 985-994.
- Salzer, P., Bonanomi, A., Beyer, K., Vögeli-Lange, R., Aeschbacher, R. A., Lange, J., ... et Boller, T. (2000).** Differential expression of eight chitinase genes in *Medicago truncatula* roots during mycorrhiza formation, nodulation, and pathogeninfection. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(7), 763-777.
- Sang, M. K., Jeong, J. J., Kim, J., et Kim, K. D. (2018).** Growth promotion and root colonisation in pepper plants by phosphate-solubilising *Chryseobacterium* sp. StrainISE14 that suppresses *Phytophthora* blight. *Annals of Applied Biology*, 172(2), 208-223.
- Sauer, M., Porro, D., Mattanovich, D., et Branduardi, P. (2008).** Microbial production of organic acids: expanding the markets. *Trends in biotechnology*, 26(2), 100-108.
- Schlatter, D., Fubuh, A., Xiao, K., Hernandez, D., Hobbie, S., et Kinkel, L. (2009).** Resource amendments influence density and competitive phenotypes of *Streptomyces* in soil. *Microbial ecology*, 57, 413-420.
- Scriban R. (1993).** *Biotechnologie. Technique de documentation- Lavoisier (éd.) 4* : 32- 690.
- Sharma, A., Arya, S. K., Singh, J., Kapoor, B., Bhatti, J. S., Sutte, A., et Singh, G. (2023).** Prospects of chitinase in sustainable farming and modern

biotechnology: an update on recent progress and challenges. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1-31.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., et Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus*, 2, 1-14.

Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 23, 15-22.

Singh, R., Mittal, A., Kumar, M., et Mehta, P. K. (2016). Microbial proteases in commercial applications. *J Pharm Chem Biol Sci*, 4(3), 365-374.

Sharma, S., Kumar, V., & Tripathi, R. B. (2011). Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. *Journal of microbiology and Biotechnology Research*, 1(2), 90-95.

Song, O. R., Lee, S. J., Lee, Y. S., Lee, S. C., Kim, K. K., et Choi, Y. L. (2008). Solubilization of insoluble inorganic phosphate by *Burkholderia cepacia* DA23 isolated from cultivated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 151-156.

Srividya, S., Soumya, S., et Pooja, K. (2009). Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil. *African Journal of Biotechnology*, 8(9).

Stanier R. Y., Doudoroff M., et Adelberg E. A. (1966). *Microbiologie Générale* (traduction en français), Masson et O., Paris.

Tarlera, S., Jangid, K., Ivester, A. H., Whitman, W. B., et Williams, M. A. (2008). Microbial community succession and bacterial diversity in soils during 77 000 years of ecosystem development. *FEMS microbiology ecology*, 64(1), 129-140.

Thomsen, I. K., Schjønning, P., Jensen, B., Kristensen, K., et Christensen, B. T. (1999). Turnover of organic matter in differently textured soils: II. Microbial activity as influenced by soil water regimes. *Geoderma*, 89(3-4), 199-218.

Tokeshi, M. (1993). Species abundance patterns and community structure. In *Advances in ecological research* (Vol. 24, pp. 111-186). Academic Press.

- Torsvik, V., et Øvreås, L. (2002).** Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current opinion in microbiology*, 5(3), 240-245.
- Torsvik, V., Goksøyr, J., et Daae, F. L. (1990).** High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 56(3), 782-787.
- Van Veen, J. A., van Overbeek, L. S., et van Elsas, J. D. (1997).** Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(2), 121-135.
- Vasileva-Tonkova, E., et Galabova, D. (2003).** Hydrolytic enzymes and surfactants of bacterial isolates from lubricant-contaminated wastewater. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(1-2), 87-92.
- Vessey, J. K. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255, 571-586.
- Vijayalakshmi, R., Kairunnisa, K., et Natarajan, S. (2016).** Phosphate solubilization by rhizosphere Bacteria isolated from Rose Garden soils of Satkhol, India. *J. Acad. Ind. Res*, 4, 243-245.
- Vinoth, R. S., Kanikkai, R. A., Babu, V. A., Manoj, G. T., Naman, H. S., Johnson, A. J., Infant, S. B. et Sathiyaseelan, K. (2009).** Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. *Recent. res. sci. Technol.* 1(1): 008–013.
- Wang, Y., Zhu, Y., Zhang, S., et Wang, Y. (2018).** What could promote farmers to replace chemical fertilizers with organic fertilizers? *Journal of cleaner production*, 199, 882-890.
- White, R. E. (2006).** Principles and Practice of Soil Science The soil as a Natural Resource, vol. 32.
- Wollum, A. G. (1983).** Cultural methods for soil microorganisms. *Methods of soil analysis: part 2 chemical and microbiological properties*, 9, 781-802.
- Yan, N., Marschner, P., Cao, W., Zuo, C., et Qin, W. (2015).** Influence of salinity and water content on soil microorganisms. *International soil and water conservation Research*, 3(4), 316-323.

- Yi, Q., Wu, S., Liu, Y., Chan, T. S., Lu, Y. R., Saha, N., ... et Huang, L. (2023).** Mineral weathering of iron ore tailings primed by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and elemental sulfur under contrasting pH conditions. *Science of The Total Environment*, 856, 159078.
- Zhang, K., Shi, Y., Cui, X., Yue, P., Li, K., Liu, X., ... et Chu, H. (2019).** Salinity is a key determinant for soil microbial communities in a desert ecosystem. *M systems*, 4(1), 10-1128.
- Zhang, Y., Hu, Y., An, N., Jiang, D., Cao, B., Jiang, Z., ... & Han, W. (2023).** Short-term response of soil enzyme activities and bacterial communities in black soil to a herbicide mixture: Atrazine and Acetochlor. *Applied Soil Ecology*, 181, 104652.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Appareillage Verreries, petits équipements, et consommables

Tableau 1. Appareillages utilisés.

Appareil	Marque et référence
Autoclave	WISECLAVE WACS-2060
Centrifugeuse	MAW-352R
Balance	OHAUSPIONEER SE402F
Vortex	FISHER SCIENTIFIC. Top Mix Fb 15024
PH-mètre	OHAUS STARTER 2100 / 3C F
Étuve	MEMMERT In30-32
Microscope optique	SCIOLOGEX 71211104
Bain-marie.	MEMMERT type UNB400
Appareil multiparamètres	HANNA HI 9829

Tableau 02. Verreries, petits équipements et consommables

Verreries	Petits équipements	Consommables
Entonnoir VR*	Bec bunsen.	Lames et lamelles
Fioles jaugées VR	Pissette en plastique	Écouvillon stérile
Béchers VR	Tubes à essai	Boites de Pétri.
Éprouvettes graduées VR	Portoir de tubes	Papier hygiénique
Erlenmeyers VR	Baguette en verre	Embouts 1000 et 100 µL
Pipettes graduées VR	Micropipette 1000 et 100 µL	Tubes coniques 9 mL
	Spatule	Papier aluminium
	Coupelle de pesée	Pots en plastique 30 mL
	Anse de platine	
	Pince métallique	

*VR : Volumes variables

Annexe 2. Résultats numériques détaillés des activités enzymatiques :

1. Amylase :

		Amylase									
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
MEA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BOA	1,3	0,1	0,9	0,1	0,8	0,2	0,2	0	0,1	0	
	1,5	0,2	0,6	0,2	0,4	0,4	0,3	0	0,1	0	
BOB	0,2	0,9	0	0,2	0	0,4	0,3	0,2	0	0,1	
	0,2	0,8	0	0,2	0	0,5	0,3	0,2	0	0,5	
MEB	0,2	0,4	0,1	0	0,2	0,4	0,5	0,3	0,1	0,1	
	0,2	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,6	0,3	0,1	0,1	
BOC	1	0	0	1,3	0,5	1	0,7	0,8	0,5	0,5	
	1,1	0	0	0,8	0,5	0,5	0,8	0,2	0,3	0,4	
BOD	0,3	0,1	0,2	0,6	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	
	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	

2. Estérase :

		Estérase									
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
MEA	1	0	0	0,9	1,1	0	0,7	0	0	0	
	0,9	0	0	0,4	0,7	0	0,6	0	0	0	
BOA	1,8	0	0	0	0	0,5	0,2	0	0	0,2	
	1,2	0	0	0	0	0,5	0,1	0	0	0,2	
BOB	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	
MEB	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0	
BOC	0	0,1	1,1	0	1	0,2	0,5	0	0,5	1,5	
	0	0,2	1,1	0	1,4	0,2	0,4	0	0,9	0,5	
BOD	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	
	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	

3. Lipase :

		Lipase									
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
MEA		1,2	0,7	0	0,5	0	0	1,1	0	0,2	1,1
		1	0,7	0	1	0	0	1,1	0	0,2	0,6
BOA		1,5	0	0	0	0,4	1,4	0	0,8	1,1	0
		1,6	0	0	0	0,6	1,3	0	0,7	0,9	0
BOB		0	0	0	0	0	0,5	0,5	0,4	0	0
		0	0	0	0	0	0,6	0,6	0,4	0	0
MEB		0,6	0,2	0,8	0,2	0,4	1,2	0	0,3	0,5	1
		0,6	0,1	0,6	0,2	0,3	1,1	0	0,4	0,5	0,9
BOC		0,7	0,1	0,5	1,7	0,4	0	0	0	0,9	0,2
		0,8	0,1	0,6	0,5	0,7	0	0	0	0,8	0,3
BOD		1	0	0,2	0,8	0,1	0,5	1	0,6	0,1	0,5
		0,9	0	0,3	0,7	0,5	0,5	0,8	0,4	0,6	0,9

4. Protéase :

		Protéase									
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
MEA		0,5	0	0	0	0	0	0	0,6	0	0
		0,5	0	0	0	0	0	0	1,1	0	0
BOA		0	0	0	0	0	0,4	0,1	0,2	0,3	0,4
		0	0	0	0	0	0,3	0,1	0,2	0,2	0,7
BOB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MEB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BOC		0	0,4	0	0	0,7	0	0	0	0	0,7
		0	0,5	0	0	0,7	0	0	0	0	0,6
BOD		0	0	0	0	0	0,6	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0

Résumé

Résumé

Les bactéries du sol sont très diversifiées. Leurs activités métaboliques varient d'un environnement à l'autre. Ce travail consiste à évaluer l'effet des propriétés physicochimiques de six échantillons de sol (BOA, BOB, BOC ; BOD, MEA et MEB) sur l'activité enzymatique des bactéries à partir desquels elles ont été isolées. Dans ce contexte, la conductivité électrique (EC), la matière organique totale (MOT), le contenu humide gravimétrique (Θg), le pH, le potentiel d'oxydoréduction (ORP), la résistivité, l'oxygène dissous (DO) et la conductivité électrique (CE) de chaque échantillon ont été déterminés. Par la suite, dix isolats bactériens ont été purifiés à partir de chaque échantillon de sol. Chaque isolat a été testé pour sa capacité à produire les enzymes suivantes : estérase, lipase, amylase, protéase, cellulase, chitinase et phosphatase. La corrélation entre les paramètres physicochimiques de six échantillons de sol et les activités enzymatiques des bactéries a été déterminée à travers la matrice de corrélation (*Pearson*). En fin, Les deux isolats solubilisatrices de phosphate (BOA2 et BOB3) ont été testés pour leur capacité à stimuler la croissance du poivron sur un sol calcaire en présence du phosphate tricalcique. Les résultats montrent que de nombreuses paramètres physicochimiques des sols étudiés sont corrélés aux activités enzymatiques bactériennes et que l'isolat BOB3 peut être utilisé comme un agent biostimulant de la croissance du poivron à travers la solubilisation des sources de phosphate inassimilables dans le sol.

Mots clés : Agriculture, Corrélation, Diversité, Enzymes, Matière organique.

Abstract

Soil bacteria are highly diversified. Their metabolic activities vary among environments. Herein, we evaluate the effect of the physicochemical properties of six soil samples (BOA, BOB, BOC; BOD, MEA and MEB) on the enzymatic activity of 60 bacteria from which they were isolated. In this context, electrical conductivities (EC), total organic matter (MOT), gravimetric wet content (Θg), pH, redox potential (ORP), resistivity, dissolved oxygen (DO) and electrical conductivity (EC) of each sample was determined. Subsequently, 10 bacterial isolates were purified from each soil sample. Each isolate was tested for its ability to produce the following enzymes: esterase, lipase, amylase, protease, cellulase, chitinase and phosphatase. The correlation between the physicochemical parameters of the six soil samples and the enzymatic activities of the bacteria was determined through the correlation matrix (Pearson). Finally, the two phosphate solubilizing isolates (BOA2 and BOB3) were tested for their ability to stimulate pepper growth under calcareous soil in presence of tricalcium phosphate. The results show that many physicochemical parameters of the studied soils are correlated with the bacterial enzymatic activities and that BOB3 can be used as a biostimulating agent for pepper growth through unassimilable-phosphate solubilization in soil.

Keywords: Agriculture, Correlation, Diversity, Enzymes, Organic matter.

المخلص

بكتيريا التربة متنوعة للغاية. تختلف أنشطتها الأيضية بين البيئات. هنا، نقوم بتقييم تأثير الخواص الفيزيائية والكيميائية لستة عينات من التربة (BOA، BOB، BOC، BOD، MEA و MEB) على النشاط الأنزيمي لـ 60 بكتيريا تم عزلها منها. في هذا السياق، تم تحديد الموصلية الكهربائية (EC)، والمادة العضوية الكلية (MOT)، والمحتوى الرطب الوزني (Θg)، ودرجة الحموضة، واحتمال الأكسدة والاختزال (ORP)، والمقاومة، والأكسجين المذاب (DO) والتوصيل الكهربائي (EC) لكل عينة. بعد ذلك تم تنقية 10 عزلات بكتيرية من كل عينة تربة. تم اختبار قدرة كل عينة على إنتاج الإنزيمات التالية: الاستريز، الليباز، الأميليز، البروتياز، السليوليز، الكيتيناز والفوسفاتيز. تم تحديد العلاقة بين المعايير الفيزيائية والكيميائية لعينات التربة الستة والنشاط الأنزيمي للبكتيريا من خلال مصفوفة الارتباط (بيرسون). وأخيراً، تم اختبار العزلتين المذيبتين للفوسفات (BOA2 و BOB3) لدراسة قدرتهما على تحفيز نمو الفلفل تحت التربة الجيرية بوجود فوسفات ثلاثي الكالسيوم. أظهرت النتائج أن العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية للتربة المدروسة ترتبط بالأنشطة الأنزيمية البكتيرية وأن BOB3 يمكن استخدامها كعامل محفز حيوي لنمو الفلفل من خلال إذابة الفوسفات غير القابل للامتصاص في التربة.

الكلمات المفتاحية: الزراعة، الارتباط، التنوع، الإنزيمات، المادة العضوية.