



Remerciements

Au terme de ce parcours universitaire, nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

*Nos plus vifs remerciements s'adressent tout d'abord à notre encadrante, mme. **SIDHOUM Warda**, pour sa patience, sa disponibilité constante, ses précieux conseils et la rigueur scientifique qu'elle nous a transmise tout au long de ce projet.*

Nous adressons notre gratitude respectueuse aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et de nous faire l'honneur de présider et d'examiner cette soutenance. Leurs remarques seront d'une valeur inestimable pour enrichir cette étude.

Nous tenons à exprimer une reconnaissance mutuelle pour notre collaboration : ce travail est le fruit d'un esprit d'équipe exceptionnel, d'une motivation sans faille et d'un soutien partagé à chaque étape de notre parcours.

Nous exprimons également notre reconnaissance à l'ensemble des enseignants de la faculté pour la qualité de leur formation et le savoir qu'ils nous ont partagé durant tout notre cursus universitaire.

Un remerciement tout particulier s'adresse aux techniciens du laboratoire de microbiologie pour leur aide précieuse, leur accueil chaleureux et les excellentes conditions de travail qu'ils nous ont fournies lors de nos manipulations.

Enfin, nous tenons à remercier chaleureusement tous les invités qui nous font l'honneur d'être présents aujourd'hui pour partager avec nous ce moment si important.



Dédicace

Je dédie ce travail :

À ma famille, mon repère et ma force

À toi, Papa, qui m'as appris à regarder vers l'avenir avec ambition et intégrité.

À toi, Maman, dont la présence et les douces prières ont été le moteur de ma réussite. Vous êtes mes modèles de vie.

À ma précieuse grand-mère,

Pour la chaleur de ton cœur, tes récits et tes bénédictions qui m'accompagnent au quotidien. Tu occupes une place unique dans ma vie.

À mes frères,

Pour votre fraternité, vos encouragements et l'énergie positive que vous m'apportez au quotidien. Que notre lien reste à jamais notre plus grande force.



Oumnia

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes très chers parents, qui ont toujours été présents à mes côtés et qui m'ont soutenu

durant tout mon parcours universitaire. Votre amour, vos sacrifices et votre confiance ont été

une source permanente de motivation.

À mes frères, ma sœurs et tous les membres de ma famille pour leur soutien et leurs encouragements.

À ma camarade de travail et très chère amie oumnia, pour son aide, sa compréhension et sa présence durant la réalisation de ce travail.

À mes amis ainsi qu'à tous mes collègues de la promotion Microbiologie fondamentale.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dafila.



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Abstract

ملخص

Partie bibliographique

Introduction.....	1
1.1. Généralités sur les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)	6
1.2. Biodiversité des PGPR dans la rhizosphère.....	7
1.3. Mécanismes d'action des PGPR sur les plantes	8
1.4. Les étapes d'établissement de l'association plantes / micro-organismes telluriques.....	9
1.4.1. Le chimiotactisme et la reconnaissance moléculaire (L'attraction)	10
1.4.2. L'attachement initial et l'adhésion à la surface racinaire (Le point d'ancrage).....	11
1.4.3. La prolifération locale et la formation du biofilm (La colonisation stable).....	11
2. Maladies cryptogamiques des Cucurbitacées (<i>Cucumis sativus</i>)	12
2.1. Généralités sur <i>Cucumis sativus</i> et ses contraintes phytosanitaires	12
2.2. Classification taxonomique et positionnement systématique	12
2.3. Description botanique et exigences écophysiologiques	13
2.4. Importance économique, agronomique et valorisation	14
2.5. Le complexe des maladies cryptogamiques chez <i>Cucumis sativus</i>	15
2.5.1. Impact des infections fongiques sur la culture	15
2.5.3. Principaux agents phytopathogènes fongiques du concombre et leurs facteurs favorisants.....	16
2.5.3.1. Cas de l'alternariose du concombre (<i>Alternaria</i> sp.).....	16
2.5.3.1.1. Symptomatologie	16
2.5.3.1.2. Cycle de vie et facteurs favorisants.....	17
2.5.3.2. Cas du dépérissement causé par <i>Diaporthe ambigua</i> (<i>Phomopsis</i> sp.).....	17
2.5.3.2.1. Symptomatologie.....	17
2.5.3.2.2. Cycle de vie et facteurs favorisants	19
2.5.4. Réponses de la plante aux attaques des phytopathogènes fongiques	19
2.5.4.1. Les barrières structurales constitutives et histologiques préexistantes.....	19

2.5.4.2. Perception moléculaire et activation des cascades de signalisation intracellulaire	20
2.5.4.3. Réponses biochimiques induites, synthesis de phytoalexines et protéines PR.....	21
2.5.4.4. Modulation de l'immunité systémique par les PGPR : Mécanismes de l'ISR	22
3. Méthodes de lutte contre les maladies	23
3.2.1. Lutte chimique	23
3.2.2. Lutte culturale.....	23
3.2.3. Lutte physique.....	24
3.2.4. Lutte biologique et biocontrôle	24
3.2.4.1. Bactéries endophytes et leur rôle dans le biocontrôle.....	24
3.2.4.2. <i>Bacillus</i> comme agent de lutte.....	25
1. Matériel	31
1.1. Matériel biologique	31
1.2. Matériel non biologique.....	31
2. Méthodes	31
2.1. Phase de revivification des souches	32
2.2. Caractérisation bactérienne et confirmation de sa pureté	32
2.3. Coloration des spores.....	32
2.5. Caractéristiques physiologiques de la bactérie.....	32
2.5.1. Test d'hydrolyse de l'amidon.....	32
2.5.2. Test de tolérance au sel.....	33
2.6. Évaluation du potentiel antifongique de la bactérie <i>Invitro</i>	33
2.6.1. Évaluation du potentiel antifongique par test de confrontation directe	33
2.6.2. Évaluation du potentiel antifongique de l'extrait de la bactérie.....	33
2.6.2.1. Extraction des métabolites secondaires de la bactérie.....	33
2.7. Etude du potentiel de bio-contrôle de <i>Bacillus sp</i> <i>Invivo</i> sur culture de concombre infectée par <i>Alternaria sp</i> et <i>Diaporthe sp</i>	35
2.7.1. Désinfection superficielle des graines	35
2.7.2. Mise en pot : préparation du substrat de culture.....	36
2.7.3. Préparation de l'inoculum bactérien et inoculation des semences	37
2.7.4. Évaluation de la sévérité des symptômes de la maladie.....	38
1. Résultats	40
1. Phase de revivification des souches	40
1.1 Caractérisation bactérienne et confirmation de sa pureté	40
1.3. Coloration des spores.....	41
1.2. Caractérisation des souches fongiques et confirmation de leur pureté.....	42
1.2.1. Caractérisation macroscopique des isolats fongiques.....	42

1.2.2.Caractérisation micromorphologique des espèces fongiques.....	43
1.3. Caractéristiques physiologiques de la bactérie.....	45
1.3.1. Test de catalase.....	45
1.3.2. Test d'hydrolyse de l'amidon.....	46
1.3.3. Test de tolérance au sel.....	47
2. Evaluation du potentiel antagoniste de la bactérie <i>Invitro</i>	48
2.1. Evaluation du potentiel antagoniste par test de confrontation directe	48
2.2. Evaluation du potentiel antagoniste de l'extrait de la bactérie.....	50
3.Étude du potentiel de bio-contrôle de <i>Bacillus</i> sp. sur culture de concombre infectée par <i>Alternaria</i> sp. et <i>Diaporthe</i> sp.	51
2.Discussion.....	54
Conclusion	57
Références bibliographiques	
Annexes	

Résumé

Les maladies phytopathogènes fongiques représentent une contrainte majeure pour la culture du concombre, provoquant d'importantes pertes de rendement et de qualité. Face aux limites de la lutte chimique et à ses impacts environnementaux, le biocontrôle par les bactéries endophytes apparaît comme une alternative durable et prometteuse.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet *in vitro* et *in vivo* d'une souche bactérienne appartenant au genre *Bacillus* sur le développement de deux champignons phytopathogènes : *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. L'étude a débuté par la revivification et la caractérisation de la souche bactérienne à travers l'observation morphologique, la coloration de Gram, la coloration des spores ainsi que plusieurs tests biochimiques et physiologiques (catalase, hydrolyse de l'amidon et tolérance au sel).

L'évaluation du potentiel antagoniste de *Bacillus* a été réalisée par confrontation directe sur milieu gélosé ainsi qu'à travers l'utilisation d'extraits de métabolites secondaires. Les résultats ont montré une inhibition significative de la croissance mycélienne des deux agents pathogènes avec des taux d'inhibition de **22,5 % pour *Alternaria* sp.** et de **37,5 % pour *Diaporthe* sp.** traduisant un fort pouvoir antifongique. Les essais *in vivo* sur plants de concombre ont également révélé une réduction de la sévérité de la maladie chez les plants traités par la bactérie comparativement aux témoins infectés. Cette protection s'est traduite par une diminution du taux de sévérité de 85 % à 17 % face à *Alternaria*, et de 60 % à 4 % face à *Diaporthe* sp. Ces résultats confirment le potentiel de *Bacillus* comme agent biologique efficace dans la protection du concombre contre les maladies cryptogamiques.

En conclusion, cette étude met en évidence l'intérêt des bactéries endophytes dans les stratégies de lutte biologique et souligne leur potentiel pour une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement.

Mots-clés :

Biocontrôle ; *Bacillus* ; Endophytes bactériens ; *Alternaria* sp. ; *Diaporthe* sp. ; Maladies phytopathogènes.

Abstract

Fungal phytopathogenic diseases represent a major constraint for cucumber cultivation, causing significant losses in yield and quality. Given the limitations of chemical control and its environmental impacts, biocontrol using endophytic bacteria emerges as a sustainable and promising alternative.

The objective of the present study was to evaluate the *in vitro* and *in vivo* effects of a bacterial strain belonging to the genus *Bacillus* on the development of two phytopathogenic fungi: *Alternaria* sp. and *Diaporthe* sp. The study began with the revival and characterization of the bacterial strain through morphological observation, Gram staining, spore staining, as well as several biochemical and physiological tests (catalase, starch hydrolysis, and salt tolerance).

The evaluation of the antagonistic potential of *Bacillus* was carried out by direct confrontation on agar medium as well as through the use of secondary metabolite extracts. The results showed a significant inhibition of the mycelial growth of both pathogens, with inhibition rates of 22.5% for *Alternaria* sp. and 37.5% for *Diaporthe* sp., reflecting a strong antifungal activity. *In vivo* trials on cucumber plants also revealed a reduction in disease severity in bacteria-treated plants compared to the infected controls. This protection resulted in a decrease in the severity rate from 85% to 17% against *Alternaria*, and from 60% to 4% against *Diaporthe* sp. These results confirm the potential of *Bacillus* as an effective biological agent in protecting cucumber against fungal diseases.

In conclusion, this study highlights the value of endophytic bacteria in biological control strategies and underscores their potential for a more sustainable and environmentally friendly agriculture.

Keywords:

Biocontrol; *Bacillus*; Bacterial endophytes; *Alternaria* sp.; *Diaporthe* sp.; Phytopathogenic diseases.

ملخص

تُشكل الأمراض الفطرية النباتية عائقاً رئيسياً أمام زراعة الخيار، مما يتسبب في خسائر فادحة في الإنتاج والجودة. وفي ظل المحدودية التي تواجهها مكافحة الكيمائية وآثارها البيئية السلبية، تبرز المكافحة الحيوية باستخدام البكتيريا الداخلية (Endophytes) كبديل مستدام وواعد.

يهدف هذا العمل إلى تقييم التأثير المختبري (*in vitro*) والحي (*in vivo*) لسلالة بكتيرية تنتمي إلى جنس *Bacillus* على نمو نوعين من الفطريات النباتية الممرضة *Alternaria sp.* و *Diaporthe sp.* وقد بدأت الدراسة بإحياء السلالة البكتيرية وتوصيفها من خلال الملاحظة المرفولوجية (الشكلية)، وتلوين غرام، وتلوين الأبواغ، بالإضافة إلى العديد من الاختبارات البيوكيميائية والفيزيولوجية (اختبار الكاتالاز، وتحلل النشا، وتحمل الملوحة).

وتم تقييم القدرة التضادية لبكتيريا *Bacillus* عن طريق المواجهة المباشرة على وسط مغذٍ صلب (جبروز)، وكذلك باستخدام مستخلصات الأيض الثانوي (Secondary metabolites) وأظهرت النتائج تثبيطاً معنوياً للنمو الميسيليومي لكلا العاملين الممرضين، حيث بلغت نسب التثبيط 22.5% بالنسبة لـ *Alternaria sp.* و 37.5% بالنسبة لـ *Diaporthe sp.*، مما يعكس قدرة عالية مضادة للفطريات. كما كشفت التجارب الحية على نباتات الخيار عن انخفاض في شدة المرض لدى النباتات المعالجة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات الشاهدة المصابة. وتجلت هذه الحماية في انخفاض معدل شدة المرض من 85% إلى 17% في مواجهة *Alternaria*، ومن 60% إلى 4% في مواجهة *Diaporthe sp.* وتؤكد هذه النتائج إمكانية استخدام بكتيريا *Bacillus* كعامل حيوي فعال في حماية الخيار من الأمراض الفطرية.

في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية البكتيريا الداخلية في استراتيجيات المكافحة الحيوية، وتؤكد على إمكاناتها الواعدة من أجل زراعة أكثر استدامة وصداقة للبيئة.

الكلمات المفتاحية:

المكافحة الحيوية؛ *Bacillus*؛ البكتيريا الداخلية؛ *Alternaria sp.*؛ *Diaporthe sp.*؛ الأمراض النباتية الممرضة.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: position taxonomique et classification systématique du genre <i>Bacillus</i>	25
Tableau 2: Caractéristiques morphologiques macroscopiques de <i>Bacillus</i> sp.....	40
Tableau 3: Caractéristiques macroscopiques des souches fongiques <i>Alternaria</i> sp. et <i>Diaporthe</i> sp.	43
Tableau 4: Suivi temporel de la croissance et de la sévérité des maladies sur des plants de concombre après inoculation avec <i>Bacillus</i> sp. et des isolats phytopathogènes (<i>Alternaria</i> sp. et <i>Diaporthe</i> sp.)...	51
Tableau 5 : Liste des milieux de culture, réactifs chimiques et colorants	74
Tableau 6 : Principaux équipements et consommables utilisés	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1: les composantes de la rhizosphère (Hakim et al., 2021)	5
Figure 2 : Représentation schématique des mécanismes d'exsudation racinaire impliqués dans le recrutement des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (PGPR) et de leurs modes d'action directs et indirects (Upadhyay et al., 2022) .PS matter : Matière photosynthétique ; REx : Exsudats racinaires ; SC : Composés sélectionnés ; QS : Quorum sensing ; AHLs, AIP, AI-2 : Molécules de signalisation bactérienne (Acyl-homosérine lactones, peptides auto-inducteurs, auto-inducteur 2) ; ISR : Résistance systémique induite.....	10
Figure 3 : Présentation conceptuelle des modifications des caractéristiques racinaires médiées par les PGPR et de leurs effets correspondants sur la croissance végétale et le fonctionnement de l'écosystème (Grover et al., 2021a), ...	12
Figure 4: Culture de concombre (<i>Cucumis sativus</i> L.) conduite sous serre tunnel en Algérie (Source : Illustration de culture sous serre, 2026)	15
Figure 5: Taches nécrotiques circulaires et cernes concentriques typiques de l'alternariose causée par <i>Alternaria</i> spp. sur le limbe foliaire de concombre. (Source : Banque d'images phytopathologiques / Illustration numérique, 2026).....	17
Figure 6: Chlorose marginale et début de nécrose des tissus foliaires d'un concombre (<i>Cucumis sativus</i>) infecté par le genre <i>Diaporthe</i> (Source : Banque d'images phytopathologiques / Illustration numérique, 2026).	18
Figure 7: Représentation schématique des mécanismes d'attraction, de chimiotactisme et de colonisation racinaire chez les souches de <i>Bacillus</i> utilisées en biocontrôle (N. Zhang et al., 2023)....	28
Figure 8: Principales étapes de la désinfection superficielle des graines de concombre. (A.B : Immersion dans l'eau de javel sous agitation continue . C : rinçage successifs. D : Séchage sur papier filtre stérile.). Source : Cliché personnel (2026).	36
Figure 9: Étapes de préparation du substrat de culture et mise en pot. (A) Aperçu macroscopique du substrat de culture composé d'un mélange de terreau et de sable de rivière (proportions 2:1 v/v) ; (B) Disposition d'une couche uniforme de gravier au fond des pots de culture pour assurer un drainage optimal ; (C) Remplissage progressif des pots avec le mélange de substrat stérilisé ; (D) Lot complet de pots prêts pour l'expérimentation après un cycle de stérilisation par autoclavage répété trois fois à 121 °C pendant 20 minutes (à 24 heures d'intervalle). Source : Cliché personnel (2026).	37
Figure 10: Aspect macroscopique de <i>Bacillus</i> sp. après 48 h d'incubation à 37°C sur milieu Gélose Nutritive. (a) Vue d'ensemble de la boîte de culture ; (b) Zoom sur l'aspect blanchâtre et les contours irréguliers des colonies. Source : Cliché personnel (2026).	40
Figure 11: Morphologie microscopique de la souche de <i>Bacillus</i> sp. observée au microscope optique (G × 100, immersion). (a) Vue d'ensemble montrant des bacilles organisés en amas ou courtes chaînes ; (b) Zoom mettant en évidence le caractère Gram-positif (coloration violette) et la présence d'endospores intracellulaires réfringentes (zones claires). Source : Cliché personnel (2026).	41
Figure 12: Observation microscopique des spores libres de la souche <i>Bacillus</i> sp. (G × 100, immersion). (a) Vue d'ensemble montrant un tapis dense de spores individualisées après lyse cellulaire ; (b) Zoom sur la structure ovalaire et la forte réfringence des endospores caractéristiques du genre <i>Bacillus</i> sp. Source : Cliché personnel (2026).	42
Figure 13: Morphologie macroscopique des colonies d' <i>Alternaria</i> sp. (à gauche) et <i>Diaporthe</i> sp. (à droite) cultivées sur milieu PDA. Source : Cliché personnel (2026).	43
Figure 14: Observation microscopique (G × 100) du mycélium de <i>Diaporthe</i> sp. La flèche indique les hyphes mycéliens ramifiées et cloisonnées formant le réseau végétatif, et le cercle noir délimite une zone d'agrégation des Cellules conidiogènes. Source : Cliché personnel (2026).	44

Figure 15: Observation microscopique ($G \times 100$) du conidiophore d' <i>Alternaria</i> sp. La micrographie montre des conidies pluricellulaires, brunes, présentant un cloisonnement muriforme typique (transversal et longitudinal). Source : Cliché personnel (2026).....	45
Figure 16: Mise en évidence de l'activité catalasique de la souche <i>Bacillus</i> sp. par dépôt d'une colonie bactérienne sur du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 10 volumes). Source : Cliché personnel (2026)...	46
Figure 17: Test d'hydrolyse de l'amidon positif chez la souche <i>Bacillus</i> sp. mis en évidence par le soluté de Lugol. Source : Cliché personnel (2026).....	47
Figure 18: Croissance de la souche <i>Bacillus</i> sp. sur milieu contenant 1,5 % de NaCl. Source : Cliché personnel (2026).	48
Figure 19: Activité antagoniste in vitro de la souche <i>Bacillus</i> sp. vis-à-vis des deux isolats fongiques pathogènes. (A) Confrontation directe avec <i>Alternaria</i> sp. (Témoin en haut, Confrontation en bas). (B) Confrontation directe avec <i>Diaporthe</i> sp. (Témoin en bas, Confrontation en haut). Source : Cliché personnel (2026).	49
Figure 20: Évaluation de l'activité antifongique de l'extrait brut de <i>Bacillus</i> sp. par la méthode des disques. (A) Face à <i>Alternaria</i> sp. . (B) Face à <i>Diaporthe</i> sp. Source : Cliché personnel (2026).	50
Figure 21: Comparaison de l'état foliaire de plants de concombre infectés et sains. (A) Plante infectée par <i>Diaporthe</i> , (B) Plante infectée par <i>Alternaria</i> , (C) Plante saine (Témoin). Source : Cliché personnel (2026).....	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AIA : Acide Indole-3-Acétique (Phytohormone de croissance végétale)

API : Analytical Profile Index (Galerie standardisée d'identification biochimique)

ARN : Acide Ribonucléique

ARNr 16S : Acide Ribonucléique ribosomal 16S (Marqueur phylogénétique bactérien)

CLHP / HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

CM: Centimètre

DO : Densité Optique (ou Absorbance)

PDA : Potato Dextrose Agar

PIRG : Taux d'Inhibition du Rayon de Croissance (Percentage Inhibition of Radial Growth)

UFC : Unité Formant Colonie

INTRODUCTION

Introduction

Face au défi de la sécurité alimentaire mondiale, augmenter les rendements agricoles est devenu une priorité absolue (**Savary et al., 2019**). Parmi les cultures maraîchères les plus importantes, le concombre (*Cucumis sativus* L.) occupe une place significative en raison de sa valeur économique, de sa large consommation et de ses qualités nutritionnelles. En Algérie, la culture du concombre sous serre s'est considérablement développée afin d'assurer un approvisionnement régulier des marchés tout au long de l'année.

Toutefois, les conditions particulières régnant sous serre, caractérisées par des températures relativement élevées et une forte humidité, favorisent le développement de nombreuses maladies cryptogamiques susceptibles d'affecter la croissance et la productivité des cultures (**Dean et al., 2012**). Parmi les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés figurent les espèces du genre *Alternaria*, responsables de l'alternariose foliaire, une maladie largement répandue chez de nombreuses cultures maraîchères (**Thomma, 2003**). D'autres champignons appartenant au genre *Diaporthe* sont également associés à diverses maladies des tiges, du collet et des racines chez plusieurs espèces végétales cultivées (**Udayanga et al., 2011**).

Pendant plusieurs décennies, la gestion de ces maladies a reposé principalement sur l'utilisation intensive de pesticides chimiques de synthèse. Bien que ces produits assurent souvent une protection efficace à court terme, leur emploi excessif engendre des conséquences néfastes sur l'environnement et la santé humaine. En effet, les résidus de pesticides peuvent contaminer les sols, les eaux souterraines et les écosystèmes environnants (**Nicolopoulou-Stamati et al., 2016**). Par ailleurs, leur utilisation répétée favorise l'apparition de populations de pathogènes résistantes aux substances actives employées (**Fisher et al., 2018**). Face à ces limites, le développement de stratégies de lutte alternatives fondées sur le biocontrôle apparaît comme une solution prometteuse dans le cadre d'une agriculture durable (**Aktar et al., 2009**).

Dans ce contexte, la rhizosphère, définie comme la zone du sol directement influencée par les racines des plantes, fait l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de son rôle essentiel dans les interactions plante-microorganismes (**Berendsen et al., 2012**). Cette niche écologique complexe héberge un microbiome diversifié qui contribue au développement, à la nutrition et à la protection des végétaux (**Berg et al., 2014**). Les relations entre les plantes et leurs communautés microbiennes se sont construites au cours de l'évolution et sont aujourd'hui

considérées comme fondamentales pour le fonctionnement des écosystèmes terrestres (Delaux & Schornack, 2021a). Cette interdépendance a conduit à l'émergence du concept d'« holobionte », selon lequel la plante et son microbiome forment une entité biologique intégrée (**Ryan et al., 2015**).

Au sein de ce microbiome, les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR, *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) jouent un rôle particulièrement important. Ces microorganismes sont recrutés dans la rhizosphère grâce aux composés libérés par les racines et établissent des interactions bénéfiques avec leur hôte. Les PGPR favorisent la croissance végétale par différents mécanismes, notamment la production de phytohormones, l'amélioration de l'assimilation des nutriments et la stimulation des défenses naturelles des plantes. Elles participent également à la protection contre les agents pathogènes par divers mécanismes de compétition et d'antagonisme biologique (W. Wang et al., 2022).

Parmi les bactéries utilisées en biocontrôle, les espèces du genre *Bacillus* figurent parmi les plus étudiées et les plus prometteuses (**Fira et al., 2018**). Leur capacité à former des endospores leur permet de résister à des conditions environnementales défavorables et facilite leur production sous forme de biopesticides. Les souches de *Bacillus* exercent leur activité antagoniste par plusieurs mécanismes, notamment la compétition pour les ressources, la production de métabolites antimicrobiens, la sécrétion d'enzymes hydrolytiques ainsi que l'induction de la résistance systémique chez les plantes (**Zheng et al., 2025**).

Dans cette perspective, le présent travail vise à évaluer le potentiel de biocontrôle d'une souche bactérienne locale de *Bacillus* sp. contre des agents phytopathogènes affectant le concombre, notamment *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.

Pour atteindre cet objectif, trois axes principaux ont été retenus :

- la caractérisation phénotypique et biochimique de *Bacillus* sp., incluant l'étude de sa morphologie cellulaire ainsi que son comportement face au stress salin ;
- l'évaluation de son activité antifongique in vitro par des essais de confrontation directe sur milieu gélosé et par l'étude de l'activité d'extraits bactériens ;
- la validation de son efficacité in vivo sous serre à travers l'analyse de la croissance des plants de concombre et l'évaluation de la sévérité des symptômes à l'aide de l'indice de McKinney (1923).

Enfin, ce mémoire est structuré en deux parties principales. La première est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur le microbiome végétal, les PGPR, les bactéries du genre *Bacillus* et les principales maladies du concombre. La seconde présente le matériel biologique utilisé, les méthodes expérimentales mises en œuvre ainsi que les résultats obtenus et leur discussion.

1. Microbiome végétal

Le microbiome des plantes est une composante essentielle de l'organisme hôte et est, de ce fait, de plus en plus considéré comme un élément crucial pour la croissance, le développement et la santé globale de la végétation. Un nombre croissant de preuves et de travaux scientifiques récents démontre que la rhizosphère végétale exerce une force d'attraction active sur les microorganismes bénéfiques présents dans le sol environnant. Ce recrutement ciblé permet d'établir une véritable barrière de protection biologique autour du système racinaire. En colonisant massivement cet espace, ces communautés microbiennes bénéfiques entrent en compétition directe avec les micro-organismes néfastes, limitant ainsi l'accès aux nutriments et aux sites de fixation. De plus, par le biais de mécanismes de biocontrôle complexes tels que la production de métabolites secondaires ou d'antibiotiques, ces alliés microbiens parviennent à inhiber efficacement le développement et la propagation des agents pathogènes redoutés du sol (Gao *et al.*, 2021).

Ce dernier est composé d'une communauté de micro-organismes qui s'associent et interagissent avec une plante hôte, notamment des bactéries, des archées, des champignons, des virus, des protozoaires, des algues et des nématodes (Lyu *et al.*, 2021).

Les microorganismes hérités sont des microorganismes transmis à la plante au moment de la colonisation initiale. Ils peuvent provenir du sol environnant, de la semence elle-même ou encore des résidus végétaux présents dans l'environnement, et plus généralement du microbiome acquis lors des toutes premières phases de la croissance végétale. Ils possèdent la capacité de coloniser progressivement les différents compartiments de la plante. Ainsi, la constitution progressive de cette communauté microbienne provoque des changements dynamiques et des fluctuations dans la répartition des espèces, jusqu'à l'obtention, dans chaque compartiment spatial, de compositions équilibrées pouvant atteindre un état stable (Cordovez *et al.*, 2019). La défense contre les agents pathogènes et le maintien des interactions bénéfiques s'appuient sur l'ensemble des systèmes de défense de la plante préservés et propres à certains groupes phylogénétiques, évoluant à des rythmes distincts (Delaux et Schornack, 2021).

Ces interactions entre les plantes et les microorganismes sont nommées l'holobionte par les scientifiques (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2015), dans cette théorie, l'évolution des holobiontes pourrait causer des variations, que ce soit dans l'hôte ou dans les génomes microbiotiques, en tant qu'unité des processus de sélection et d'adaptation.

En outre, il y'en a plusieurs compartiments du microbiome consiste à :le sol, la rhizosphère, la rhizoplane ,l'endosphère , la partie aérienne de la plante (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2015), tout commence par le **sol brut**, qui correspond à la matrice terreuse non influencée par la plante ; il représente le réservoir initial et la source majeure de diversité microbienne. Juste à sa frontière se trouve la **rhizosphère**, qui désigne la fine zone de sol directement soumise à l'influence biologique des racines et de leurs sécrétions, notamment les exsudats racinaires qui attirent les microbes. Plus près encore, la **rhizoplane** représente la surface physique externe de la racine, constituant un espace d'ancrage crucial pour la formation de biofilms microbiens. En pénétrant à l'intérieur de l'organisme végétal, on accède à l'**endosphère**, un compartiment qui englobe l'ensemble des tissus internes de la plante (comme l'intérieur des racines, des tiges ou des feuilles) où résident des microorganismes symbiotiques ou bénéfiques appelés endophytes. Enfin, le compartiment hors-sol, communément appelé la **phyllosphère**, regroupe toutes les parties aériennes de la plante, principalement la surface des feuilles, qui est directement exposée aux variations climatiques et environnementales externes. Également, la rhizosphère est la partie de la plante la plus intéressante aussi divisée en plusieurs parties, voir (**figure 1**)

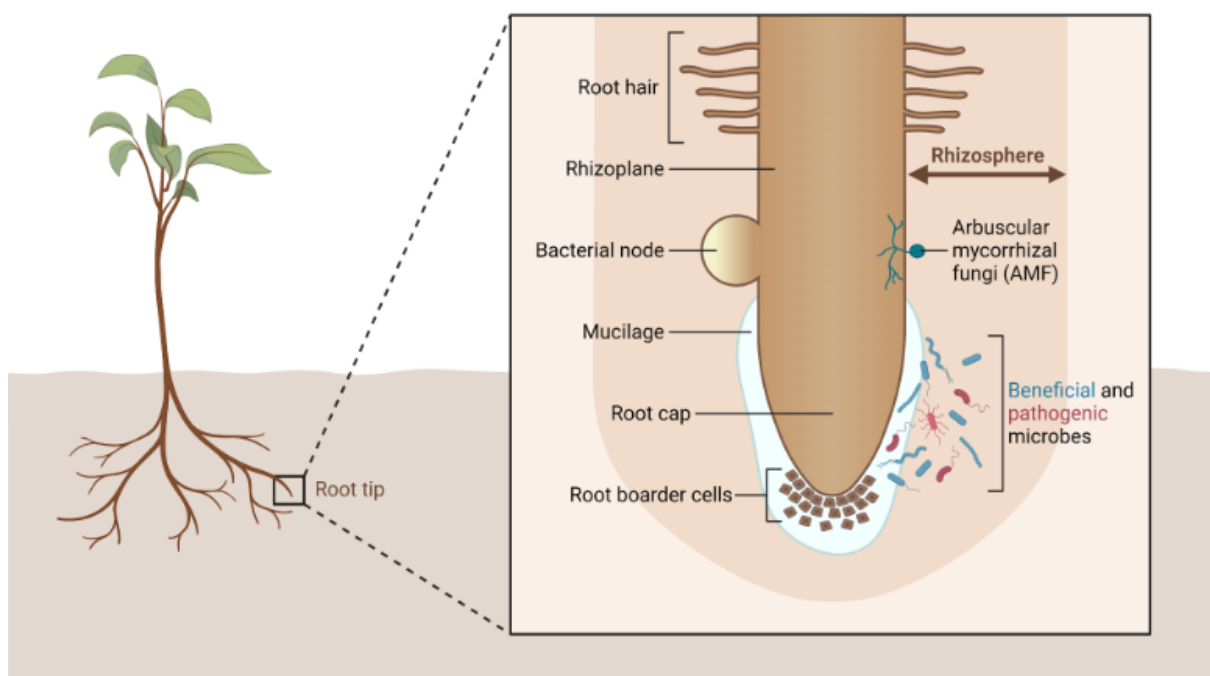


Figure 1: les composantes de la rhizosphère (Hakim *et al.*, 2021)

La figure illustre la structure de la racine d'une plante, mettant en évidence ses différentes parties telles que le poil racinaire, la zone de la racine, la coiffe racinaire, et la zone

de la rhizosphère. Elle montre également les interactions avec divers microorganismes, notamment les bactéries fixatrices d'azote et les champignons mycorhiziens, qui jouent un rôle clé dans l'absorption des nutriments et la santé de la plante ainsi que des phytopathogènes et opportunistes qui infectent la plante. Ces éléments illustrent la complexité et l'importance des relations entre la racine et son environnement microbien pour la croissance végétale.

1.1. Généralités sur les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Le sol constitue une véritable ressource agricole, essentielle à la production alimentaire et au maintien des rendements naturels, notamment grâce à la formidable diversité microbienne qu'il abrite en son sein. Ces dernières années, pour répondre aux défis d'une production plus durable, l'essor de l'agriculture biologique et raisonnée a mis en lumière l'utilisation de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, communément appelées PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Ces bactéries sont aujourd'hui au cœur des stratégies de pointe, servant à la fois d'agents de biocontrôle pour protéger les cultures et de stimulants naturels pour booster le développement des végétaux. Historiquement, le concept des PGPR rassemble l'ensemble des micro-organismes capables de coloniser activement la zone racinaire et de stimuler directement ou indirectement le développement de leur plante hôte (Kloepper et Schroth, 1978).

Cependant, toutes les PGPR n'agissent pas de la même manière ni au même endroit. Leur efficacité dépend intrinsèquement de leur zone de colonisation préférentielle autour ou dans la racine, ainsi que de la force et de l'intimité de l'interaction qu'elles nouent avec la plante. En clair, certaines bactéries préfèrent rester à l'extérieur dans le sol environnant ou s'accrochant à la surface des racines, où elles profitent des exsudats racinaires tout en libérant leurs composés bénéfiques. D'autres, en revanche, développent une relation beaucoup plus fusionnelle et intime avec le végétal : elles parviennent à pénétrer à l'intérieur même des tissus de la racine pour s'y installer confortablement, ce qui leur offre une protection idéale et un accès direct aux nutriments de l'hôte. Ce sont précisément ces nuances dans le mode de vie, le degré de proximité et l'emplacement physique de la bactérie qui conduisent les scientifiques à structurer et à classer les PGPR en deux grands groupes principaux :

-(ePGPR) extracellulaires distribuées au sein de la rhizosphère, à la surface du rhizoplan ou au niveau des intercellulaires du cortex racinaire.

-(iPGPR) intracellulaire, qui colonisent l'intérieur des tissus racinaires, principalement au sein de structures nodulaires spécialisées. Ce groupe inclut notamment les genres *Rhizobium* et *Frankia*, tous deux capables de fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les plantes supérieures (Gray et Smith, 2005).

Selon la classification fonctionnelle établie dans la littérature, ces bactéries agissent via deux mécanismes principaux : une promotion directe, par la fourniture de nutriments ou de régulateurs de croissance, et une promotion indirecte, qui repose sur l'atténuation des pressions exercées par les agents phytopathogènes (Glick, 1995). Cette définition inclut un large spectre d'interactions, allant des fixateurs d'azote symbiotiques aux bactéries libres de la rhizosphère. Néanmoins, l'efficacité de ces mécanismes reste strictement tributaire de l'aptitude des souches à coloniser durablement la rhizosphère, le rhizoplan ou les tissus endophytiques de la plante (Glick, 1995).

1.2. Biodiversité des PGPR dans la rhizosphère

La biodiversité n'est pas seulement essentielle pour préserver l'environnement, elle joue aussi un rôle crucial dans le rendement agricole. Dans le sol, c'est au niveau de la rhizosphère que se concentre la majeure partie de cette richesse microbienne. En sécrétant des exsudats racinaires, la plante nourrit et façonne une communauté de micro-organismes bien spécifique, qui se distingue nettement du reste du sol. Finalement, la diversité de ces rhizobactéries dépend d'un équilibre fragile : elle est directement influencée par le type de plante, la nature du sol et les pratiques agricoles adoptées (Dey *et al.*, 2012). Cette cohabitation donne lieu à de véritables relations de partenariat entre les racines et la microflore. L'aptitude de ces bactéries à coloniser les racines offre une alternative écologique prometteuse pour réduire, voire remplacer, l'utilisation des engrais chimiques et des pesticides de synthèse (Shahid, 2019).

En échange de cette nourriture, les bactéries sécrètent des hormones de croissance, des acides organiques et des sidérophores qui facilitent grandement l'absorption des nutriments par la plante. Ces interactions stimulent le développement végétal à travers plusieurs mécanismes clés : certaines classes de protéobactéries fixent l'azote atmosphérique, tandis que des micro-organismes endophytes aident la plante à mieux tolérer les stress thermiques, hydriques ou les maladies (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Pour aller plus loin dans la compréhension de cet écosystème, il faut savoir que la rhizosphère abrite une immense diversité d'espèces bactériennes, dont certaines peuvent être cultivées en laboratoire tandis que d'autres restent encore incultivables. Parmi la fraction cultivable, qui occupe une place majeure dans cette zone, les bactéries à Gram négatif s'avèrent être les plus nombreuses (Babalola and Akindolire, 2011).

Depuis plusieurs décennies, de nombreuses recherches se sont penchées sur ces micro-organismes afin de cartographier leur présence chez différentes plantes. Des genres bien connus comme *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Enterobacter* ou encore *Bacillus* ont ainsi été largement étudiés pour leur impact direct et concret sur l'amélioration des rendements agricoles (Olanrewaju *et al.*, 2017).

Au-delà de leur diversité, ce qui rend ces communautés si performantes est leur capacité à se multiplier à un rythme extrêmement soutenu en exploitant une large variété de nutriments présents dans le sol. Bien qu'elles ne représentent qu'environ 2 à 5 % de la population bactérienne totale de la rhizosphère (Antoun & Kloepper, 2001), ces souches dotées de propriétés stimulantes s'imposent aujourd'hui comme des leviers incontournables pour développer une agriculture durable (Goswami, 2017).

1.3. Mécanismes d'action des PGPR sur les plantes

Pour stimuler ainsi le développement végétal, ces rhizobactéries bénéfiques déploient toute une panoplie de stratégies, qui se divisent généralement en mécanismes d'action directs et indirects. De manière directe, elles interviennent notamment dans la nutrition de la plante en convertissant l'azote atmosphérique sous une forme assimilable, ou en synthétisant des phytohormones qui boostent la croissance racinaire. Indirectement, les PGPR agissent comme de véritables agents de biocontrôle face aux agents pathogènes du sol. Elles y parviennent en sécrétant une grande diversité de métabolites secondaires, tels que des antibiotiques, du cyanure d'hydrogène ((HCN) par certaines bactéries est un mécanisme de biocontrôle. Il agit en inhibant la respiration cellulaire des agents pathogènes. Sa production est toutefois étroitement régulée par la bactérie afin d'éviter toute phytotoxicité pour la plante hôte.), de l'ammoniac, ou encore des sidérophores capables de priver les ravageurs de fer (Bumunang *et al.*, 2018), l'activation de ces différents mécanismes dépend toutefois étroitement du dialogue moléculaire qui s'instaure entre la plante et la microflore.

Les PGPR déploient une panoplie de stratégies sophistiquées pour stimuler le développement de leur hôte végétal. Ces mécanismes, qui s'opèrent au cœur même de la rhizosphère, parmi lesquels nous citeront :

-La biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA)

L'un des modes d'action directs les plus remarquables est la capacité des PGPR à synthétiser des phytohormones, au premier rang desquelles figure l'acide indole-3-acétique (AIA). L'AIA est l'auxine principale chez les végétaux, responsable de la régulation de la croissance cellulaire. Cette hormone stimule l'élongation des cellules racinaires et provoque une augmentation flagrante de la densité des racines latérales et des poils absorbants. Pour la plante, le bénéfice est immédiat : son système racinaire devient un véritable réseau ultra-performant, capable d'explorer un volume de sol beaucoup plus vaste et d'optimiser l'absorption de l'eau et des nutriments essentiels.

- La solubilisation du phosphore et des nutriments insolubles

Le phosphore est un élément vital pour la plante, indispensable à la photosynthèse et au transfert d'énergie (Yang *et al.*, 2017). Malheureusement, même si les sols agricoles en contiennent de grandes quantités, il se trouve majoritairement sous des formes chimiques insolubles, qu'elles soient de nature minérale (comme les phosphates de calcium en sol alcalin, ou les phosphates de fer et d'aluminium en sol acide) ou organique (principalement sous forme de phytates), ce qui le rend totalement indisponible pour les racines. C'est ici qu'interviennent les PGPR. Par le biais de la sécrétion d'acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide gluconique, l'acide oxalique ou l'acide succinique, ces bactéries abaissent localement le pH du sol et réussissent à solubiliser ces complexes chimiques, libérant les ions phosphates pour les rendre enfin assimilables par la plante.

1.4. Les étapes d'établissement de l'association plantes / micro-organismes telluriques

Pour que les rhizobactéries déploient efficacement leurs effets bénéfiques, leur capacité à coloniser la racine et à s'adapter à cette niche écologique est une condition sine qua non. Ce processus dynamique se déroule généralement en trois étapes successives (**Figure 2**): le chimiotactisme, l'adhérence à la surface racinaire et, enfin, la formation d'un biofilm structuré (Lugtenberg, 2005).

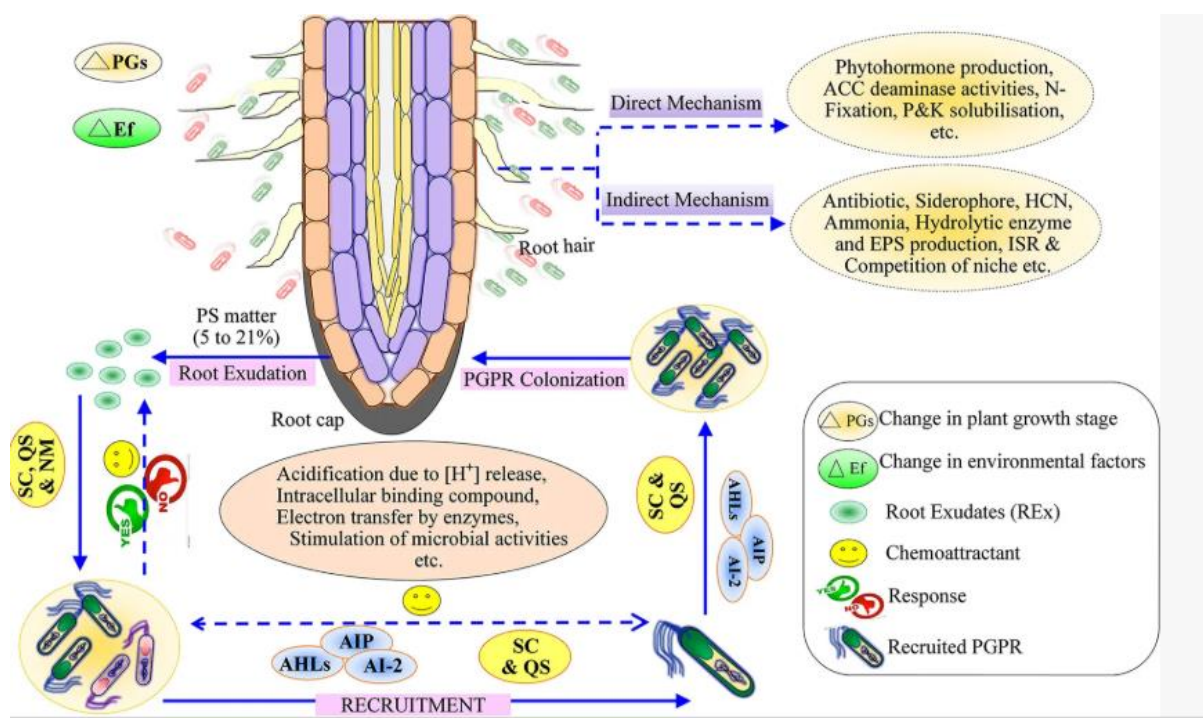


Figure 2 : Représentation schématique des mécanismes d'exsudation racinaire impliqués dans le recrutement des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (PGPR) et de leurs modes d'action directs et indirects (Upadhyay *et al.*, 2022). PS matter : Matière photosynthétique ; REx : Exsudats racinaires ; SC : Composés sélectionnés ; QS : Quorum sensing ; AHLs, AIP, AI-2 : Molécules de signalisation bactérienne (Acyl-homosérine lactones, peptides auto-inducteurs, auto-inducteur 2) ; ISR : Résistance systémique induite.

1.4.1. Le chimiotactisme et la reconnaissance moléculaire (L'attraction)

Le chimiotactisme constitue la phase d'approche initiale pour les bactéries mobiles. Tout commence par un véritable appel chimique lancé par le végétal. La plante libère de manière continue des exsudats racinaires dans le sol environnant. Ces sécrétions, ainsi que d'autres dépôts cellulaires, modifient profondément les caractéristiques physico-chimiques de la rhizosphère par rapport au sol environnant. Rapidement assimilés et transformés par les micro-organismes colonisateurs, ces exsudats jouent un rôle clé dans l'amélioration des propriétés du sol (R. Zhang *et al.*, 2017a).

Les sécrétions, composées de molécules de faible masse moléculaire (sucres, acides aminés, acides organiques), agissent comme des signaux de guidage. Grâce à leurs récepteurs de surface, les bactéries perçoivent ces gradients chimiques. Stimulées par ces nutriments, elles modulent la rotation de leurs flagelles pour nager activement vers la source du signal, suivant ainsi un processus de chimiotactisme. C'est-à-dire vers le système racinaire de l'hôte (Nanbo,

2020). Cette migration dirigée est orchestrée par une voie chimiosensorielle dont les composants clés incluent les protéines de chimiotaxie acceptrices de méthyle (MCP), l'histidine kinase CheA et le régulateur de couplage CheY. En réponse à ces signaux végétaux, les bactéries ne restent pas passives : elles sécrètent à leur tour leurs propres molécules de signalisation. Ce flux bidirectionnel d'informations régule la physiologie de la plante hôte (R. Zhang *et al.*, 2017b).

1.4.2. L'attachement initial et l'adhésion à la surface racinaire (Le point d'ancrage) Une fois arrivées à destination au niveau de la rhizoplane (la surface de la racine), les bactéries doivent réussir à s'y maintenir malgré les flux d'eau et les forces de friction du sol. Une fois sur place, la colonisation bactérienne s'organise, régulée par des mécanismes de perception de la densité de population (**Quorum Sensing, QS**) via des molécules signaux telles que les **Acyl-Homosérine Lactones (AHL)** (molécules signaux majeures des bactéries à Gram négatif), l'**Auto-Inducteur 2 (AI-2)** (molécule universelle de communication inter-espèces) ou les **Peptides Auto-Inducteurs (AIP)** (molécules signaux spécifiques des bactéries à Gram positif). (Upadhyay *et al.*, 2022).

Cette deuxième phase d'ancrage se déroule en deux temps. D'abord, une adhésion réversible et faible s'établit grâce à des forces physico-chimiques passives. Ensuite, la bactérie consolide cette liaison de manière irréversible en synthétisant des structures d'ancrage spécifiques dont un large arsenal d'adhésines bactériennes, incluant des structures de surface (flagelles, pili, fimbriae) et des composants matriciels comme les fibrilles de cellulose, les exopolysaccharides (EPS) et les lipopolysaccharides (LPS)(Tan *et al.*, 2016). À ce stade, la bactérie est solidement fixée aux cellules épidermiques de la racine.

1.4.3. La prolifération locale et la formation du biofilm (La colonisation stable)

La dernière étape marque l'installation définitive de l'association. Une fois ancrées, les bactéries commencent à se diviser activement en utilisant les nutriments fournis par les exsudats racinaires. La colonisation culmine avec le développement du biofilm, une communauté microbienne complexe enveloppée dans une matrice auto-produite. Cette matrice protectrice est un réseau sophistiqué de polysaccharides hydrosolubles, d'ADN extracellulaire, de protéines et de lipides (Flemming *et al.*, 2023). Ce biofilm enveloppe la racine comme un bouclier biologique continu, assurant à la fois la persistance à long terme des PGPR, un accès privilégié à un microenvironnement hautement nutritif, tout en érigeant une barrière physique

robuste contre les stress extérieurs, tels que la dessiccation ou la compétition avec la microflore indigène et l'efficacité de leurs mécanismes de stimulation de la croissance (Nanbo, 2020).

L'établissement réussi de ce biofilm et la libération de déterminants microbiens induisent des modifications profondes de l'architecture du système racinaire, maximisant ainsi les capacités d'absorption et de résistance de la plante hôte (**Figure 3**).

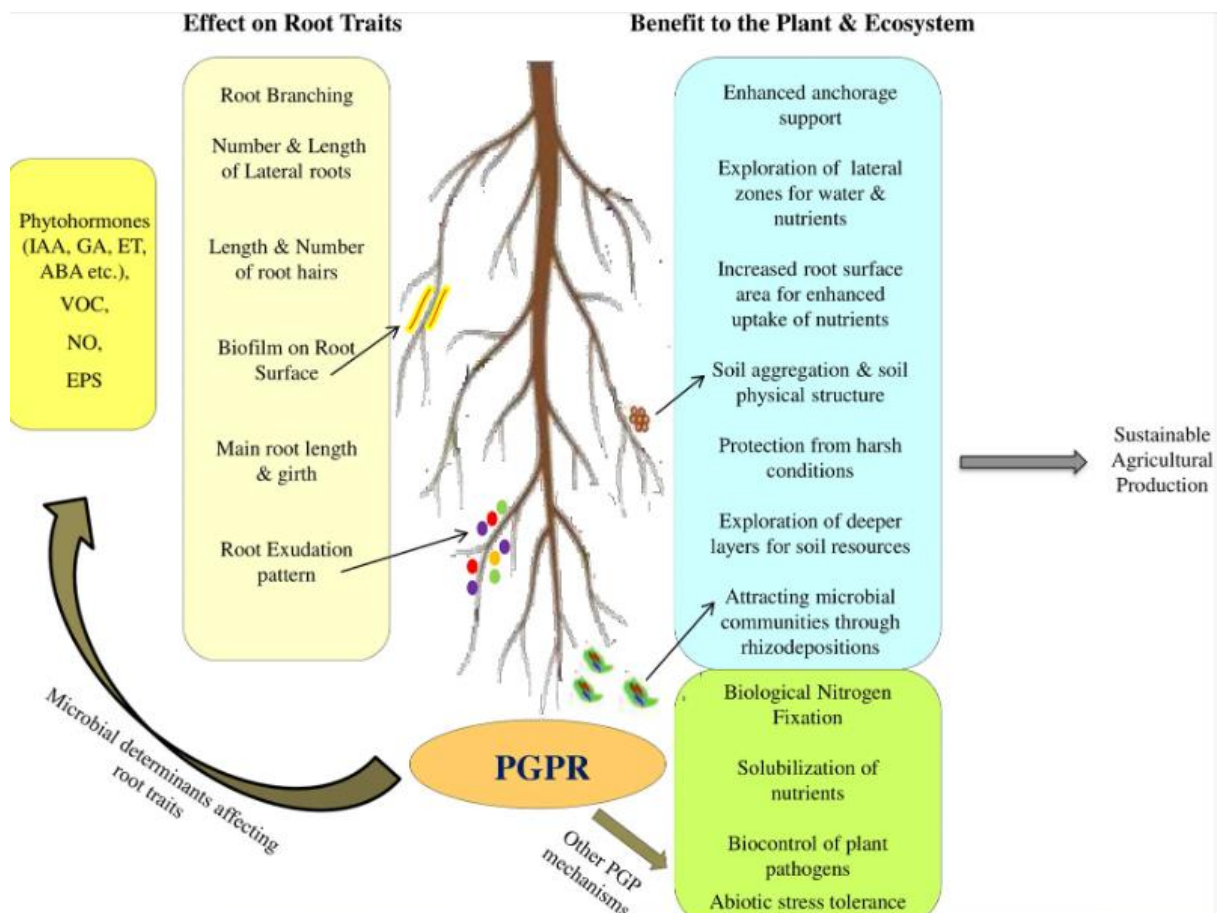


Figure 3 : Présentation conceptuelle des modifications des caractéristiques racinaires médiées par les PGPR et de leurs effets correspondants sur la croissance végétale et le fonctionnement de l'écosystème (Grover *et al.*, 2021a),

2. Maladies cryptogamiques des Cucurbitacées (*Cucumis sativus*)

2.1. Généralités sur *Cucumis sativus* et ses contraintes phytosanitaires

2.2. Classification taxonomique et positionnement systématique

Cucumis sativus L., communément désigné sous le nom de concombre, est une plante dicotylédone appartenant au règne des *Plantae*, à la division des *Magnoliophyta* (Angiospermes), à la classe des *Magnoliopsida*, à l'ordre des *Cucurbitales* et à la famille d'intérêt agronomique majeur des *Cucurbitaceae*. Cette vaste famille botanique regroupe plusieurs espèces d'une importance économique et alimentaire capitale à l'échelle mondiale, à l'instar de la pastèque (*Citrullus lanatus*), du melon (*Cucumis melo*) et des différentes variétés de courges (*Cucurbita* spp.). Au sein de ce groupe, le concombre s'impose comme l'une des cultures maraîchères les plus intensément produites sur le globe. Cette place prépondérante s'explique non seulement par ses qualités organoleptiques et sa texture rafraîchissante, mais également par sa haute valeur nutritionnelle, s'intégrant quotidiennement dans les habitudes alimentaires humaines à travers les continents (H. Wang *et al.*, 2022)

2.3. Description botanique et exigences écophysiologiques

Sur le plan morphologique, *Cucumis sativus* se caractérise comme une plante herbacée annuelle rampante ou grimpante, dotée d'une dynamique de croissance vigoureuse et rapide. Sa tige principale, cannelée et munie de vrilles volubiles qui lui permettent de s'élever sur différents supports, peut s'étendre sur plusieurs mètres en fonction des variétés cultivées et des systèmes de conduite agricole adoptés. Les feuilles, alternes et rugueuses au toucher, présentent un limbe palmé à base cordiforme, offrant une large surface propice à l'activité photosynthétique. L'appareil reproducteur se compose généralement de fleurs unisexuées, d'une coloration jaune vif, portées par le même individu (plante monoïque). Le fruit, qui constitue l'organe d'intérêt commercial, est une fausse baie allongée (péponide) dont la pulpe charnue abrite de nombreuses graines oblongues et plates, de teinte blanchâtre à jaunâtre (Yeboah *et al.*, 2021a).

Le succès de ce cycle végétatif dépend d'un équilibre strict entre plusieurs facteurs écophysiologiques et environnementaux fondamentaux, notamment la thermopériode, l'hygrométrie ambiante, l'intensité lumineuse et le statut nutritionnel du sol. Les températures optimales requises pour un développement harmonieux oscillent rigoureusement entre 20 °C et 30 °C. Toute fluctuation en dehors de cette plage thermique optimale, ou toute perturbation climatique majeure (stress abiotiques), engendre un ralentissement métabolique sévère. Ces conditions défavorables affaiblissent physiologiquement la plante, altèrent ses barrières de défense naturelles et augmentent de manière drastique sa vulnérabilité face aux attaques des agents phytopathogènes opportunistes (Zakeel *et al.*, 2023a).

2.4. Importance économique, agronomique et valorisation

À l'échelle macroéconomique, le concombre représente un pilier de la production maraîchère, générant d'importants revenus pour les producteurs dans de nombreuses régions du monde, que ce soit en cultures de plein champ ou sous abris serres. Sur le plan nutritionnel et thérapeutique, il constitue une source majeure d'hydratation, tout en apportant des vitamines essentielles (notamment les vitamines C et K), des minéraux indispensables, des fibres alimentaires et une grande diversité de molécules bioactives antioxydantes bénéfiques pour la santé. Au-delà de sa commercialisation traditionnelle pour une consommation à l'état frais en salade, *Cucumis sativus* alimente une filière agroalimentaire de transformation dynamique, dédiée à la production de conserves, de saumures et de cornichons (Kim *et al.*, 2021a).

En Algérie, la culture du concombre occupe une place stratégique au sein du secteur maraîcher national. Elle est particulièrement développée sous le système de la plasticulture (cultures sous serres tunnels), notamment dans les plaines littorales du Nord et de l'Ouest, ainsi que dans les régions phoenicicoles et sahariennes (telles que Biskra et El Oued) qui approvisionnent le marché national à contre-saison. Cette filière dynamique fait face à des exigences de rendement élevées pour répondre à une forte demande de consommation locale, tout en constituant une source de revenus vitale pour de nombreux petits et moyens agriculteurs algériens (Belabid, 2019)

Cependant, la pérennité et la rentabilité de cette filière agronomique sont constamment menacées par une multitude de contraintes biotiques et abiotiques. Dans le contexte des exploitations algériennes, les conditions de confinement et d'humidité élevée propres aux serres plastiques favorisent de manière critique l'émergence des maladies cryptogamiques. Parmi ces menaces, la pression exercée par les micro-organismes phytopathogènes constitue le facteur limitant le plus redoutable, provoquant chaque année des pertes de rendement massives et une détérioration qualitative sévère des récoltes (Grover *et al.*, 2021a), comme illustré par le dispositif de culture intensive sous abri plastique (**Figure 4**).



Figure 4: Culture de concombre (*Cucumis sativus* L.) conduite sous serre tunnel en Algérie (Source : Illustration de culture sous serre, 2026)

2.5. Le complexe des maladies cryptogamiques chez *Cucumis sativus*

2.5.1. Impact des infections fongiques sur la culture

Les maladies cryptogamiques, ou d'origine fongique, se classent parmi les fléaux pathologiques les plus destructeurs et les plus récurrents affectant les exploitations de concombre. Ces affections sont induites par un large spectre de champignons microscopiques et d'oomycètes phytopathogènes. Ces agents agressifs possèdent la capacité d'infecter, de coloniser et de nécroser l'ensemble des organes de la plante, depuis le système racinaire souterrain jusqu'aux tissus aériens tels que les tiges, le feuillage et les fruits à différents stades de leur maturation (Zakeel *et al.*, 2023b).

2.5.2. Principales pathologies des Cucurbitacées et expressions symptomatiques

Parmi la diversité des attaques subies par les Cucurbitacées, certaines pathologies se distinguent par leur fréquence et leur virulence. L'oïdium (provoquant un feutrage blanc poudreux caractéristique), le mildiou (altérant gravement le parenchyme foliaire), la fusariose vasculaire et la pourriture grise (due à *Botrytis cinerea*) représentent les principales menaces.

L'expression des symptômes varie selon la nature du pathogène : elle se manifeste par des chloroses, un jaunissement généralisé des feuilles, des flétrissements subits causés par l'obstruction des vaisseaux conducteurs de sève, ainsi que des nécroses tissulaires profondes menant inéluctablement à l'effondrement de la productivité de la parcelle (Kim *et al.*, 2021b).

2.5.3. Principaux agents phytopathogènes fongiques du concombre et leurs facteurs favorisants

Les analyses mycologiques menées sur les cultures de concombre révèlent que le cortège des pathogènes majeurs est dominé par des genres fongiques redoutables tels que *Fusarium* spp. (responsable de fontes de semis et de flétrissements), *Alternaria* spp. (agent des taches foliaires noires), *Botrytis cinerea* et les complexes d'oomycètes du genre *Pythium* spp., responsables du pourrissement des racines. Le déclenchement de ces infections, la germination des spores et la progression du mycélium au sein des tissus de l'hôte sont intimement liés à la réunion de conditions microclimatiques favorables. Une humidité relative saturée (proche de 100 %) associée à des températures douces à chaudes constitue le déclencheur parfait pour l'explosion de ces épidémies fongiques en plein champ comme sous serre (Grover *et al.*, 2021).

2.5.3.1. Cas de l'alternariose du concombre (*Alternaria* sp.)

2.5.3.1.1. Symptomatologie

L'alternariose, causée principalement par des espèces du genre *Alternaria* (telles que *Alternaria alternata* ou *Alternaria cucumerina*), est une maladie foliaire fréquente chez *Cucumis sativus*. Les symptômes débutent généralement sur les feuilles les plus anciennes par l'apparition de petites taches circulaires, de couleur brun clair à noire. Au fur et à mesure de l'évolution de la maladie, ces taches s'élargissent pour atteindre un diamètre de 1 à 2 centimètres et développent des cernes concentriques caractéristiques en forme de "cible".

Le centre de ces lésions peut se dessécher, devenir cassant et se perforer. En cas d'attaque sévère, les taches fusionnent, entraînant une chlorose généralisée du limbe, un flétrissement et une défoliation précoce de la plante. Bien que les feuilles soient les principales cibles, des chancres bruns et déprimés peuvent également se développer sur les tiges et les fruits, altérant gravement la valeur commerciale des concombres (Yeboah *et al.*, 2021b) (**Figure 5**).



Figure 5: Taches nécrotiques circulaires et cernes concentriques typiques de l'alternariose causée par *Alternaria* spp. sur le limbe foliaire de concombre. (Source : Banque d'images phytopathologiques / Illustration numérique, 2026).

2.5.3.1.2. Cycle de vie et facteurs favorisants

Le champignon hiverne et survit sous forme de mycélium ou de conidies dans les débris végétaux infectés laissés au sol, sur des adventices hôtes ou à la surface des semences. Au printemps ou lors du cycle de culture sous serre, lorsque les conditions deviennent favorables, le mycélium produit des conidiophores qui libèrent des conidies (spores asexuées). Ces spores sont dispersées par le vent, les éclaboussures d'eau d'irrigation et les outils de travail.

Après s'être déposée sur une feuille saine, la conidie germe en émettant un tube germinatif qui pénètre les tissus de l'hôte directement à travers la cuticule, par les stomates ou via des micro-blessures. Les facteurs environnementaux majeurs favorisant ce cycle sont une température optimale comprise entre 20°C et 28°C associée à une humidité relative très élevée (supérieure à 90 %) ou à la présence d'un film d'eau liquide libre sur les feuilles pendant plusieurs heures continues, une condition fréquente sous les serres tunnels en Algérie (Kim *et al.*, 2021c).

2.5.3.2. Cas du dépérissement causé par *Diaporthe ambiga* (*Phomopsis* sp.)

2.5.3.2.1. Symptomatologie

La maladie causée par *Diaporthe ambiga* (souvent désignée sous sa forme asexuée *Phomopsis*) se manifeste principalement par des pourritures racinaires, des chancre au niveau du collet et un dépérissement vasculaire de la plante. Au niveau de la tige, juste au-dessus de la ligne du sol, le champignon provoque une lésion chancreuse, humide et de couleur marron foncé à noire, qui encercle progressivement la base de la plante.

Sur les feuilles, l'infection se traduit par des taches irrégulières jaunâtres (chlorotiques) qui brunissent rapidement à partir de la bordure du limbe (**Figure 6**). À l'intérieur de ces lésions sénescentes, on peut observer à la loupe de minuscules points noirs incrustés : ce sont les pycnides (structures de fructification asexuées du champignon). À terme, le blocage des vaisseaux conducteurs de sève par le mycélium entraîne un flétrissement brutal et irréversible de l'ensemble de la plante, suivi de sa mort (Yeboah *et al.*, 2021c).



Figure 6:Chlorose marginale et début de nécrose des tissus foliaires d'un concombre (*Cucumis sativus*) infecté par le genre *Diaporthe* (Source : Banque d'images phytopathologiques / Illustration numérique, 2026).

2.5.3.2.2. Cycle de vie et facteurs favorisants

Diaporthe ambigua possède un cycle de vie qui combine une phase de conservation hivernale robuste et une phase de propagation agressive. Il survit durant l'interculture sous forme de périthèces (forme sexuée) ou de pycnides (forme asexuée) sur les tiges mortes et les débris de Cucurbitacées. Lors des périodes de forte hygrométrie, les pycnides se gorgent d'eau et expulsent les alpha-conidies et beta-conidies sous la forme de cordons gélatineux (cirres).

Ces spores sont projetées par l'eau ou transmises par les mains des ouvriers lors des opérations d'ébourgeonnage et de taille. La pénétration du champignon se fait principalement par les blessures de taille ou les micro-fissures naturelles au collet de la plante. Le développement de la maladie est maximal lors des périodes chaudes (24-30°C) et sous un stress hydrique ou nutritionnel de la plante. L'absence de rotation des cultures et une mauvaise hygiène des outils de coupe constituent les principaux facteurs anthropiques favorisant les épidémies de *Diaporthe* en culture protégée (Kim *et al.*, 2021d).

2.5.4. Réponses de la plante aux attaques des phytopathogènes fongiques

2.5.4.1. Les barrières structurales constitutives et histologiques préexistantes

Face à la pression de sélection constante exercée par les micro-organismes phytopathogènes présents dans la rhizosphère (le sol proche des racines) et la phyllosphère (les parties aériennes), les végétaux ont développé un système immunitaire inné sophistiqué. La première ligne de défense de *Cucumis sativus* est de nature purement mécanique, physique et structurale. Qualifiées de barrières constitutives ou préexistantes, ces structures sont synthétisées de manière continue par la plante, indépendamment de la présence d'un agresseur.

Au niveau des organes aériens, la cuticule représente le premier rempart. Cette matrice macromoléculaire complexe est principalement composée de cutine (un polymère d'acides gras hydroxylés insolubles) et de cires épicuticulaires hydrophobes. Cette hydrophobicité limite la stagnation des gauchettes d'eau à la surface des feuilles, réduisant ainsi drastiquement les capacités d'adhésion, de germination et de différenciation des spores fongiques mobiles ou des conidies d'agents pathogènes tels qu'*Alternaria* spp. ou *Botrytis cinerea*.

Au niveau cellulaire, la paroi squelettique rigide entoure chaque cellule végétale et constitue un obstacle physique majeur à la pénétration des structures d'infection fongiques (comme les appressoria). Cette paroi est un réseau interconnecté de microfibrilles de cellulose, de matrices d'hémicellulose (xyloglucanes) et de substances pectiques. Pour franchir ce réseau,

les champignons phytopathogènes doivent sécréter un cocktail d'enzymes de dégradation des parois végétales (CWDEs), telles que les polygalacturonases, les pectinases et les cellulases.

En plus de ces barrières physiques, les tissus de la plante hébergent un arsenal biochimique préformé composé de métabolites secondaires antimicrobiens stables, désignés sous le terme de phytoanticipines. Chez les Cucurbitacées, ces composés incluent des molécules spécifiques comme les cucurbitacines (des tritépinoïdes oxygénés hautement cytotoxiques et amers) et divers composés phénoliques solubles. Ces molécules agissent comme des inhibiteurs enzymatiques ou des perturbateurs membranaires, bloquant le développement initial des hyphes fongiques opportunistes qui tenteraient de coloniser les espaces intercellulaires (Li *et al.*, 2023).

2.5.4.2. Perception moléculaire et activation des cascades de signalisation intracellulaire

Lorsqu'un agent pathogène particulièrement virulent parvient à contourner ou à lyser ces barrières constitutives, la plante passe d'une stratégie de défense passive à une stratégie de résistance active. Ce basculement repose sur un système de reconnaissance moléculaire hautement spécifique localisé au niveau de la membrane plasmique des cellules de l'hôte. Les cellules du concombre possèdent des récepteurs de reconnaissance de motifs (PRRs) capables de détecter des structures moléculaires conservées, absentes chez l'hôte mais hautement spécifiques aux micro-organismes, appelées MAMPs ou PAMPs. Dans le cas des champignons phytopathogènes, le principal MAMP détecté est la chitine, un polymère de beta-(1,4)-N-acétylglucosamine constituant majeur de leur paroi cellulaire.

La liaison du MAMP sur son récepteur spécifique déclenche instantanément une cascade de signalisation intracellulaire. Les premiers événements biochimiques mesurables, survenant en quelques secondes à peine, sont des flux ioniques transmembranaires caractérisés par un influx massif d'ions calcium (Ca^{2+}) vers le cytosol et un efflux d'ions potassium (K^{+}) et chlorure (Cl^{-}). Cet influx de calcium active des protéines kinases dépendantes du calcium (CDPKs) et des cascades de MAP kinases (Mitogen-Activated Protein Kinases), qui transmettent le signal d'alerte jusqu'au noyau cellulaire pour reprogrammer l'expression des gènes de défense.

En parallèle, cette signalisation active des enzymes membranaires clés, les NADPH oxydases (également appelées protéines Respiratory Burst Oxidase Homolog ou RBOH). Ces enzymes catalysent la production massive et ultra-rapide de formes réactives de l'oxygène (FRO ou ROS), telles que l'anion superoxide (O_2^{-}) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce

phénomène, connu sous le nom d'explosion oxydative (oxidative burst), remplit un double rôle : d'une part, les FRO exercent une toxicité directe sur les structures du pathogène à proximité ; d'autre part, elles agissent comme des molécules-sigaux diffusibles qui déclenchent le renforcement des parois des cellules adjacentes par réticulation oxydative des glycoprotéines et stimulent l'expression des gènes de défense à l'échelle locale (Li *et al.*, 2023).

2.5.4.3. Réponses biochimiques induites, synthesis de phytoalexines et protéines PR

La reprogrammation transcriptionnelle induite par l'explosion oxydative et les vagues de phosphorylation conduit à une production massive de novo (synthèse induite) de molécules de défense hautement spécialisées. Sur le plan histologique, la plante bloque physiquement la progression du mycélium fongique en renforçant activement les parois cellulaires au niveau du site précis de l'attaque. Cela se traduit par le dépôt localisé d'un polymère de glucose spécifique, la callose (liaisons beta-1,3), formant des structures épaissies appelées papilles de filtration, ainsi que par l'incorporation de polymères phénoliques complexes comme la lignine (processus de lignification), rendant la paroi totalement imperméable aux enzymes de lyse fongiques.

Sur le plan biochimique, le métabolisme secondaire de l'hôte est détourné vers la synthèse rapide de phytoalexines. Contrairement aux phytoanticipines préexistantes, les phytoalexines sont des métabolites secondaires antimicrobiens de faible poids moléculaire synthétisés uniquement en réponse à un stress biotique. Chez le concombre, ces molécules appartiennent principalement à la famille des flavonoïdes, des stilbènes et des composés phénoliques conjugués, capables d'altérer la perméabilité de la membrane plasmique des champignons et de bloquer leur chaîne respiratoire mitochondriale.

Simultanément, la cellule végétale sécrète de grandes quantités de protéines liées à la pathogenèse, appelées protéines PR (Pathogenesis-Related proteins), qui s'accumulent dans les vacuoles ou dans l'apoplasme. Ce complexe protéique est classé en plusieurs familles fonctionnelles. Les familles PR-2 (beta-1,3-glucanases) et PR-3, PR-4, PR-8, PR-11 (chitinases) sont d'une importance capitale contre les attaques cryptogamiques. Ces enzymes hydrolytiques agissent en synergie complète : les chitinases dégradent la chitine de l'apex des hyphes fongiques en croissance, tandis que les beta-1,3-glucanases lysent les polymères de glucane associés. Cette dégradation entraîne non seulement la mort par lyse osmotique du champignon pathogène (comme *Fusarium* spp.), mais elle libère également des fragments solubles de chitine qui agissent à leur tour comme de puissants éliciteurs secondaires, amplifiant continuellement la réponse immunitaire de la plante (Li *et al.*, 2023).

2.5.4.4. Modulation de l'immunité systémique par les PGPR : Mécanismes de l'ISR

L'un des aspects les plus prometteurs en protection des cultures réside dans le fait que l'appareil immunitaire de *Cucumis sativus* peut être stimulé de manière systémique par des micro-organismes non pathogènes et bénéfiques colonisant la rhizosphère. Ces micro-organismes, appelés Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (PGPR), et particulièrement les souches appartenant au genre *Bacillus*, induisent un état de résistance généralisé nommé la Résistance Systémique Induite (ISR).

Il convient de distinguer fondamentalement l'ISR de la Résistance Systémique Acquisée (SAR). La SAR est généralement déclenchée par une infection locale causée par un agent pathogène nécrotique, et son réseau de signalisation à longue distance dépend strictement de l'accumulation d'acide salicylique (AS) et de l'expression systémique des gènes codant pour les protéines PR. À l'inverse, l'ISR, induite lors de la colonisation racinaire saine par des *Bacillus* bénéfiques, est régulée par des voies de signalisation hormonales dépendantes de l'acide jasmonique (AJ) et de l'éthylène (ET). Les déterminants bactériens responsables du déclenchement de l'ISR comprennent des molécules de surface comme les lipopolysaccharides (LPS), les flagellines, mais aussi des métabolites secondaires sécrétés tels que les sidérophores (molécules chélatrices de fer) et des composés volatils organiques (comme le 2,3-butanediol).

L'ISR ne se traduit pas par une activation coûteuse en énergie de tout l'arsenal de défense en l'absence de pathogènes. Au lieu de cela, l'ISR place la plante hôte dans un état physiologique de vigilance optimisée, un phénomène moléculaire complexe appelé l'amorçage ou le *Priming*. Les cellules de la plante "amorcée" accumulent des formes inactives de MAP kinases et subissent des modifications épigénétiques au niveau de la chromatine des gènes de défense. Lorsqu'un véritable champignon phytopathogène (tel qu'*Alternaria* spp.) tente ultérieurement d'attaquer les tissus foliaires ou racinaires d'une plante ainsi vaccinée, les cascades de signalisation s'activent avec une cinétique beaucoup plus rapide et une amplitude considérablement plus intense. La production de FRO est dédoublée, le dépôt de callose est immédiat et la transcription des gènes codant pour les protéines PR ou les phytoalexines s'effectue en quelques heures plutôt qu'en quelques jours. Ce mécanisme sophistiqué permet au concombre de neutraliser l'infection avant que le pathogène n'ait pu s'implanter durablement, garantissant ainsi une protection robuste et à long terme de l'ensemble de la culture maraîchère sans pénaliser son potentiel de rendement agronomique (Jang *et al.*, 2022).

3. Méthodes de lutte contre les maladies

Les pathologies végétales d'origine biotique constituent un goulot d'étranglement majeur pour la sécurité alimentaire mondiale, altérant drastiquement les rendements quantitatifs et les propriétés organoleptiques des récoltes. Afin de juguler les épizooties fongiques et bactériennes au sein des agrosystèmes, plusieurs stratégies de protection intégrée sont déployées. Ces approches incluent les interventions chimiques, les pratiques culturales, les traitements physiques ainsi que les alternatives biologiques (Nazari-Vanani & Negahdary, 2024).

3.2.1. Lutte chimique

Historiquement, l'application d'intrants synthétiques s'impose comme la méthode conventionnelle la plus répandue pour endiguer les épidémies phytopathogènes. Cette stratégie repose sur le déploiement d'une large gamme de xénobiotiques (fongicides de contact ou systémiques, bactéricides) formulés pour inhiber des voies métaboliques spécifiques des agents pathogènes ou détruire leurs structures cellulaires. L'avantage principal de la lutte chimique réside dans son effet choc immédiat et sa capacité à stopper rapidement une infection déclarée, préservant ainsi à court terme l'intégrité économique des parcelles à haut rendement (Zhou, Lu, *et al.*, 2022).

Toutefois, l'usage intensif et non raisonné de ces molécules de synthèse suscite aujourd'hui de graves préoccupations toxicologiques et écotoxicologiques. Sur le plan environnemental, la rémanence de ces composés provoque la pollution systémique des matrices pédologiques et le lessivage vers les nappes phréatiques. De surcroît, la pression de sélection constante exercée par ces molécules induit l'émergence rapide de souches mutantes résistantes, rendant les traitements obsolètes tout en perturbant gravement les équilibres microbiens utiles de la rhizosphère (Van Rooyen *et al.*, 2023).

3.2.2. Lutte culturale

La lutte culturale, ou prophylaxie agronomique, englobe un ensemble de pratiques correctives visant à rompre le cycle biologique des bioagresseurs ou à modifier l'environnement pour le rendre hostile à leur prolifération. Parmi les techniques clés figurent la rotation triennale ou quadriennale des cultures (qui prive les pathogènes spécifiques de leur hôte), l'évacuation et l'incinération des résidus végétaux infectés (qui limitent l'inoculum primaire printanier), ainsi qu'un désherbage rigoureux pour éliminer les réservoirs sauvages de recontamination.

De plus, la gestion optimisée de la densité de plantation et l'intégration de variétés génétiquement résistantes ou tolérantes permettent d'améliorer la vigueur intrinsèque de la plante tout en optimisant l'aération du couvert végétal (Grover *et al.*, 2021b).

3.2.3. Lutte physique

Cette modalité d'action emploie des agents physiques, principalement thermiques ou mécaniques, pour éradiquer les structures de conservation des micro-organismes présentes dans le sol ou sur le matériel végétal. En culture protégée, la solarisation (qui consiste à recouvrir un sol humide d'un film plastique transparent durant les périodes de forte insolation) permet d'atteindre des températures létales pour les propagules fongiques souterraines.

À cela s'ajoutent la thermothérapie des semences à l'eau chaude, l'installation de filets moustiquaires physiques sur les ouvrants des serres tunnels, et la régulation stricte du couplage température-hygrométrie par ventilation forcée afin d'empêcher la condensation d'eau liquide sur les feuilles, condition sine qua non à la germination des spores (Flores-Saavedra *et al.*, 2023).

3.2.4. Lutte biologique et biocontrôle

Face aux impératifs d'une agriculture durable, la lutte biologique s'érige comme une alternative écologique majeure. Elle repose sur l'exploitation d'antagonistes naturels, appelés Agents de Lutte Biologique (ALB) ou biopesticides, pour réprimer les populations de ravageurs.

3.2.4.1. Bactéries endophytes et leur rôle dans le biocontrôle

Les bactéries endophytes se définissent comme des micro-organismes capables de coloniser les niches écologiques internes et les tissus conducteurs des plantes sans provoquer d'effets pathologiques ni de symptômes de maladie chez leur hôte. Contrairement aux bactéries strictement superficielles, elles établissent une interaction symbiotique intime et protectrice à l'intérieur même du végétal, ce qui leur permet de participer activement à plusieurs fonctions biologiques et physiologiques majeures de la plante (Zhou *et al.*, 2022).

Ces micro-organismes endophytes optimisent l'absorption des nutriments essentiels (comme la solubilisation du phosphore ou la production de sidérophores), stimulent directement la croissance végétale par la régulation hormonale et protègent efficacement les tissus internes contre les agressions des agents pathogènes. Lorsque des bactéries libèrent de

l'AIA dans la rhizosphère, elles modifient l'équilibre hormonal de la plante (Idris *et al.*, 2007). Cette barrière de biocontrôle est assurée à la fois par la production *in situ* de substances antimicrobiennes et par l'activation de la résistance systémique induite (ISR), préparant le système immunitaire de la plante à réagir plus vite et plus fort (Mahanty *et al.*, 2023).

3.2.4.2. *Bacillus* comme agent de lutte

Sur le plan taxonomique, le genre *Bacillus* est rattaché au domaine des Bactéries et à la famille des Bacillaceae. La classification systématique actuelle de ce genre se structure selon le tableau ci-dessous :

Tableau 1: position taxonomique et classification systématique du genre *Bacillus*.

Rang taxonomique	Taxon
Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum (Embranchement)	<i>Bacillota</i> (anciennement <i>Firmicutes</i>)
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus</i>

D'un point de vue morphologique et physiologique, les bactéries appartenant au genre *Bacillus* sont largement distribuées dans les sols et les environnements naturels. Elles se caractérisent principalement par leur capacité à produire des endospores hautement résistantes, leur permettant de survivre durablement dans des conditions défavorables telles que les températures élevées, le stress hydrique et les variations importantes du pH (Biermann et Beutel, 2023).

Ces espèces jouent un rôle fondamental dans l'agriculture durable grâce à leurs propriétés de promotion de la croissance végétale (PGPR) et leurs puissantes capacités antagonistes contre les agents phytopathogènes. Elles synthétisent une grande diversité de métabolites biologiquement actifs, notamment des antibiotiques diffusibles, des lipopeptides cycliques et des enzymes hydrolytiques capables de dégrader la paroi des micro-organismes pathogènes et d'inhiber leur développement (Liu *et al.*, 2023b). Les caractéristiques physiologiques et écologiques font des espèces du genre *Bacillus* des candidats majeurs et

prometteurs dans les stratégies modernes de lutte biologique (Liu *et al.*, 2023b; Rincón-Molina *et al.*, 2023b).

L'utilisation des bactéries du genre *Bacillus* comme agents de lutte biologique (ou biopesticides) a connu un essor considérable en agriculture moderne. Cet intérêt agronomique repose principalement sur leur capacité unique à former des endospores. Contrairement à d'autres agents de biocontrôle non sporulants qui sont très sensibles aux rayons UV, à la dessiccation et aux variations thermiques lors de l'application au champ, les spores de *Bacillus* affichent une stabilité et une viabilité à long terme exceptionnelles.

Cette robustesse physiologique facilite grandement leur formulation industrielle sous forme de poudres mouillables, de suspensions concentrées ou de granulés. Ces produits commerciaux peuvent ainsi être stockés sur de longues périodes sans perte d'efficacité et être appliqués en utilisant les infrastructures d'irrigation ou de pulvérisation standards. De plus, une fois introduites dans la rhizosphère, ces bactéries s'adaptent rapidement aux fluctuations environnementales et entrent en compétition active avec la microflore indigène pour coloniser la surface des racines, offrant ainsi une protection durable des cultures contre les attaques parasitaires (Cámara-Ruiz *et al.*, 2020).

L'efficacité des souches de *Bacillus* spp. en tant qu'agents de biocontrôle repose sur un réseau complexe de mécanismes d'action, directs et indirects, qui agissent souvent en synergie pour inhiber le développement des phytopathogènes (**figure 7**). Ces mécanismes se répartissent en quatre grandes catégories :

- **L'antibiose (production de lipopeptides) :** Les *Bacillus* synthétisent une grande variété de métabolites secondaires doués de puissantes propriétés antifongiques et antibactériennes. Parmi eux, les lipopeptides cycliques des familles de la **surfactine**, de l'**iturine** et de la **fengycine** jouent un rôle majeur en altérant la perméabilité des membranes cellulaires des champignons pathogènes, provoquant ainsi la lyse de leurs hyphes.
- **La compétition pour les nutriments et l'espace :** Grâce à leur croissance rapide et à leur capacité à former des biofilms robustes autour de la rhizosphère, les bactéries s'approprient les sites de colonisation racinaire. De plus, la sécrétion de **sidérophores** (des chélateurs de fer à haute affinité) prive les micro-organismes pathogènes environnants de fer ferrique (Fe^{3+}), un élément essentiel à leur croissance.

- **La lyse enzymatique (production d'enzymes lytiques) :** Le genre *Bacillus* sécrète des enzymes extracellulaires capables de dégrader directement les parois cellulaires des agents pathogènes. La production de **chitinases**, de bêta-1,3-**glucanases** et de **protéases** qui dégradent directement les polymères structuraux de la paroi cellulaire des champignons phytopathogènes.
- **L'induction de la Résistance Systémique Induite (ISR) :** Au-delà des attaques directes, l'interaction entre les *Bacillus* et le système racinaire de la plante stimule les voies de signalisation hormonales dépendantes de l'acide jasmonique et de l'éthylène de cette dernière (mécanisme indirect). Cette colonisation déclenche un état d'alerte physiologique chez l'hôte, préparant le système immunitaire végétal à réagir plus rapidement et plus vigoureusement à une agression ultérieure en renforçant ses barrières structurelles et biochimiques (accumulation de composés phénoliques, activation des enzymes de défense), ce qui permet à la plante de résister plus efficacement aux infections ultérieures (Miljaković *et al.*, 2020 ; W. Liu *et al.*, 2023a ; Rincón-Molina *et al.*, 2023a).

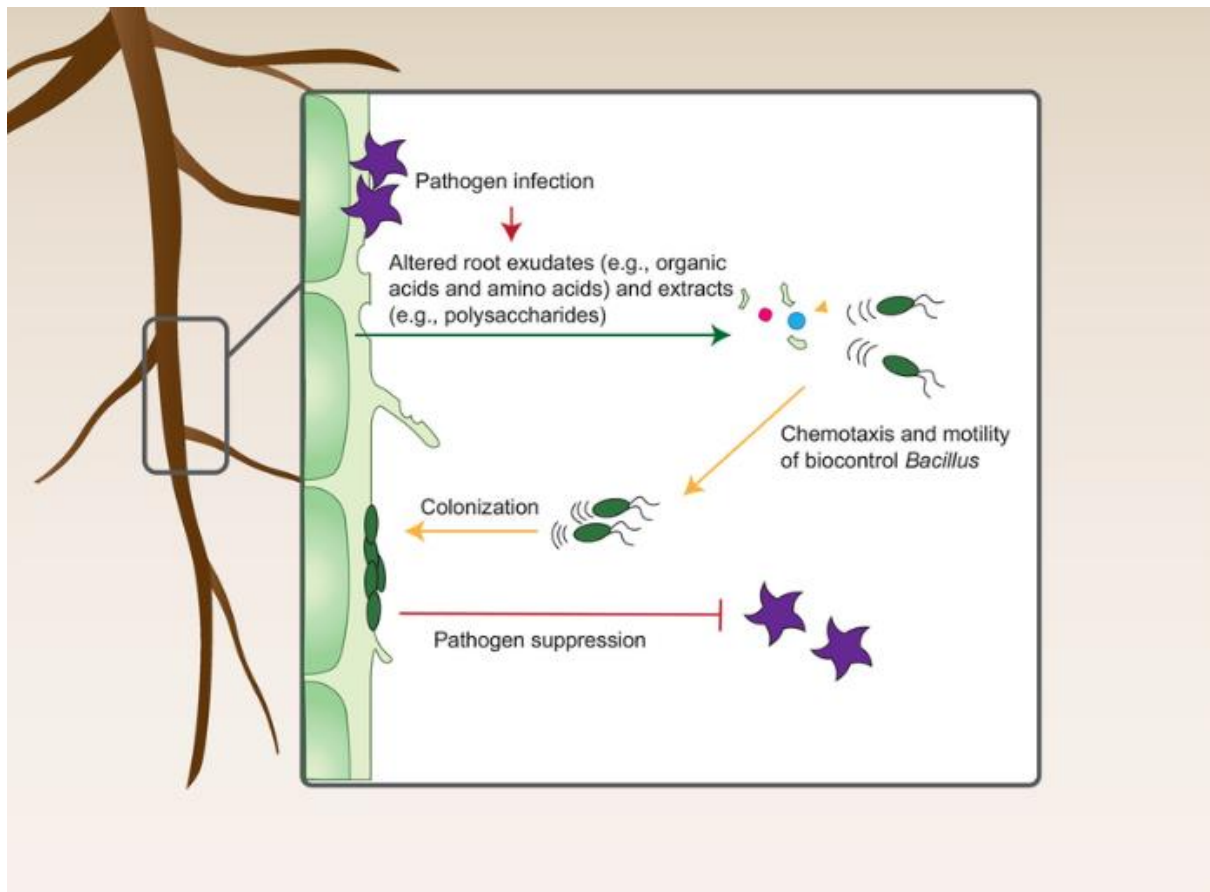


Figure 7: Représentation schématique des mécanismes d'attraction, de chimiotactisme et de colonisation racinaire chez les souches de *Bacillus* utilisées en biocontrôle (N. Zhang *et al.*, 2023)

L'infection par un agent phytopathogène induit une modification de la composition des exsudats racinaires de la plante (acides organiques, acides aminés et polysaccharides). Ces molécules agissent comme des signaux chimiques qui déclenchent le chimiotactisme et la motilité des bactéries du genre *Bacillus* vers la rhizosphère. S'ensuit une colonisation active de la surface racinaire par la bactérie, conduisant à la répression et à l'inhibition directe du développement des agents pathogènes.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre projet de fin d'études a été réalisé durant une période de quatre 04 mois, s'étalant du 21\02 au 10\06 au niveau du laboratoire de microbiologie N°2 de l'université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem- Faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV).

Afin de mettre en évidence les capacités phytobénéfiques et protectrices de la bactérie sur les cultures de concombre (*Cucumis sativus*), la démarche expérimentale de ce travail est conçue pour lier les caractéristiques de la bactérie à la compréhension de ses fonctions. L'objectif de cette section est de détailler l'ensemble des protocoles rigoureux mis en œuvre au laboratoire et sous serre. Cela comprend les étapes de caractérisation macroscopique et microscopique des colonies, ainsi que les tests biochimiques et enzymatiques ciblés, permettant d'analyser cette rhizobactérie.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le cadre de cette étude est dans le

1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique regroupe les milieux de culture, les réactifs chimiques, les colorants ainsi que l'instrumentation et les consommables de laboratoire.

2. Méthodes

La démarche méthodologique adoptée dans cette étude vise à caractériser la bactérie d'intérêt afin d'évaluer son potentiel en tant qu'agents de biocontrôle et de promotion de la croissance végétale (PGPR). Après une phase de revivification et de confirmation de pureté, la souche bactérienne est soumise à une caractérisation phénotypique, tinctoriale et biochimique préliminaire. Son aptitude physiologique face au stress salin est étudié. Par la suite, son potentiel antagoniste *In vitro*, par confrontation directe ou après l'extraction de métabolites secondaires, et *In vivo*, sur culture de concombre infectée par *Alternaria* sp et *Diaporthe* sp., ont été explorés en vue d'étudier la possibilité de son utilisation comme biopesticide contre les phytopathogènes fongiques.

2.1. Phase de revivification des souches

La souche bactérienne apportée au laboratoire était sous deux formes : conservée dans du glycérol ou en boîte de Pétri. Sa revivification a été réalisée par la méthode des stries sur gélose nutritive. Les boîtes ont été incubées à 28–30 °C pendant 24 heures. Les souches fongiques, quant à elles, sont conservées sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) incliné en tubes à essai ou sur boîtes de Pétri. Leur revivification est réalisée par le prélèvement d'un fragment de mycélium ou d'un explant, repiqué ensuite au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes sont incubées à une température de 25 à 28 °C pendant 5 à 7 jours jusqu'à l'obtention d'une colonie fauchée ou d'un développement mycélien homogène.

2.2. Caractérisation bactérienne et confirmation de sa pureté

La caractérisation de la souche bactérienne a été effectuée sur la base : des caractères morphologiques des colonies, de la coloration de Gram, et de quelques tests biochimiques.

2.3. Coloration des spores

La coloration des spores bactériennes a été effectuée selon la méthode de Schaeffer-Fulton (Schaeffer & Fulton, 1933). Le frottis bactérien a été coloré au vert de malachite sous chauffage puis rincé à l'eau distillée. Une contre-coloration à la safranine a ensuite été réalisée. Après observation microscopique les spores apparaissent en vert.

2.4. Test de la catalase

Le test de la catalase a été réalisé afin de détecter la présence de l'enzyme catalase. Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est déposée sur une lame propre puis une colonie bactérienne fraîche y est ajoutée. L'apparition immédiate de bulles indique un test positif.

La réaction enzymatique est : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

2.5. Caractéristiques physiologiques de la bactérie

2.5.1. Test d'hydrolyse de l'amidon

Le test d'hydrolyse de l'amidon est réalisé sur un milieu contenant de l'amidon soluble afin de mettre en évidence la capacité de la bactérie à produire l'enzyme amylase.

La souche bactérienne est ensemencée en spot au centre de la boîte de Pétri, puis incubées à 30 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, nous ajoutons une solution de lugol

à la surface du milieu de culture. L'apparition d'un halo clair autour de la colonie bactérienne indique l'hydrolyse de l'amidon et traduit un résultat positif.

2.5.2. Test de tolérance au sel

Nous réalisons le test de tolérance au chlorure de sodium (NaCl) afin d'évaluer la capacité des isolats bactériens à se développer sous différentes concentrations salines. Nous préparons un milieu nutritif contient (1,5%) de NaCl La souche bactérienne est ensuite ensemencée aseptiquement puis incubée à 28 °C.

2.6. Évaluation du potentiel antifongique de la bactérie *Invitro*

2.6.1. Évaluation du potentiel antifongique par test de confrontation directe

Le potentiel antagoniste de la bactérie a été évalué par la méthode de double culture sur milieu gélosé **Potato Dextrose Agar (PDA)** (Madjida, 2022). Deux fragments circulaire de mycélium de 5 mm de diamètre, prélevé des cultures jeunes des champignons phytopathogènes, *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp., et déposés à la périphérie de la boîte de Pétri. La souche de *Bacillus* sp. est ensuite inoculée sous forme d'une ligne en périphérie face à l'explant fongique, à une distance fixe de **3 cm** entre les deux. Des boîtes inoculées uniquement avec le pathogène fongique ont servi de témoins. Après une incubation à 28-30 °C pendant 5 à 7 jours, l'activité inhibitrice a été mise en évidence par la mesure du rayon de croissance du champignon et le calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne (PIRG) selon la formule suivante : $PIRG = ((R1 - R2) / R1) \times 100$

* **PIRG** : Pourcentage d'Inhibition du Rayon de Croissance.

* **R1** : Rayon de croissance du champignon témoin.

* **R2** : Rayon de croissance du champignon en présence de l'agent de biocontrôle.

2.6.2. Évaluation du potentiel antifongique de l'extrait de la bactérie

2.6.2.1. Extraction des métabolites secondaires de la bactérie

L'extraction des composés bioactifs produits par la bactérie a été réalisée à partir de cultures liquides âgées de 15 jours à trois semaines selon un protocole de macération.

Dans un premier temps, le surnageant bactérien est soumis à une **macération sous agitation mécanique** continue à l'aide de l'agitateur orbital pendant 48h afin d'optimiser le contact avec le solvant d'extraction l'acétate d'éthyle et de maximiser le rendement en molécules d'intérêt à une proportion V / V (culture bactérienne/ acétate d'éthyle).

Dans un second temps, le mélange a été filtré et centrifugé, et la phase liquide obtenue a été transférée dans un **évaporateur rotatif (Rotavapeur)**. La concentration de l'extrait brut et l'élimination complète du solvant organique ont été effectuées sous pression réduite à une température contrôlée de 45°C, permettant d'obtenir l'extrait sec concentré prêt pour les analyses ultérieures (Zhong et al., 2016).

Calcul du rendement

Le volume d'extrait liquide récupéré dans les tubes est 16,25mL . Le rendement d'extraction volumique par rapport aux 50 mL de surnageant initial de *Bacillus* est donc de :

$$R (\%) = \left(\frac{V_{\text{extrait}}}{V_{\text{initial}}} \right) * 100$$

$$R (\%) = \left(\frac{16,25}{50} \right) * 100$$

Dans un second temps, le mélange a été filtré et centrifugé, et la phase liquide obtenue a été transférée dans un **évaporateur rotatif (Rotavapeur)**. La concentration de l'extrait brut et l'élimination complète du solvant organique ont été effectuées sous pression réduite à une température contrôlée de 45°C, permettant d'obtenir l'extrait sec concentré prêt pour les analyses ultérieures (Ri & Di, 2016).

2.6.2.1. Activité antifongique par diffusion sur disques

L'activité antifongique de l'extrait brut de *Bacillus* sp. a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques sur des boîtes de gélose préalablementensemencées avec *Alternaria* sp. ou *Diaporthe* sp. Méthode couramment utilisée pour le criblage des extraits, qui consiste à déposer des disques de 5mm stérilisés et imprégnés avec l'extrait sur la gélose préalablementensemencée par la suspension sporale de la souche fongique teste. Les boites ainsi préparées sont d'abord mises à 4° pendant 3h puis incubées.

2.7. Etude du potentiel de bio-contrôle de *Bacillus sp* *Invivo* sur culture de concombre infectée par *Alternaria sp* et *Diaporthe sp*.

2.7.1. Désinfection superficielle des graines

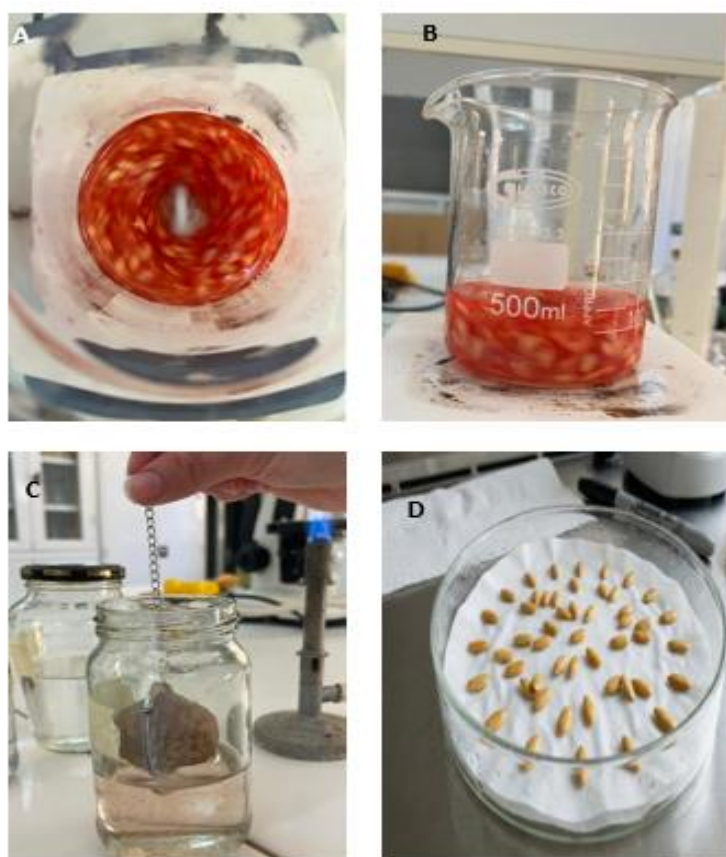
Afin d'éliminer les contaminants de surface des graines de concombre (*Cucumis sativus*), une désinfection superficielle a été réalisée selon les étapes suivantes :

Premier rinçage : Les graines ont d'abord été rincées à l'eau distillée stérile afin d'éliminer les débris de surface.

Désinfection à l'eau de Javel : Les graines ont ensuite été immergées dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 6% **sous agitation continue** pendant 10 minutes.

Rinçages successifs : Les graines ont ensuite subi trois à quatre rinçages successifs à l'eau distillée stérile pour éliminer complètement les traces de chlore résiduelles.

Séchage : Enfin, les graines ont été déposées sur du papier filtre stérile pour séchage. (*Les étapes de ce protocole sont illustrées dans la Figure 8*).



A ,B : Immersion dans l'eau de Javel sous agitation continue. C : Rinçages successifs. D : Séchage sur papier filtre stérile.

Figure 8: Principales étapes de la désinfection superficielle des graines de concombre.(A.B : Immersion dans l'eau de javel sous agitation continue . C : rinçage successifs. D : Séchage sur papier filtre stérile.). Source : Cliché personnel (2026).

2.7.2.Mise en pot : préparation du substrat de culture

Le substrat de culture utilisé est composé d'un mélange de terreau et de sable de rivière dans des proportions de 2:1 (v/v) (soit 2/3 de terreau et 1/3 de sable). Afin d'éliminer toute microflore résiduelle et d'éviter les contaminations, ce mélange a été stérilisé par autoclavage à 121 °C pendant 20 minutes. Cette opération a été répétée trois fois à 24 heures d'intervalle (pendant trois jours consécutifs). Après refroidissement complet en conditions stériles, le substrat a été réparti de manière homogène dans les pots de culture préalablement désinfectés.

Les différentes étapes chronologiques de cette préparation, allant du mélange initial des composants jusqu'au conditionnement final des pots de culture, sont illustrées dans la **Figure 9**

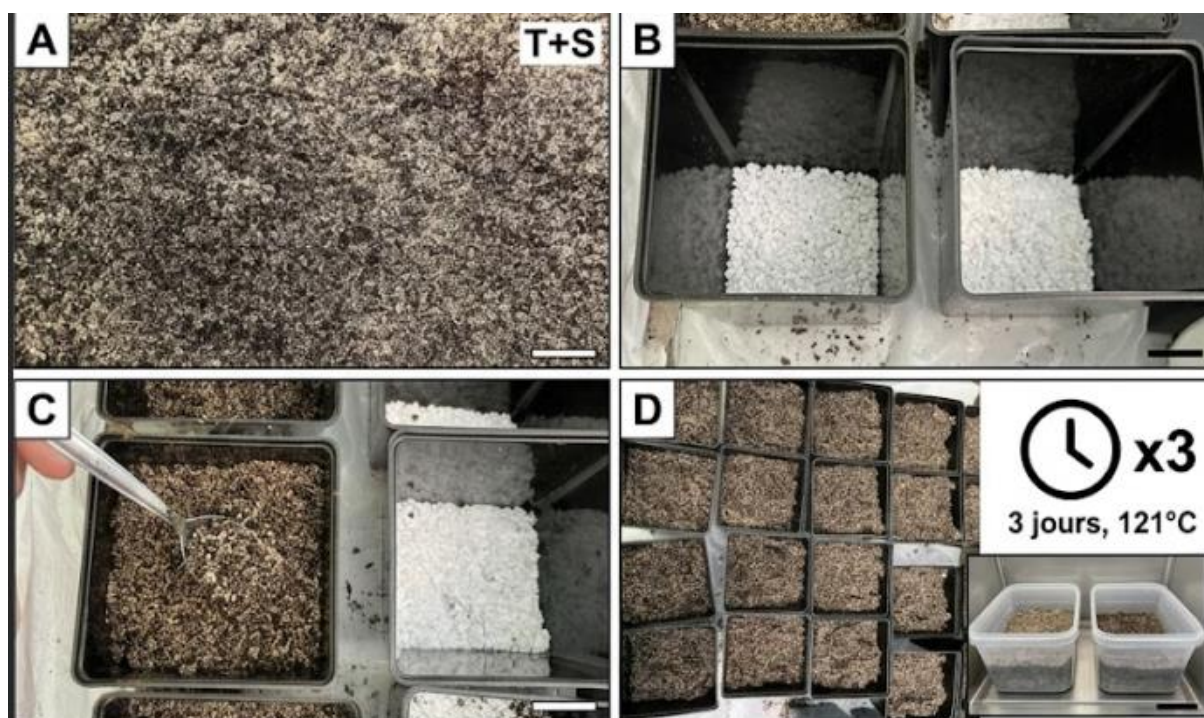


Figure 9: Étapes de préparation du substrat de culture et mise en pot. (A) Aperçu macroscopique du substrat de culture composé d'un mélange de terreau et de sable de rivière (proportions 2:1 v/v) ; (B) Disposition d'une couche uniforme de gravier au fond des pots de culture pour assurer un drainage optimal ; (C) Remplissage progressif des pots avec le mélange de substrat stérilisé ; (D) Lot complet de pots prêts pour l'expérimentation après un cycle de stérilisation par autoclavage répété trois fois à 121 °C pendant 20 minutes (à 24 heures d'intervalle). Source : Cliché personnel (2026).

2.7.3. Préparation de l'inoculum bactérien et inoculation des semences

La préparation de l'inoculum et l'enrobage des semences ont été adaptés de Compant *et al.* (2005), assurant une densité bactérienne standardisée par spectrophotométrie (DO600) avant l'immersion des graines.

La suspension bactérienne est préparée à partir d'une souche pure de *Bacillus* sur boîte de Pétri. Une colonie bien individualisée est prélevée puisensemencée dans un milieu liquide (bouillon nutritif). La culture est ensuite incubée à une température optimale de 30 °C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une croissance homogène. Avant toute manipulation, la culture est soumise à une agitation au vortex pour assurer une répartition uniforme des cellules bactériennes.

L'ajustement de la concentration bactérienne est réalisé afin d'obtenir un inoculum final calibré à 10^6 cellules par mL. Pour ce faire, la turbidité de la suspension mère est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600 nanomètres (DO600). En appliquant la loi de dilution ($C1 * V1 = C2 * V2$), des dilutions sérielles sont effectuées dans un diluant stérile jusqu'à l'obtention de la charge bactérienne cible (10^6 UFC par mL).

L'inoculation est réalisée directement sur les graines avant leur mise en pot. Les semences de concombre (*Cucumis sativus*), préalablement désinfectées, sont immergées dans la suspension bactérienne calibrée pendant 24 heures, pour permettre une adhésion optimale des bactéries à la surface du tégument. Les graines inoculées sont ensuite immédiatement déposées dans les pots de culture contenant le substrat stérile préparé précédemment.

2.7.4. Évaluation de la sévérité des symptômes de la maladie

Taux de sévérité (%) = [Somme de (Nombre de feuilles dans une classe x Note de cette classe) / (Nombre total de feuilles observées x Note maximale de l'échelle)] x 100

Pour évaluer l'importance des symptômes sur les plants de concombre, le taux de sévérité a été calculé selon la formule de (McKinney, 1923):

Chaque feuille de chaque plant est inspectée et classée selon une échelle de notation visuelle allant de 0 à 4, basée sur le pourcentage de surface foliaire touchée :

- Note 0 : Feuille totalement saine (0% de surface touchée).
- Note 1 : Symptômes légers (1% à 25% de la surface touchée).
- Note 2 : Symptômes modérés (26% à 50% de la surface touchée).
- Note 3 : Symptômes sévères (51% à 75% de la surface touchée).
- Note 4 : Feuille mortes, totalement nécrosée ou flétrie (76% à 100%).

Le calcul est ainsi appliqué : On multiplie le nombre de feuilles ayant obtenu la note 1 par 1, celles ayant obtenu la note 2 par 2, et ainsi de suite. On additionne tous ces résultats, puis on divise ce total par le nombre global de feuilles du pot multiplié par 4 (la note maximale). Le résultat final est multiplié par 100 pour obtenir un pourcentage de sévérité globale pour le pot.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1. Phase de revivification des souches

1.1 Caractérisation bactérienne et confirmation de sa pureté

L'aspect visuel des cultures de *Bacillus* sp., illustrant l'organisation des colonies sur les stries d'ensemencement, est présenté au niveau de la (**Figure 10**)

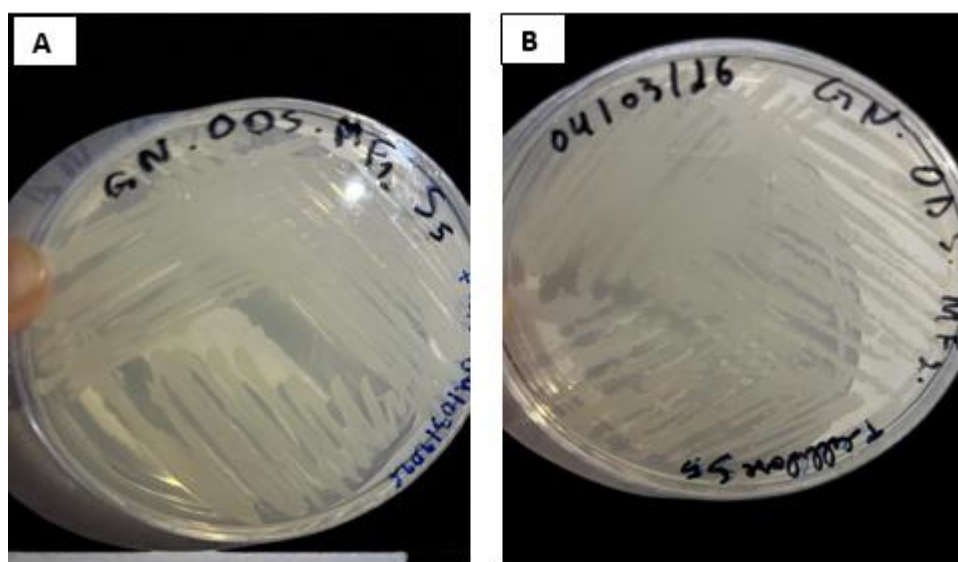


Figure 10: Aspect macroscopique de *Bacillus* sp. après 48 h d'incubation à 37°C sur milieu Gélose Nutritive. (a) Vue d'ensemble de la boîte de culture ; (b) Zoom sur l'aspect blanchâtre et les contours irréguliers des colonies. Source : Cliché personnel (2026).

La purification de la souche bactérienne sur milieu Gélose Nutritive (GN) après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C ont permis de mettre en évidence une croissance bactérienne positive. Les différentes caractéristiques morphologiques macroscopiques observées sont synthétisées dans le **Tableau 2**

Tableau 2: Caractéristiques morphologiques macroscopiques de *Bacillus* sp.

Paramètres morphologiques	Observations
Configuration / Forme générale	Irrégulière à diffuse

Taille des colonies	Moyenne à grande (colonies confluentes sur les stries)
Couleur / Pigmentation	Blanchâtre
Opacité	Opaque
Forme des bords	Irréguliers (ondulés / lobés)
Élévation	Plate à légèrement surélevée
Surface	Brillante
Consistance / Texture	Crémeuse, d'aspect sec à légèrement muqueux
Pureté de la culture	Excellente (aucune contamination observée)
Profil macroscopique présumptif	Compatible avec le genre <i>Bacillus</i> sp.

1.2. Coloration de Gram

L'examen microscopique après coloration de Gram a permis de déterminer les caractéristiques tinctoriales et structurales de *Bacillus* sp. (**Figure 11**). L'observation montre des cellules de forme allongée en bâtonnets (bacilles) en courtes chaînes. Ces bactéries ont retenu le colorant violet (cristal violet), ce qui indique un caractère **Gram positif**.

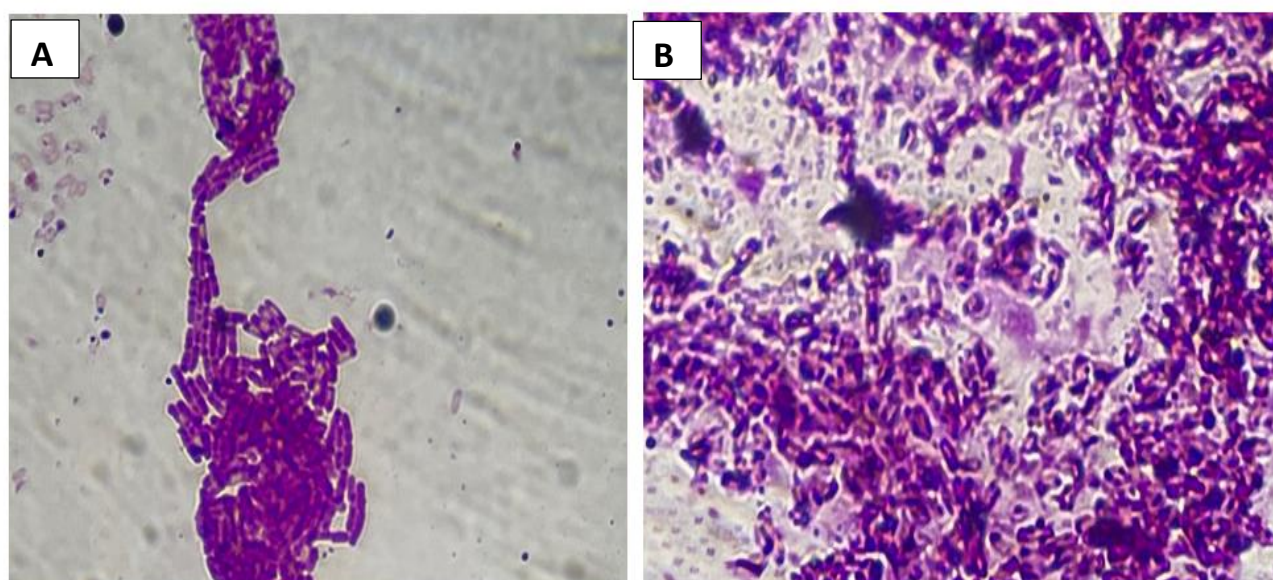


Figure 11: Morphologie microscopique de la souche de *Bacillus* sp. observée au microscope optique ($G \times 100$, immersion). (a) Vue d'ensemble montrant des bacilles organisés en amas ou courtes chaînes ; (b) Zoom mettant en évidence le caractère Gram-positif (coloration violette) et la présence d'endospores intracellulaires réfringentes (zones claires). Source : Cliché personnel (2026).

1.3. Coloration des spores

Afin de confirmer le caractère endosporulant suspecté lors de la coloration de Gram et d'observer les spores à un stade de libération complète, une coloration spécifique des spores a été réalisée. L'examen microscopique de cette préparation a permis de mettre en évidence la structure et l'abondance de ces formes de résistance (**Figure 12**). L'examen microscopique révèle la présence de structures ovalaires colorées en vert par le vert de malachite, situées en

position centrale ou subterminale à l'intérieur des cellules végétatives restées roses. Cela met en évidence l'aptitude de la souche *Bacillus* sp. à la **sporulation**.

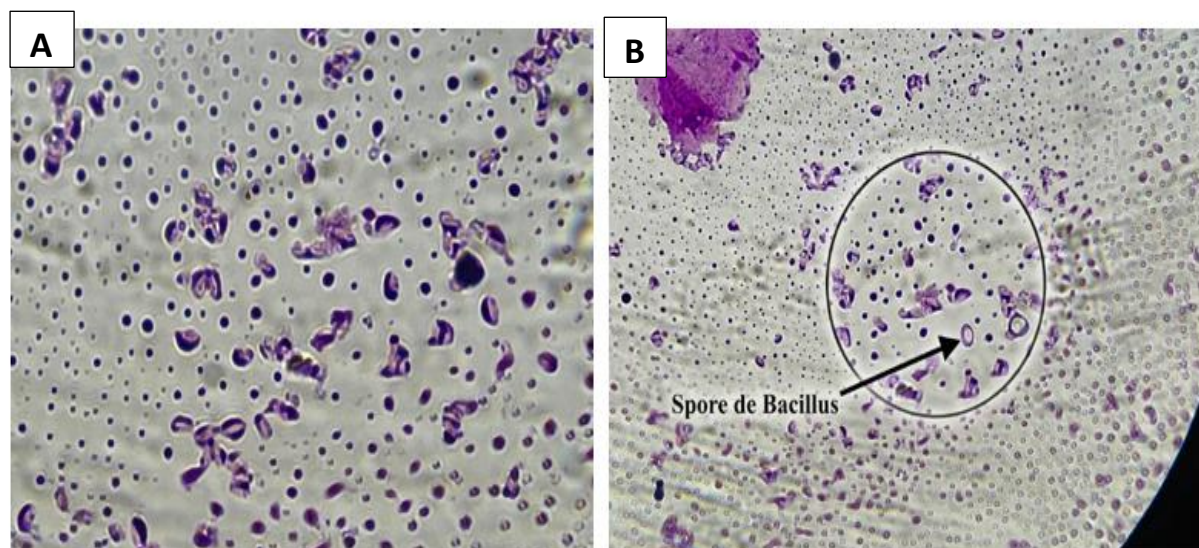


Figure 12: Observation microscopique des spores libres de la souche *Bacillus* sp. ($G \times 100$, immersion). (a) Vue d'ensemble montrant un tapis dense de spores individualisées après lyse cellulaire ; (b) Zoom sur la structure ovale et la forte réfringence des endospores caractéristiques du genre *Bacillus* sp. Source : Cliché personnel (2026).

1.2. Caractérisation des souches fongiques et confirmation de leur pureté

1.2.1. Caractérisation macroscopique des isolats fongiques

Les cultures réalisées sur milieu PDA ont révélé des caractéristiques morphologiques distinctes selon les deux genres étudiés. Les observations macroscopiques, synthétisées dans le Tableau 3, ont porté sur l'aspect général des colonies, leur texture et leur pigmentation (Figure 13). Les colonies de *Diaporth* sp. se présentent sous une coloration allant du blanc au crème, qui brunissent avec l'âge. En revanche, celles d'*Alternaria* sp. se caractérisent par une croissance rapide, avec une texture souvent granuleuse. Leur pigmentation varie du vert foncé au noir, pouvant être accompagnée de nuances grisâtres ou olivâtres.



Figure 13: Morphologie macroscopique des colonies d'*Alternaria sp.* (à gauche) et *Diaporth sp.* (à droite) cultivées sur milieu PDA. Source : Cliché personnel (2026).

Tableau 3: Caractéristiques macroscopiques des souches fongiques *Alternaria sp.* et *Diaporthe sp.*

Critères d'observation	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Diaporthe sp.</i>
Couleur du mycélium (avers)	Gris foncé à noir, avec une marge plus claire.	Beige clair à brun-jaune, plus foncé au centre.
Couleur du verso	Vert foncé à noir.	Beige à brun.
Aspect et texture	Dense, laineuse à duveteuse.	Feutrée, radiée, avec des zones de concentration.
Zonation	Moins marquée.	Parfois présente, radiée.
Forme des colonies	Circulaire, à bords réguliers.	Circulaire, radiée, avec des zones condensées.

1.2.2. Caractérisation micromorphologique des espèces fongiques

L'observation microscopique des champignons, effectuée à un grossissement de 100×, révèle les structures végétatives et sexuées caractéristiques du pathogène. Cette analyse a permis de confirmer l'identité de la souche *Diaporth sp.* en montrant un mycélium hyalin et septé. On distingue deux types de conidies : des conidies alpha, hyalines, ellipsoïdes à fusiformes, aseptées, et, plus rarement, des conidies bêta, filiformes. Nous avons aussi décelé la

présence des cellules conidiogènes (structures spécialisées des champignons ascomycètes) caractéristiques du genre *Diaporthe* (voir Figure 14).

Le mycélium d'*Alternaria* sp est mélanisé cloisonné, le conidiospore porte des spores dématiés allongées et multicloisonnées (Figure 15).

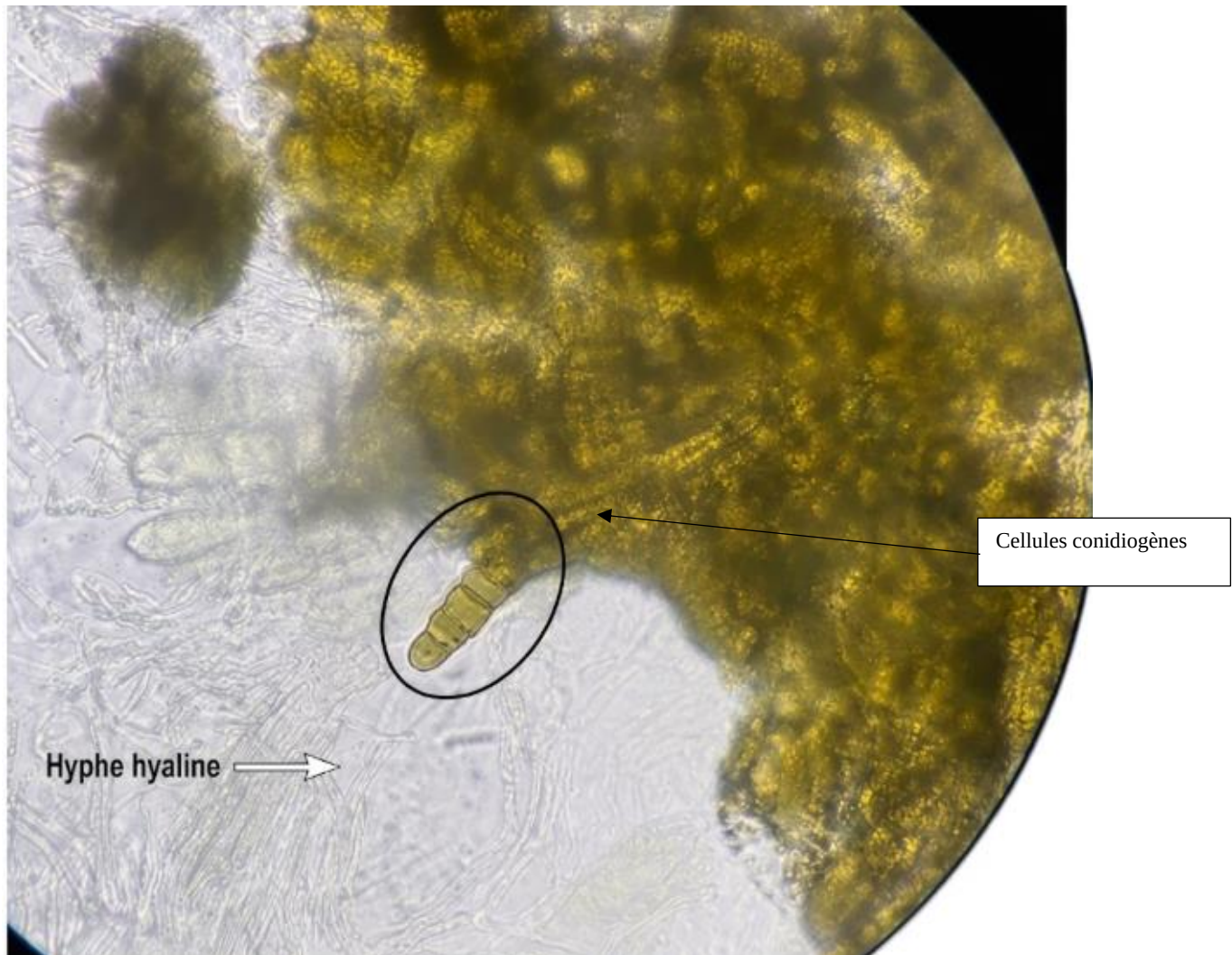


Figure 14: Observation microscopique ($G \times 100$) du mycélium de *Diaporthe* sp. La flèche indique les hyphes mycéliens ramifiées et cloisonnées formant le réseau végétatif, et le cercle noir délimite une zone d'agrégation des Cellules conidiogènes. Source : Cliché personnel (2026).

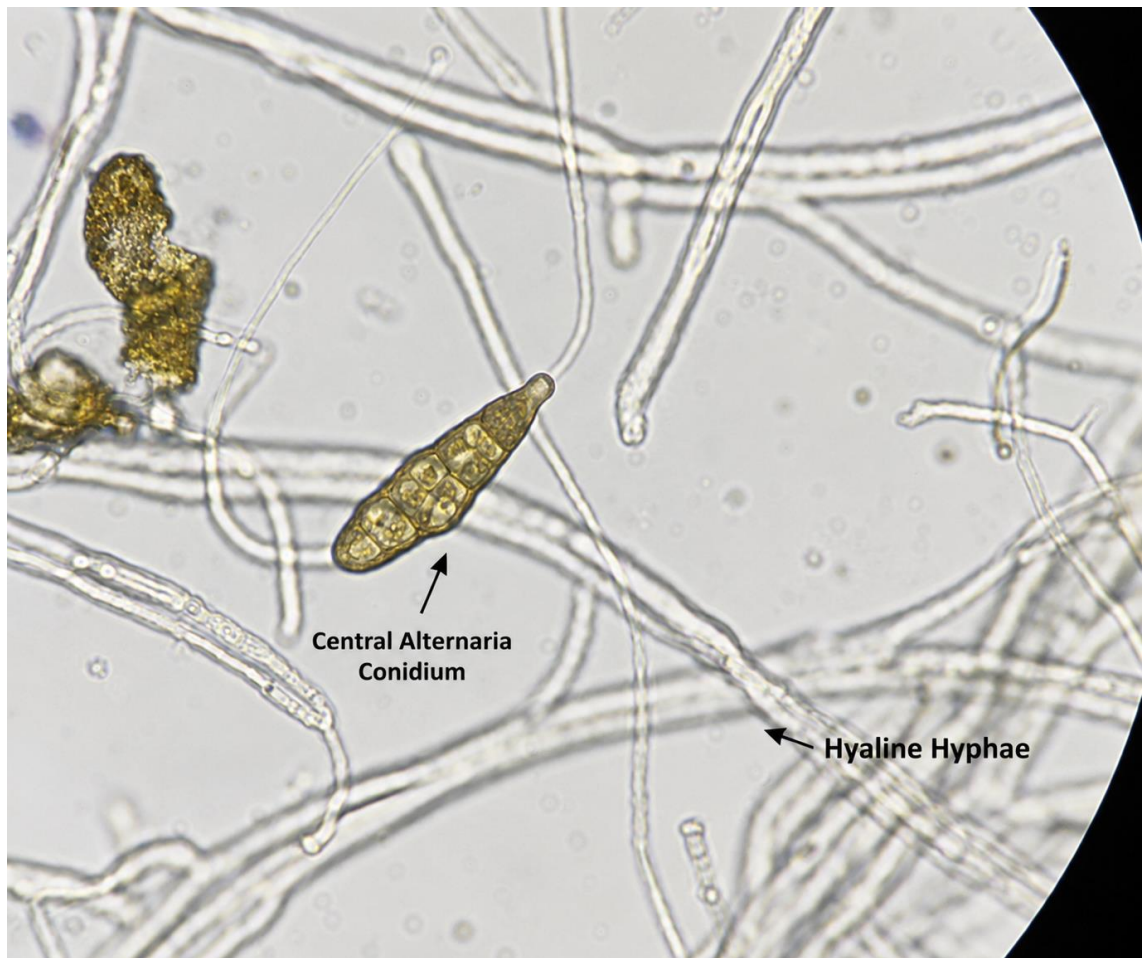


Figure 15: Observation microscopique ($G \times 100$) du conidiophore d'*Alternaria* sp. La micrographie montre des conidies pluricellulaires, brunes, présentant un cloisonnement muriforme typique (transversal et longitudinal). Source : Cliché personnel (2026).

1.3. Caractéristiques physiologiques de la bactérie

1.3.1. Test de catalase

La caractérisation biochimique de la souche *Bacillus* sp. a été complétée par la recherche de l'enzyme catalase. Ce test permet de déterminer la capacité de la bactérie à dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en dioxygène gazeux, dont le résultat visuel est illustré sur la **Figure 16**. L'observation directe montre une production immédiate et abondante de bulles de gaz dès la mise en contact de la colonie bactérienne avec le peroxyde d'hydrogène. Ce dégagement gazeux (oxygène) indique que la souche *Bacillus* sp. est **catalase positive**.



Figure 16: Mise en évidence de l'activité catalasique de la souche *Bacillus sp.* par dépôt d'une colonie bactérienne sur du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ à 10 volumes). Source : Cliché personnel (2026).

1.3.2. Test d'hydrolyse de l'amidon

L'activité amylolytique de la souche *Bacillus sp.* a été recherchée sur gélose enrichie en amidon afin de vérifier la production d'alpha-amylase extracellulaire. Le résultat obtenu après révélation au soluté de Lugol est illustré sur la **Figure 17**. L'addition du soluté de Lugol révèle la formation de halos clairs, translucides et bien définis autour de l'ensemble des colonies de la souche *Bacillus sp.*, se détachant sur un fond de gélose bleu-violet très foncé.

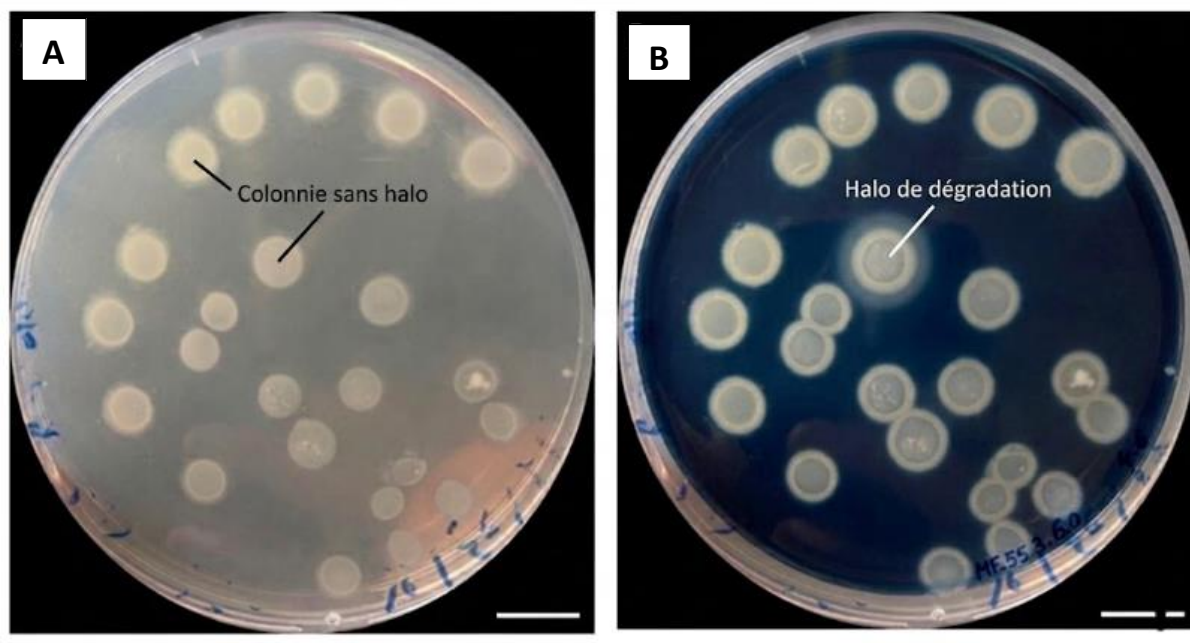


Figure 17: Test d'hydrolyse de l'amidon positif chez la souche *Bacillus* sp. mis en évidence par le soluté de Lugol. Source : Cliché personnel (2026).

1.3.3. Test de tolérance au sel

L'évaluation des exigences de croissance de la souche *Bacillus* sp. a été complétée par l'étude de son développement sur un milieu enrichi à 1,5 % de NaCl. Ce test permet de vérifier l'aptitude de la souche à se multiplier sous cette concentration saline, comme illustré sur la (Figure 18).

L'examen de la boîte montre un développement bactérien dense, opaque et homogène le long des stries d'ensemencement, indiquant une croissance active de la souche *Bacillus* sp. à cette concentration de 1,5 %.

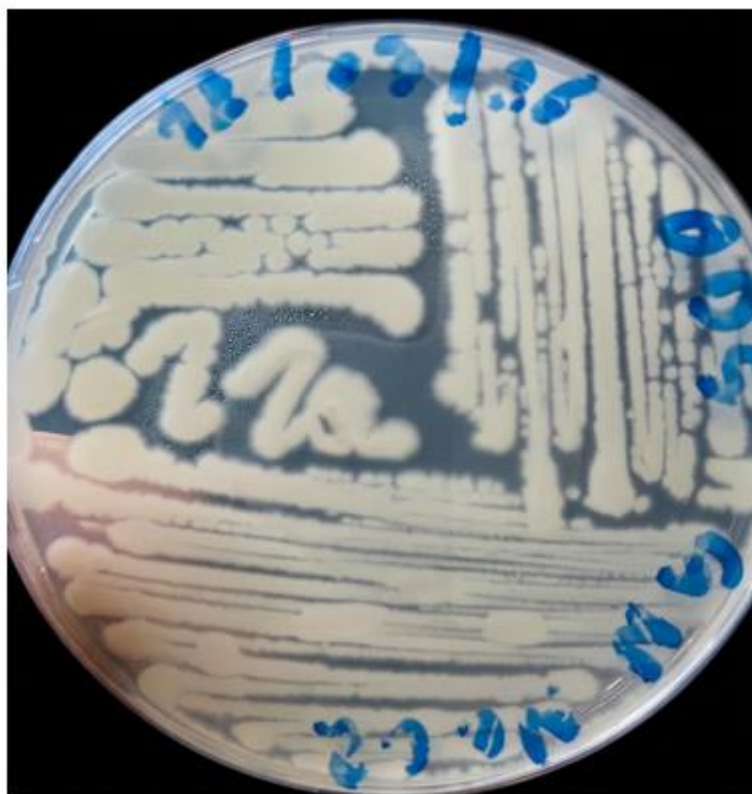


Figure 18: Croissance de la souche *Bacillus sp.* sur milieu contenant 1,5 % de NaCl. Source : Cliché personnel (2026).

2. Evaluation du potentiel antagoniste de la bactérie *In vitro*

2.1. Evaluation du potentiel antagoniste par test de confrontation directe

Le potentiel antifongique de la souche *Bacillus sp.* a été évalué en confrontation directe *in vitro* face à deux champignons phytopathogènes : *Alternaria sp.* et *Diaporthe sp.* Les résultats obtenus après incubation sont regroupés sur la (**Figure19**).

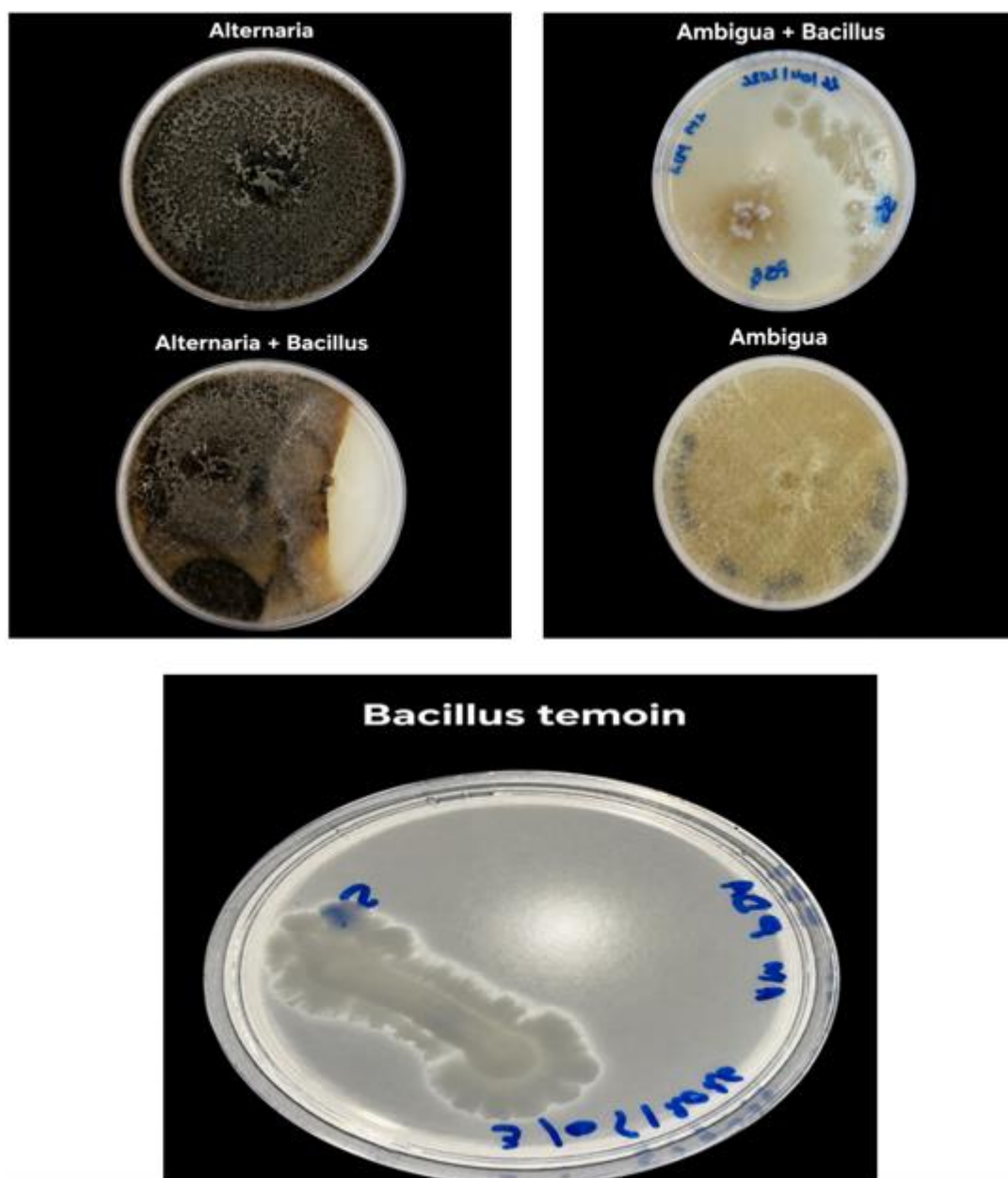


Figure 19:Activité antagoniste in vitro de la souche *Bacillus* sp. vis-à-vis des deux isolats fongiques pathogènes. (A) Confrontation directe avec *Alternaria* sp. (Témoin en haut, Confrontation en bas). (B) Confrontation directe avec *Diaporthe* sp. (Témoin en bas, Confrontation en haut). Source : Cliché personnel (2026).

L'examen macroscopique de la **(Figure 19 (A))** montre que le témoin d'*Alternaria* sp. colonise uniformément toute la surface de la boîte. En condition de confrontation, le mycélium du champignon progresse mais stoppe sa croissance de façon nette lorsqu'il arrive à proximité de *Bacillus* sp., formant une ligne de démarcation claire sans jamais envahir la colonie bactérienne.

Pour la confrontation avec *Diaporthe* sp. **(Figure 19 (B))**, un profil similaire est observé. Alors que le témoin fongique envahit totalement le milieu de culture, la présence de la souche

bactérienne bloque la progression périphérique du tapis mycélien. Le champignon s'arrête net le long de la zone occupée par le *Bacillus* sp., confirmant un effet fongistatique et un blocage spatial face aux deux pathogènes testés. Bien que l'antagonisme se manifeste principalement par un contact total — où la bactérie empêche toute extension du mycélium au-delà de sa zone de développement sans former de large zone de clairance — nous avons pu quantifier cette activité antifongique par des taux d'inhibition de 22,5 % pour *Alternaria* sp. et de 37,5 % pour *Diaporthe* sp..

2.2. Evaluation du potentiel antagoniste de l'extrait de la bactérie

Parallèlement aux tests de confrontation directe, l'activité de l'extrait brut de *Bacillus* sp. (obtenu par macération) avec un rendement d'extraction de

$$R (\%) = 32,5\%$$

a été évaluée par la méthode des disques vis-à-vis des deux pathogènes : *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp. Les résultats après incubation sont illustrés sur la (Figure 11).

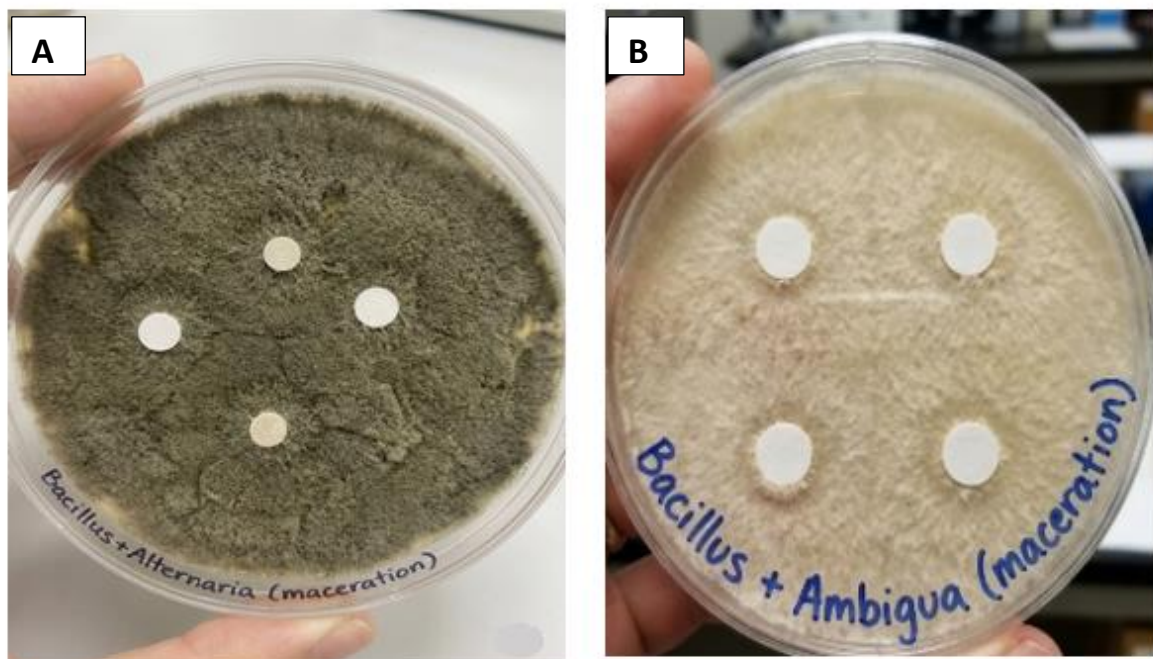


Figure 20:Évaluation de l'activité antifongique de l'extrait brut de *Bacillus* sp. par la méthode des disques. (A) Face à *Alternaria* sp. . (B) Face à *Diaporthe* sp. Source : Cliché personnel (2026).

L'examen macroscopique de la **Figure 20 (A et B)** montre une absence totale de zone d'inhibition ou de halo limpide autour des disques de papier imprégnés de l'extrait brut bactérien. Les filaments mycéliens d'*Alternaria* sp. et de *Diaporthe* sp. ont colonisé la totalité de la gélose, progressant jusqu'au contact direct des disques. Ce résultat indique que l'extrait brut, aux concentrations testées et via ce protocole de macération, ne manifeste pas d'activité fongitoxique directe *in vitro*.

3.Étude du potentiel de bio-contrôle de *Bacillus* sp. sur culture de concombre infectée par *Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.

L'évaluation de l'effet protecteur de la souche *Bacillus* sp. a été réalisée *in vivo* sur de jeunes plantes de concombre (*Cucumis sativus*) soumises à une infection par les deux phytopathogènes (*Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.). Le suivi des paramètres de croissance (hauteur des plants et, nombre total de feuilles) ainsi que l'évolution des symptômes macroscopiques ont été consignés au 6ème et au 8ème et au 12ème jour après l'infection. L'ensemble de ces données est regroupé dans le **Tableau 7**.

Tableau 4: Suivi temporel de la croissance et de la sévérité des maladies sur des plants de concombre après inoculation avec *Bacillus* sp. et des isolats phytopathogènes (*Alternaria* sp. et *Diaporthe* sp.).

Paramètres	Temps	<i>Bacillus</i>	<i>Diaporthe</i>	<i>Bacillus</i> + <i>Diaporthe</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> + <i>Bacillus</i>
Hauteur (cm)	6j	8,67 ± 4,04	13,50 ± 7,78	9,13 ± 2,87	6,00 ± 0,00	14,5 ± 1,0
	8j	9,33 ± 4,62	14,00 ± 6,50	11,46 ± 2,82	7,20 ± 1,10	15,0 ± 1,5
	12j	10,73 ± 4,10	14,80 ± 5,20	13,33 ± 3,32	8,50 ± 1,50	15,8 ± 1,2
Feuilles Totales	6j	7,00 ± 4,58	7,00 ± 4,24	5,00 ± 1,50	4,00 ± 0,00	8,00 ± 3,00
	8j	8,00 ± 5,20	7,50 ± 3,80	5,00 ± 1,50	5,00 ± 1,00	8,00 ± 3,00
	12j	9,33 ± 5,69	8,00 ± 4,00	8,00 ± 2,00	6,00 ± 1,20	11,5 ± 2,5

Feuilles Malades	6j	1,67 2,08	±	1,00 ± 1,41	0,66 ± 0,57	2,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	8j	1,67 2,08	±	3,00 ± 1,00	1,33 ± 0,50	3,50 ± 0,50	3,50 ± 0,5
	12j	1,67 2,08	±	5,00 ± 1,50	1,33 ± 0,50	5,00 ± 0,50	3,50 ± 0,5
Sévérité (%)	6j	~5,00		~10,00	7,50 ± 3,53	~40,00	30,0 ± 5,0
	8j	~5,00		~35,00	8,33 ± 5,77	~65,00	40,0 ± 10,0
	12j	~2,00		~60,00	4,33 ± 3,21	~85,00	17,5 ± 2,5
Observations Visuelles (Détails des symptômes)	12 j	Bonne croissance globale.		Forte attaque, jaunissement généralisé de la plante.	Les symptômes sont confinés aux vieilles feuilles, le reste grandit	Flétrissement total de la majorité des feuilles, dessèchement	La feuille morte reste visible, mais développement de nouvelles feuilles saines.

L'analyse comparative du paramètre de la croissance apicale et phytopathologiques révèle que la bactérie endophyte *Bacillus* exerce un double rôle majeur de biostimulant et d'agent de biocontrôle face aux attaques des champignons pathogènes *Alternaria* et *Diaporthe*.

En condition saine, l'inoculation de *Bacillus* sécurise une dynamique de croissance globale optimale, tandis que son introduction conjointe avec les agents pathogènes induit une résilience remarquable de la plante.

En effet, face à la virulence d'*Alternaria*, dont l'attaque isolée s'avère critique avec un taux de sévérité culminant à 85 % et un flétrissement généralisé à 12 jours. La co-inoculation avec *Bacillus* non seulement stimule la croissance en hauteur maximale (15,8 cm) et l'émission foliaire (11,5 feuilles), mais parvient également à inverser la courbe de progression de la maladie en réduisant sa sévérité à seulement 17,5 %. Ce mécanisme de protection par compensation, caractérisé par le développement continu de nouvelles feuilles saines malgré la persistance de tissus nécrosés, se manifeste de façon tout aussi probante contre *Diaporthe* où les symptômes demeurent strictement confinés aux strates foliaires sénescents, stabilisant la sévérité à un seuil négligeable de 4,33 %.

Ces résultats démontrent rigoureusement l'aptitude de cet endophyte à atténuer l'impact des stress biotiques probablement par l'activation conjointe de voies de stimulation de croissance (PGPR) et de mécanismes d'exclusion ou de tolérance induite face aux phytopathogènes cibles.

L'impact symptomatique des pathogènes sur le développement foliaire du concombre est illustré dans la **Figure 21**.

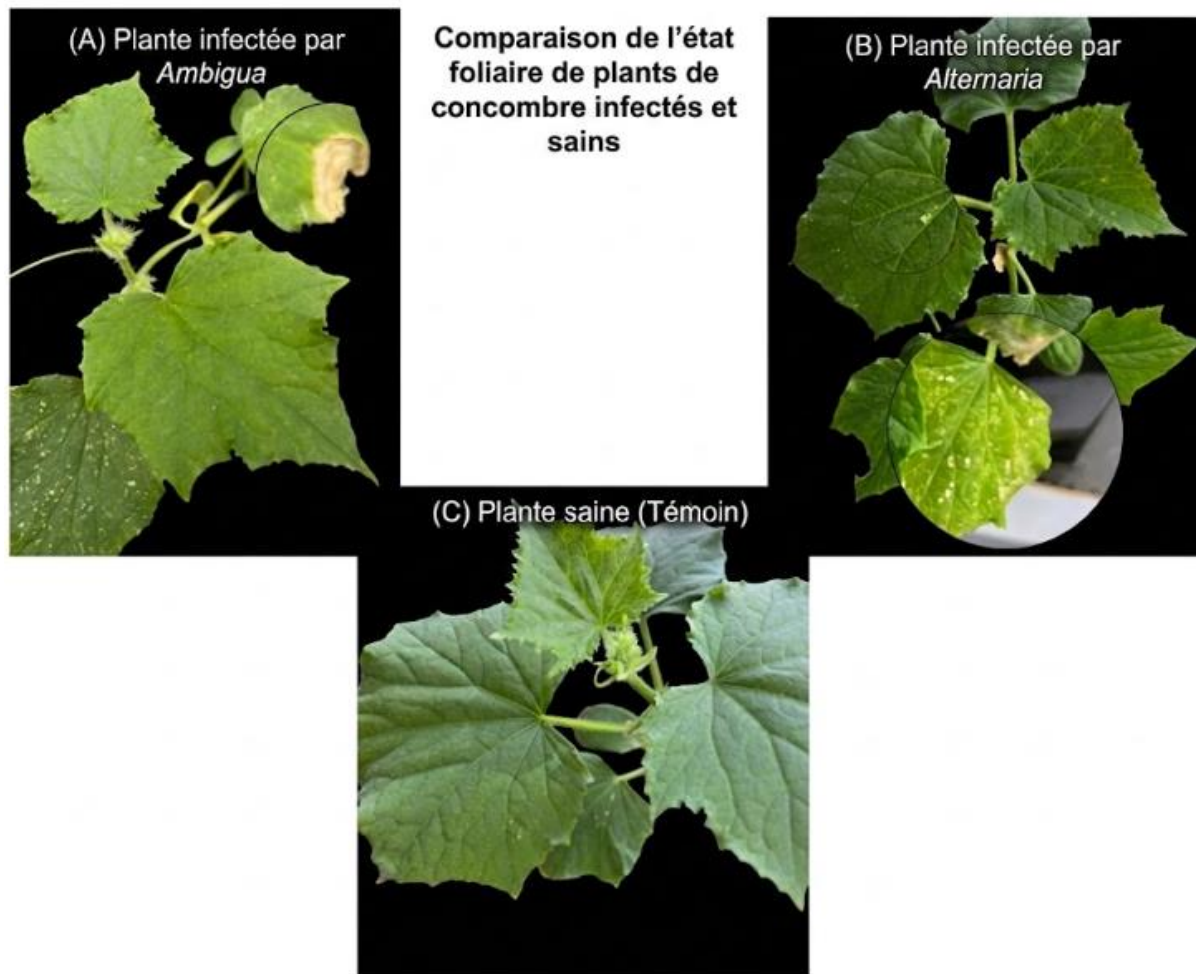


Figure 21: Comparaison de l'état foliaire de plants de concombre infectés et sains. (A) Plante infectée par *Diaporth*, (B) Plante infectée par *Alternaria*, (C) Plante saine (Témoin). Source : Cliché personnel (2026).

Cette figure met en évidence les altérations foliaires induites par les isolats phytopathogènes comparativement au plant témoin. On observe des nécroses localisées et des taches foliaires caractéristiques sur les plants infectés, soulignant la virulence des souches testées dans les conditions expérimentales.

2. Discussion

La recherche d'alternatives durables aux intrants chimiques en agriculture met en avant le rôle potentiel des rhizobactéries promotrices de la croissance végétale, particulièrement celles du genre *Bacillus*. Dans notre étude, la souche bactérienne a été évaluée pour son effet protecteur supposé vis-à-vis de deux champignons phytopathogènes affectant le concombre, *Alternaria sp.* et *Diaporthe sp.* La revivification de la souche *Bacillus sp.* a révélé des colonies blanches, opaques et à bords irréguliers sur gélose nutritive. Associées à un caractère Gram-positif et à la présence de bacilles endosporulants observés lors des colorations, ces caractéristiques macro- et microscopiques permettent de confirmer la pureté de l'espèce ainsi que de supposer l'appartenance de la souche au genre *Bacillus sp.* La réaction positive au test de la catalase appuie cette orientation en montrant la capacité présumée de la souche à dégrader le peroxyde d'hydrogène. Notre description rejoint les critères de caractérisation morphologique rapportés dans la littérature (Patel et Gupta, 2020 ; Crivelli *et al.*, 2024). En effet, le genre *Bacillus* se caractérise par sa capacité à former des spores en réponse à des conditions défavorables ; il a été démontré que ces spores résistent à la chaleur, à la dessiccation et aux rayonnements (Vardharajula *et al.*, 2011). L'espèce *B. subtilis*, en particulier, a fait l'objet d'études en tant que modèle pour le processus de sporulation.

Sur le plan physiologique, la souche bactérienne montre une activité amylolytique mise en évidence par un halo de dégradation après l'ajout de soluté de Lugol. Cette aptitude permet d'émettre l'hypothèse d'une capacité à sécréter des amylases extracellulaires pour hydrolyser l'amidon, ce qui pourrait lui offrir un avantage pour utiliser les exsudats racinaires de la plante (Huang *et al.*, 2022). La capacité de *Bacillus* à dégrader l'amidon a longtemps été rapportée par divers auteurs (Tilden et Hudson, 1942 ; Bano *et al.*, 2011). De plus, la tolérance à une concentration de 1,5 % de NaCl suggère une capacité potentielle à maintenir son développement sous un stress salin modéré, comme l'ont rapporté Ibarra-Villar *et al.* (2021). Selon les travaux de Olanrewaju *et al.* (2017), cette tolérance chez *Bacillus* pourrait s'expliquer par l'accumulation d'osmolytes, un atout écologique pour la persistance lors de la colonisation racinaire.

Concernant les tests *in vitro*, une divergence apparaît entre le contact cellulaire direct et l'action de l'extrait brut. En confrontation directe, *Bacillus sp.* induit un blocage spatial net face aux deux pathogènes. On peut supposer que ce profil fongistatique traduit une compétition pour l'espace et les nutriments, potentiellement liée à la libération locale de métabolites secondaires. À l'inverse, l'analyse de l'extrait brut par macération montre une absence de halo

d'inhibition. On peut émettre l'hypothèse que cette absence d'activité est liée à des facteurs méthodologiques. La production de lipopeptides antifongiques par *Bacillus* est souvent un phénomène inductible, maximisé principalement en présence du pathogène comme le rapportent Cawoy *et al.* (2014). De plus, une simple macération pourrait s'avérer insuffisante pour extraire ces molécules, qui nécessiteraient éventuellement des solvants organiques pour être concentrées, contrairement à un filtrat de culture standard, comme le suggèrent Arguelles-Arias *et al.* (2009).

Les essais menés *in vivo* confirment le potentiel bioprotecteur supposé de *Bacillus sp.*, avec des dynamiques différentes selon le pathogène. Face à *Diaporthe sp.*, la protection semble optimale. L'analyse du sixième au douzième jour montre que l'infection reste confinée, avec un taux de sévérité qui diminue pour atteindre un niveau faible au douzième jour. Les plants maintiennent une croissance régulière et forment de nouvelles feuilles saines. On peut supposer que la souche *Bacillus sp.* limite la progression du champignon en s'établissant efficacement à la surface des racines. À titre d'exemple, il a été démontré que les polysaccharides racinaires sont capables d'induire la formation d'une matrice de biofilm protectrice chez *Bacillus subtilis*, renforçant ainsi son efficacité en tant qu'agent bénéfique (Beauregard *et al.*, 2013). Cette colonisation active, associée à d'autres activités enzymatiques potentielles *in vivo* comme les chitinases, pourrait dégrader les composants de la paroi de ce champignon, limitant ainsi l'apparition des symptômes, ce qui rejoindrait les observations de Saldajeno *et al.* (2014) sur le contrôle des complexes de *Diaporthe*.

L'interaction avec *Alternaria* s'avère initialement plus agressive, marquée au sixième et huitième jour par des nécrobioses foliaires et une stagnation de la croissance. Cependant, une évolution se produit entre le huitième et le douzième jour, où le taux de sévérité baisse et les plants émettent de nouvelles feuilles saines. On peut supposer l'existence d'un mécanisme d'induction de la résistance systémique par *Bacillus sp.* *Alternaria* possède un mycélium généralement mélanisé, ce qui pourrait protéger le champignon contre une lyse enzymatique directe au début de l'infection, selon les hypothèses de Gomez et Nosanchuk (2003). L'effet protecteur de la souche de *Bacillus* ne reposerait donc pas sur une action destructrice immédiate, mais suggérerait plutôt une stimulation des voies de défense de la plante, permettant au concombre de surmonter la pression du pathogène et de développer un nouveau feuillage sain, ce qui s'accorderait avec les conclusions de Fira *et al.* (2018) et Malki *et al.* (2021). En conclusion, l'analyse macroscopique *in vivo* permet de supposer que l'introduction de la souche

de *Bacillus* induit une bioprotection efficace, modérant l'impact d'*Alternaria* et limitant le pouvoir pathogène de *Diaporthe sp.*

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif principal de ce travail de recherche était d'évaluer les aptitudes de biocontrôle d'un isolat bactérien local vis-à-vis de deux phytopathogènes fongiques majeurs affectant les cultures de concombre (*Cucumis sativus* L.). À travers cette étude, nous avons cherché à mettre en évidence une alternative biologique capable de limiter l'impact des maladies de stress biotique tout en s'inscrivant dans une démarche d'agriculture durable.

En premier lieu, les investigations morphologiques et biochimiques menées sur notre isolat bactérien ont révélé des caractéristiques typiques du genre ***Bacillus* sp.** Il s'agit d'un bacille Gram-positif, catalase positive, capable de produire des endospores thermorésistantes. Sur le plan physiologique, cette souche a manifesté une remarquable plasticité écologique en tolérant des concentrations salines de 1,5 % de NaCl et en exprimant une forte activité amylasique extracellulaire, ce qui témoigne de son potentiel d'adaptation dans la rhizosphère.

En second lieu, les essais de protection biologique menés *in vivo* sous serre ont apporté des preuves concrètes de l'efficacité de *Bacillus* sp. :

- Contre ***Diaporthe* sp.**, l'inoculation bactérienne a induit une protection stable tout au long de l'expérience, se traduisant par un gain de croissance régulier des plants (atteignant 13,3 cm) et une absence totale de symptômes vasculaires ou foliaires.

- Contre ***Alternaria* sp.**, malgré une phase de sensibilité initiale marquée par une stagnation de croissance et l'apparition de nécroses chez la plante, la bactérie a manifesté un effet protecteur tardif déterminant. Entre le 8ème et le 12ème jour, nous avons enregistré une réduction notable de la sévérité des attaques fongiques, parallèlement à la reprise de la croissance et à l'émergence de nouvelles feuilles saines.

Ces observations suggèrent que *Bacillus* sp. n'agit pas seulement par un antagonisme direct, mais qu'elle est capable d'activer les mécanismes de défense systémique de l'hôte (ISR), permettant au concombre de surmonter progressivement l'infection. La capacité de cette souche à sporuler constitue un atout majeur pour sa survie et sa future application agronomique.

En conclusion, les résultats générés au cours de ce mémoire confirment que la souche locale *Bacillus* sp. possède un potentiel biotechnologique prometteur. Son utilisation comme agent de biocontrôle ouvre des perspectives concrètes pour réduire l'usage intensif des fongicides chimiques en cultures sous serre.

Pour prolonger la dynamique de ce travail, plusieurs axes de recherche sont envisageables :

- Réalisation du séquençage de l'ARN ribosomique 16S de la bactérie afin de définir précisément son statut taxonomique au niveau de l'espèce ;
- identification et quantification par des méthodes chimiques (comme la HPLC) les lipopeptides (surfactines, iturines, fengycines) ou les hormones végétales (AIA) sécrétés par la bactérie, afin d'élucider précisément ses modes d'action ;
- suivre la cinétique d'établissement de la bactérie et sa capacité à former un biofilm protecteur persistant autour des racines du concombre ;
- et transposer ces essais sous serre vers des parcelles de plein champ pour évaluer la stabilité de cette protection biologique face aux fluctuations climatiques réelles et mesurer son impact direct sur le rendement fruitier final.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture : Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1-12.
<https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- Antoun, H., & Kloepper, J. (2001). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). In *Encyclopedia of Genetics* (p. 1477-1480). Elsevier.
<https://doi.org/10.1006/rwgn.2001.1636>
- Babalola, O. O., & Akindolire, A. M. (2011). *Identification of native rhizobacteria peculiar to selected food crops in Mmabatho municipality of South Africa : Biological Agriculture & Horticulture : Vol 27, No 3-4*. Consulté 19 mai 2026, à l'adresse
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01448765.2011.647798>
- Belabid, L. (2019). La plasticulture en Algérie et la protection des cultures maraîchères. *Journal Algérien Agronomique*.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berg, G., Grube, M., Schlöter, M., & Smalla, K. (2014). Unraveling the plant microbiome : Looking back and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 5.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00148>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) : Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327-1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Biermann, R., & Beutel, S. (2023). Endospore production of *Bacillus* spp. For industrial use. *Engineering in Life Sciences*, 23(11), e2300013.
<https://doi.org/10.1002/elsc.202300013>

- Bumunang, E. W., Babalola, O. O., & Barros, E. (2018). *Bacterial Community Profiling in the Rhizosphere of Field Grown GM and Non-GM maize*.
- Cámara-Ruiz, M., Balebona, M. C., Moriñigo, M. Á., & Esteban, M. Á. (2020). Probiotic *Shewanella putrefaciens* (SpPdp11) as a Fish Health Modulator : A Review. *Microorganisms*, 8(12), 1990. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121990>
- Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V. J., & Raaijmakers, J. M. (2019). Ecology and Evolution of Plant Microbiomes. *Annual Review of Microbiology*, 73(Volume 73, 2019), 69-88. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062524>
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 4951-4959.
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Delaux, P.-M., & Schornack, S. (2021a). Plant evolution driven by interactions with symbiotic and pathogenic microbes. *Science*, 371(6531), eaba6605. <https://doi.org/10.1126/science.aba6605>
- Delaux, P.-M., & Schornack, S. (2021b). Plant evolution driven by interactions with symbiotic and pathogenic microbes. *Science*, 371(6531), eaba6605. <https://doi.org/10.1126/science.aba6605>
- Dey, R., Pal, K. K., & Tilak, K. V. B. R. (2012). Influence of Soil and Plant Types on Diversity of Rhizobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 82(3), 341-352. <https://doi.org/10.1007/s40011-012-0030-4>

- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J., & Stanković, S. (2018). Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*, 285, 44-55.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>
- Fisher, M. C., Hawkins, N. J., Sanglard, D., & Gurr, S. J. (2018). Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science*, 360(6390), 739-742. <https://doi.org/10.1126/science.aap7999>
- Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S. (2023). The biofilm matrix : Multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21(2), 70-86. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00791-0>
- Flores-Saavedra, M., Plazas, M., Vilanova, S., Prohens, J., & Gramazio, P. (2023). Induction of water stress in major Solanum crops : A review on methodologies and their application for identifying drought tolerant materials. *Scientia Horticulturae*, 318, 112105. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112105>
- Gao, M., Xiong, C., Gao, C., Tsui, C. K. M., Wang, M.-M., Zhou, X., Zhang, A.-M., & Cai, L. (2021). Disease-induced changes in plant microbiome assembly and functional adaptation. *Microbiome*, 9(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01138-2>
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 109-117. <https://doi.org/10.1139/m95-015>
- Goswami, D. (2017). *Full article : Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : A review.*
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2015.1127500>
- Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR : Commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395-412. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>

- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., & Nain, L. (2021a). PGPR Mediated Alterations in Root Traits : Way Toward Sustainable Crop Production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., & Nain, L. (2021b). PGPR Mediated Alterations in Root Traits : Way Toward Sustainable Crop Production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 618230. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>
- Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., Mirza, M. S., & Imran, A. (2021). Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>
- Idris, E. E., Iglesias, D. J., Talon, M., & Borriss, R. (2007). Tryptophan-Dependent Production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Affects Level of Plant Growth Promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 20(6), 619-626. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-6-0619>
- Jang, H., Choi, S. Y., Mun, W., Jeong, S. H., & Mitchell, R. J. (2022). Predation of colistin- and carbapenem-resistant bacterial pathogenic populations and their antibiotic resistance genes in simulated microgravity. *Microbiological Research*, 255, 126941. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126941>
- Kim, S. A., Lee, C. Y., Mitra, A., Kim, H., Woo, B. Y., Hong, Y. D., Noh, J. K., Yi, D.-K., Kim, H. G., & Cho, J. Y. (2021a). Anti-Inflammatory Effects of *Huberia peruviana* Cogn. Methanol Extract by Inhibiting Src Activity in the NF- κ B Pathway. *Plants*, 10(11), 2335. <https://doi.org/10.3390/plants10112335>
- Kim, S. A., Lee, C. Y., Mitra, A., Kim, H., Woo, B. Y., Hong, Y. D., Noh, J. K., Yi, D.-K., Kim, H. G., & Cho, J. Y. (2021b). Anti-Inflammatory Effects of *Huberia peruviana*

- Cogn. Methanol Extract by Inhibiting Src Activity in the NF- κ B Pathway. *Plants*, 10(11), 2335. <https://doi.org/10.3390/plants10112335>
- Kim, S. A., Lee, C. Y., Mitra, A., Kim, H., Woo, B. Y., Hong, Y. D., Noh, J. K., Yi, D.-K., Kim, H. G., & Cho, J. Y. (2021c). Anti-Inflammatory Effects of *Huberia peruviana* Cogn. Methanol Extract by Inhibiting Src Activity in the NF- κ B Pathway. *Plants*, 10(11), 2335. <https://doi.org/10.3390/plants10112335>
- Kim, S. A., Lee, C. Y., Mitra, A., Kim, H., Woo, B. Y., Hong, Y. D., Noh, J. K., Yi, D.-K., Kim, H. G., & Cho, J. Y. (2021d). Anti-Inflammatory Effects of *Huberia peruviana* Cogn. Methanol Extract by Inhibiting Src Activity in the NF- κ B Pathway. *Plants*, 10(11), 2335. <https://doi.org/10.3390/plants10112335>
- Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. *Proceedings of the International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 4, 879-882.
- Li, F., Ma, Y., Yi, Y., Ren, M., Li, L., Chen, Y., Li, A., Han, S., Tang, H., Jia, H., Wang, X., & Li, J. (2023). Nitric oxide induces S-nitrosylation of CESA1 and CESA9 and increases cellulose content in *Arabidopsis* hypocotyls. *Plant Physiology and Biochemistry*, 196, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.01.032>
- Liu, F., Liu, Y., Zou, J., Zhang, L., Zheng, H., Luo, Y., Wang, X., & Wang, L. (2023). Molecular Characterization and Efficacy Evaluation of Transgenic Maize Harboring cry2Ab-vip3A-cp4epsps for Insect Resistance and Herbicide Tolerance. *Plants*, 12(3), 612. <https://doi.org/10.3390/plants12030612>
- Liu, W., Tang, X., Fu, X., Zhang, H., Zhu, C., Zhang, N., & Si, H. (2023). Functional Characterization of Potato UBC13-UEV1s Genes Required for Ubiquitin Lys63 Chain to Polyubiquitination. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2412. <https://doi.org/10.3390/ijms24032412>

- Lugtenberg, B. (2005). *Root colonization by beneficial rhizobacteria* | *FEMS Microbiology Reviews* | Oxford Academic.
<https://academic.oup.com/femsre/article/48/1/fuad066/7472113>
- Lyu, D., Zajonc, J., Pagé, A., Tanney, C. A. S., Shah, A., Monjezi, N., Msimbira, L. A., Antar, M., Nazari, M., Backer, R., & Smith, D. L. (2021). Plant Holobiont Theory : The Phytomicrobiome Plays a Central Role in Evolution and Success. *Microorganisms*, 9(4), 675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040675>
- Madjida, B. (2022). *PGPR et leur action sur les mécanismes de tolérance au stress abiotiques* [Thesis, university center of abdalhafid boussouf - MILA]. <http://dspace.centre-univ-mila.dz/jspui/handle/123456789/2159>
- Mahanty, B., Mishra, R., & Joshi, R. K. (2023). Fusarium oxysporum f. Sp. Cepae small RNAs (Foc-sRNAs) promote disease susceptibility in onion (Allium cepa L.) through cross kingdom RNA interference. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 125, 102018. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102018>
- McKinney, H. H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by Helminthosporium sativum. *Journal of Agricultural Research*, 26, 195-218.
- Miljaković, D., Marinković, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The Significance of *Bacillus* spp. In Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. *Microorganisms*, 8(7), 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>
- Nanbo, A. (2020). Epstein-Barr Virus Exploits the Secretory Pathway to Release Virions. *Microorganisms*, 8(5), 729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050729>
- Nazari-Vanani, R., & Negahdary, M. (2024). Recent advances in electrochemical aptasensors and genosensors for the detection of pathogens. *Environmental Research*, 243, 117850. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117850>

- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical Pesticides and Human Health : The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Ri, O., & Di, U. (2016). Evaluation of the Anti-asthmatic and Antitussive Effects of Aqueous Leaf Extract of *Ocimum gratissimum* in Rodents. *Medicinal & Aromatic Plants*, 05(02). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000235>
- Rincón-Molina, C. I., Ruíz-Valdiviezo, V. M., Rincón-Rosales, R., & Flores Félix, J. D. (2023). Editorial : Plant growth-promoting bacteria as a key tool for future agriculture: Agronomic, molecular and omics approaches. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1168891. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1168891>
- Ryan, M. G., Sapes, G., Sala, A., & Hood, S. M. (2015). Tree physiology and bark beetles. *New Phytologist*, 205(3), 955-957. <https://doi.org/10.1111/nph.13256>
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3), 430-439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Schaeffer, A. B., & Fulton, M. D. (1933). A Simplified Method of Staining Endospores. *Science*, 77(1990), 194-194. <https://doi.org/10.1126/science.77.1990.194>
- Shahid, M. (2019). Ecology and Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Landscape. In *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (p. 1-15). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00001-X>
- Tan, M. S. F., White, A. P., Rahman, S., & Dykes, G. A. (2016). Role of Fimbriae, Flagella and Cellulose on the Attachment of *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 to Plant

- Cell Wall Models. *PLOS ONE*, 11(6), e0158311.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158311>
- Thomma, B. P. H. J. (2003). *Alternaria* spp. : From general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225-236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>
- Udayanga, D., Liu, X., McKenzie, E. H. C., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H. A., & Hyde, K. D. (2011). The genus *Phomopsis* : Biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. *Fungal Diversity*, 50(1), 189-225.
<https://doi.org/10.1007/s13225-011-0126-9>
- Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., Rajput, V. D., Chauhan, P. K., Bhojiya, A. A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., & Minkina, T. (2022). Root Exudates : Mechanistic Insight of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Crop Production. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916488>
- Van Rooyen, D., Erasmus, J. H., Gerber, R., Nachev, M., Sures, B., Wepener, V., & Smit, N. J. (2023). Bioaccumulation and trophic transfer of total mercury through the aquatic food webs of an African sub-tropical wetland system. *Science of The Total Environment*, 889, 164210. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164210>
- Vandenkoornhuyse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., & Dufresne, A. (2015). The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, 206(4), 1196-1206. <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Wang, H., Song, C., Fang, S., Wang, Z., Song, S., Jiao, J., Wang, M., Zheng, X., & Bai, T. (2022). Genome-wide identification and expression analysis of the ASMT gene family reveals their role in abiotic stress tolerance in apple. *Scientia Horticulturae*, 293, 110683. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110683>

- Wang, W., Xiong, H., Sun, K., Zhang, B., & Sun, M. (2022). New insights into cell–cell communications during seed development in flowering plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 64(2), 215-229. <https://doi.org/10.1111/jipb.13170>
- Yang, S.-Y., Huang, T.-K., Kuo, H.-F., & Chiou, T.-J. (2017). Role of vacuoles in phosphorus storage and remobilization. *Journal of Experimental Botany*, erw481. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw481>
- Yeboah, S., Ennin, S. A., Ibrahim, A., Oteng-Darko, P., Mutyambai, D., Khan, Z. R., Mochiah, M. B., Ekesi, S., & Niassy, S. (2021a). Effect of spatial arrangement of push-pull companion plants on fall armyworm control and agronomic performance of two maize varieties in Ghana. *Crop Protection*, 145, 105612. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105612>
- Yeboah, S., Ennin, S. A., Ibrahim, A., Oteng-Darko, P., Mutyambai, D., Khan, Z. R., Mochiah, M. B., Ekesi, S., & Niassy, S. (2021b). Effect of spatial arrangement of push-pull companion plants on fall armyworm control and agronomic performance of two maize varieties in Ghana. *Crop Protection*, 145, 105612. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105612>
- Yeboah, S., Ennin, S. A., Ibrahim, A., Oteng-Darko, P., Mutyambai, D., Khan, Z. R., Mochiah, M. B., Ekesi, S., & Niassy, S. (2021c). Effect of spatial arrangement of push-pull companion plants on fall armyworm control and agronomic performance of two maize varieties in Ghana. *Crop Protection*, 145, 105612. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105612>
- Zakeel, M. C. M., Geering, A. D. W., & Akinsanmi, O. A. (2023a). A fungal pathogen is unlikely to be the cause of abnormal vertical growth syndrome in macadamia. *Plant Pathology*, 72(4), 731-741. <https://doi.org/10.1111/ppa.13689>

- Zakeel, M. C. M., Geering, A. D. W., & Akinsanmi, O. A. (2023b). A fungal pathogen is unlikely to be the cause of abnormal vertical growth syndrome in macadamia. *Plant Pathology*, 72(4), 731-741. <https://doi.org/10.1111/ppa.13689>
- Zhang, N., Wang, Z., Shao, J., Xu, Z., Liu, Y., Xun, W., Miao, Y., Shen, Q., & Zhang, R. (2023). Biocontrol mechanisms of *Bacillus* : Improving the efficiency of green agriculture. *Microbial Biotechnology*, 16(12), 2250-2263. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14348>
- Zhang, R., Vivanco, J. M., & Shen, Q. (2017a). The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. *Current Opinion in Microbiology, Environmental microbiology * CRISPRcas9*, 37, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.008>
- Zhang, R., Vivanco, J. M., & Shen, Q. (2017b). The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. *Current Opinion in Microbiology, Environmental microbiology * CRISPRcas9*, 37, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.008>
- Zheng, Y., Liu, T., Wang, Z., Wang, X., Wang, H., Li, Y., Zheng, W., Wei, S., Leng, Y., Li, J., Yang, Y., Liu, Y., Li, Z., Wang, Q., & Tian, Y. (2025). Whole-genome sequencing and secondary metabolite exploration of the novel *Bacillus velezensis* BN with broad-spectrum antagonistic activity against fungal plant pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1498653>
- Zhong, K., Chen, Z., Guo, B., Cai, K., Liang, Y., Li, J., & Jin, L. Y. (2016). Self-assembly of amphiphilic linear diblock rod-coil molecules by hydrogen bond and π - π stacking interactions. *Chinese Journal of Polymer Science*, 34(3), 307-315. <https://doi.org/10.1007/s10118-016-1755-y>
- Zhou, S., Lu, H., Zhang, X., Shi, X., Jiang, S., Wang, L., & Lu, Q. (2022). Paraben exposures and their interactions with ESR1/2 genetic polymorphisms on hypertension. *Environmental Research*, 213, 113651. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113651>

Zhou, S., Rao, Y., Li, J., Huang, Q., & Rao, X. (2022). Staphylococcus aureus small-colony variants : Formation, infection, and treatment. *Microbiological Research*, 260, 127040. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127040>

Tilden, E. B., & Hudson, C. S. (1942). Preparation and properties of the amylases produced by *Bacillus macerans* and *Bacillus polymyxa*. *Journal of Bacteriology*, 43(4), 527-544.

Bano, S., Qader, S. A. U., Aman, A., Syed, M. N., & Azhar, A. (2011). Purification and characterization of novel α -amylase from *Bacillus subtilis* KIBGE HAS. *Aaps Pharmscitech*, 12(1), 255-261.

1. Huang, Q., Liu, H., Zhang, J., Wang, S., Liu, F., Li, C., & Wang, G. (2022). Production of extracellular amylase contributes to the colonization of *Bacillus cereus* 0–9 in wheat roots. *BMC microbiology*, 22(1), 205.
2. Patel, S.; Gupta, R.S. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *PeriBacillus* gen. nov., *CytoBacillus* gen. nov., *MesoBacillus* gen. nov., *NeoBacillus* gen. nov., *MetaBacillus* gen. nov. and *AlkalihaloBacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2020**, 70, 406–438. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
- 3.

Vardharajula, S.; Zulfikar, A.S.; Grover, M.; Reddy, G.; Bandi, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: Effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *J. Plant Interact.* **2011**, 6, 1–14.

Ibarra-Villarreal, A. L., Gándara-Ledezma, A., Godoy-Flores, A. D., Herrera-Sepúlveda, A., Díaz-Rodríguez, A. M., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2021). Salt-tolerant *Bacillus* species as a promising strategy to mitigate the salinity stress in wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*). *Journal of Arid Environments*, 186, 104399.

ANNEXES

Annexe

Milieu GN (Gélose Nutritive / Nutrient Agar).

Composition pour 1 litre d'eau distillée :

Peptone : 5 g

Extrait de viande (Beef extract) : 3 g

Chlorure de sodium (NaCl) : 5 g

Agar : 15 g

Eau distillée : 1000 mL

pH final : $7,0 \pm 0,2$

Utilisation :

Ce milieu solide est utilisé pour la culture, l'isolement et la conservation des bactéries.

Milieu BN (Bouillon Nutritif / Nutrient Broth).

Composition pour 1 litre d'eau distillée :

Peptone : 5 g

Extrait de viande : 3 g

Chlorure de sodium (NaCl) : 5 g

Eau distillée : 1000 mL

pH final : $7,0 \pm 0,2$

Utilisation :

Ce milieu liquide est utilisé pour la multiplication et la croissance des bactéries en suspension.

Matériel biologique utilisé.

Plante hôte

Concombre (*Cucumis sativus*)

Agents phytopathogènes

Alternaria sp.

Diaporthe sp.

Matériel non biologique utilisé

Milieux de culture, réactifs et colorants : résumés dans le tableau 5

Tableau 5 :Liste des milieux de culture, réactifs chimiques et colorants

<i>Catégorie</i>	<i>Désignation</i>	<i>Application / Usage</i>
Milieux de culture	-Gélose nutritive (Nutrient Agar)	Isolement, purification et culture des isolats
	-Milieu à l'amidon soluble	Test d'hydrolyse de l'amidon
	Gélose nutritive supplémentée en NaCl (1,5%)	Évaluation de la tolérance au stress salin
Réactifs chimiques	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	Recherche de la catalase
	Solution de Lugol (Iode)	Révélant de l'hydrolyse de l'amidon
	Eau de Javel	Désinfection superficielle des graines
	Eau distillée stérile	Rinçage des graines et des colorations
Colorants	Alcool (Éthanol)	Étape de décoloration (Gram) et aseptie
	Violet de cristal, Lugol, Safranine	Kit de coloration de Gram
	Vert de malachite, Safranine	Kit de coloration des spores (Schaeffer-Fulton)
	Huile à immersion	Observation microscopique au grossissement (x100)

Les principaux équipements et consommables utilisés dans notre étude sont dans le tableau 6:

Tableau 6 :Principaux équipements et consommables utilisés

Type	Désignation	Utilisation
Équipements	Microscope optique à immersion	Observation de la morphologie et des colorations
	Incubateur / Étuve bactériologique	Incubation des cultures (28 °C – 30 °C)
	Agitateur magnétique	Étape de désinfection des graines sous agitation
	Agitateur orbital (type Gerhardt)	Étape d'extraction par macération
	Spectrophotomètre (UV/Visible (Modèle 6715, Jenway))	Mesure de la densité optique (suivi de la croissance bactérienne)
	Évaporateur rotatif (Buchi Rotavapor R-210)	Concentration des extraits bruts et élimination du solvant
Consommable	Boîtes de Pétri en plastique	Support pour les milieux gélosés
	Lames en verre porte-objets	Réalisation des frottis et du test de la catalase

Verrerie et matériel de laboratoire.

Boîtes de Pétri

Micropipettes

Tubes à essai

Erlenmeyers

Autoclave

Hotte à flux laminaire

Incubateur