

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun Tiaret  
Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master II académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Présenté par :

*TADJE khaled*  
*SMAIL salah eddine kaddour*

Thème :

**Potentiel antagoniste des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) et des extraits des fruits de savonnier (*Sapindus sp*) contre les nématodes à galles (*Meloidogyne incognita*)**

Soutenu publiquement le 06 Juillet 2019

**Jury:**

<b>Président:</b> Mlle BELMOUKHTAR Rahma	MAA	Université Ibn Khaldoun
<b>Promoteur :</b> M <sup>r</sup> RAHMOUNE Bilal.	MCB	Université Ibn Khaldoun
<b>Co-promotrice :</b> M <sup>me</sup> DAHLIA Fatima.	MAA	Université Ibn Khaldoun
<b>Examinatrice:</b> M <sup>me</sup> SOUDANI Leila	MCB	Université Ibn Khaldoun

Année universitaire 2018– 2019

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous remercions nos parents pour leur soutien et leurs amours et leurs prières pour nous.*

*Ce travail a été réalisé sous la direction de la monsieur Rahmoune Bilal et madame Dahlia Fatima .*

*Bien évidemment, nos sincères gratitudees et nos grands remerciements à nos encadreurs.*

*Nous les remercions de leurs gentilleses, de leurs disponibilités et leurs patiences lors des discussions intenses et rationnelles qui nous ont permis de mener à bien ce travail. Pour tout cela, aussi pour leurs aides, leurs confiances, leurs dévouements exemplaires et leurs conseils constructifs, pour leurs humilités, leurs générosités et leurs encouragements, merci et mille mercis.*

*Nous voudrions également remercier nos dames madame SOUDANI Leila et Mlle NEHILA Afaf, deux enseignantes de l'université de Tiaret, d'avoir accepté de présider le jury et d'examiner notre travail.*

*Nous remercions également les Doctorants : Zaidat Sabri Ala Eddine, Bouzaa Saad et Djetti Tayeb, de l'école nationale supérieure agronomique d'El Harrach, Alger, pour leur soutien et leurs plus grands efforts pour nous aider, merci du fond du cœur.*

*Nous voudrions également remercier tous les enseignants qui nous ont enseigné et qui nous ont soutenus avec leurs compétences pour donner suite à notre étude.*

*Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce travail.*

*J'espère que ce travail est purement humble à ALLAH tout-puissant et utile pour les générations futures et d'ajouter quelque chose dans le domaine de la recherche.*

## *Dédicace*

*Je dédie cet humble travail*

*À mes chers parents*

*Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que vous avez déployés pour mon instruction et mon bien être dans les meilleures conditions, votre générosité et votre bonté ont toujours été un exemple pour moi. Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement et l'expression de ma gratitude et mon profond amour.*

*À mes chers frères : kadi et nacer et touhami*

*À ma chère Sœurs nabila et wahiba et Saliha et karima et amina*

*À toute les familles; tadge et maatougu*

*À mon cher binôme salah ;*

*À tous mes chères amies ;*

*À tous mes amis de la promotion ;*

*À mes professeurs ;*

*À tous ceux qui m'ont aidé et soutenu.*

*Tadge khaled*

## ***Dédicace***

*Je dédie cet humble travail*

*À mes chers parents*

*Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que vous avez déployés pour mon instruction et mon bien être dans les meilleures conditions, votre générosité et votre bonté ont toujours été un exemple pour moi. Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement et l'expression de ma gratitude et mon profond amour.*

*Mes chère parents : Abdelhafid .Fattoum*

*À mes chère Sœurs : Badra.Chaima.Feriel*

*À toute la famille **smaïl***

*À mon cher binôme **Khaled***

*À tous mes chères amies*

*À tous mes amis de la promotion*

*À mes professeurs*

*À tous ceux qui m'ont aidé et soutenu.*

**Salah**

## Liste des abréviations

**DAPG** : Diacétyl phluroglucinol

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**H-E** : Huile et eau

**L** : Larves

**M** : Meloidogyne

**PGPR** : Plant Growth Promoting Rhizobacteria

**RFCP** : Rhizobactéries favorise de la croissance des plantes

**SP** : Sapindus

**UFC** : Unité forment colonie

## Liste des figures

Figure 1: Nématodes à galles .....	3
Figure 2: Morphologie et organisation des différents stades de <i>Meloidogyne sp</i> (De Guira et Netscher, 1970).....	4
figure 3 :cycle de développement a nématodes à galles.....	6
Figure 4: Symptômes sur racines de tomates par <i>Meloidogyne incognita</i> .....	7
Figure 5: Dégâts sur racines de tomates, carottes, concombre, laitue et sur la tomate en serre et melons en plein champ. ....	9
Figure 6: Arbre et les fruits de <i>Sapindus saponaria</i> .....	15
Figure 7: Différentes étape d'isolement des PGPR.....	18
Figure 8: Test de coloration de Gram.....	19
Figure 9: Milieu de culture Ashby.....	20
Figure 10: Test catalase.....	20
Figure 11: Etape de la préparation des extraits éthanolique des fruits de <i>Sapindus</i> .....	22
Figure 12: Isolement des nématodes.....	22
Figure 13: Observation microscopique de la <i>Meloidogyne incognita</i> (G x 40). ....	23
Figure 14: Dissout et ajout de l'extrait aux nématodes.....	24
Figure 15: Traitement des nématodes par les extraits éthanoliques de <i>Sapindus sp</i> . ....	24
Figure 16: Traitement des nématodes par les PGPR. ....	25
Figure 17: Observation microscopique des bactéries isolées (A) : Gt, (B) : Pt.....	27
Figure 18: Aspect morphologique des rhizobactéries sur milieu « King B». ....	27
Figure 19: Croissance des bactéries isolées (pt et Gt) sur un milieu Ashby.....	28
Figure 20: Test catalase pour les souches bactériennes (Pt et Gt).....	29
Figure 21: Test amylase pour les souches bactériennes (Pt et Gt).....	29
Figure 22: Teste lipasique et estérasique des souches bactériennes (Pt et Gt). ....	30
Figure 23: Moyenne de mortalité des nématodes en fonction des différentes doses et du temps.....	31

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Système de notation des indices de galles pour estimer les dégâts dus aux nématodes à galles du genre <i>Meloidogyne</i> (Netscher et Sikora, 1990). .....	8
<b>Tableau 2:</b> Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats. ....	26
<b>Tableau 3:</b> Caractéristiques enzymatiques et biochimique .....	28
<b>Tableau 4:</b> Analyse de la variance de mortalité des nématodes par l'extrait éthanolique de <i>Sapindus</i> sp. ....	31

## Table des matières

Remerciements .....	i
Dédicace .....	ii
Liste des abréviations .....	iv
Liste des figures .....	v
Liste des tableaux .....	vi
Chapitre 01 : Synthèse bibliographique .....	3
1. Les nématodes .....	3
1.1. Généralités .....	3
1.2. Types de nématodes .....	3
1.2.1. Nématodes phyto-parasites .....	3
1.2.2. Nématodes à galles du genre Meloidogyne .....	4
1.3. Systématique des nématodes a galles .....	5
1.4. Modes de la reproduction .....	5
1.5. Cycle de développement des nématodes a galles .....	5
1.6. Symptômes et Dégâts .....	6
1.6.1. Symptômes .....	6
1.6.2. Dégâts .....	7
1.7. Lutte contre les nématodes à galles .....	9
2. Les PGPR .....	10
2.1. Généralités .....	10
2.1.1. Sol .....	10
2.1.2. Rhizosphère .....	10
2.1.3. Rhizo bactéries .....	10
2.1.4. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) .....	11
2.2. Mode d'action des PGPR .....	12
2.2.1. Fixation d'azote .....	12
2.2.2. Solubilisation du phosphate .....	12
2.2.3. La production de sidérophores .....	13
2.2.4. L'antibiose .....	13
2.2.5. La compétition .....	13
3. Généralité sur le Sapindus .....	14
3.1. Nom Scientifique de Sapindus saponaria .....	14

3.2.	Description botanique de <i>Sapindus saponaria</i> .....	14
3.3.	Usages.....	15
3.4.	Distribution et écologie .....	16
Chapitre 02 : Matériel et méthodes .....		17
1.	Objectif du travail .....	17
2.	Déroulement des expérimentations .....	17
3.	Matériel biologique .....	17
3.1.	Matériel bactérien .....	17
3.1.1.	Prélèvement des échantillons .....	17
3.1.2.	Isolement des PGPR .....	17
3.1.3.	Sélection des colonies bactériennes.....	18
3.1.4.	Identification et caractérisation des PGPR .....	18
3.2.	Matériel végétal .....	21
3.2.1.	Préparation des échantillons .....	21
3.2.2.	Préparation de l'extrait éthanolique.....	21
3.2.3.	Détermination du rendement d'extraction .....	22
3.3.	Nématodes utilisés .....	22
3.3.1.	Isolement des nématodes .....	22
3.3.2.	Culture des nématodes.....	23
4.	Evaluation in vitro de l'effet des PGPR et des extraits éthanoliques sur les nématodes à galles.....	23
4.1.	Test de l'extrait éthanolique .....	23
4.2.	Test des PGPR .....	24
5.	Analyses statistiques .....	25
Chapitre 03 : Résultats et discussions .....		26
1.	Résultats .....	26
1.1.	Caractérisation et Identification des PGPR .....	26
1.1.1.	Caractérisation culturelle et morphologique .....	26
1.1.2.	Caractérisation enzymatique et biochimique .....	27
1.2.	Traitement des nématodes par <i>Citrullus colosynthis</i> .....	30
1.2.1.	Rendement d'extraction.....	30
1.3.	Traitement des nématodes par PGPR .....	32
2.	Discussions.....	33
Conclusion.....		37

Références bibliographiques .....	38
Annexes .....	47
Résumé .....	49

# Introduction

### Introduction

Les nématodes à galles (*Meloidogynes* sp.) entraînent des pertes économiques considérables dans une multitude de cultures agricoles dans le monde (Sikora et Fernandez, 2005). Ils sont classés parmi les agents phytopathogènes les plus dommageables (Nicol et al. 2011). Les infestations de nématodes à nématodes de la tomate (*Solanum lycopersicum*) sont devenues un problème majeur dans la production de tomates à l'échelle internationale, entraînant des pertes de rendement de 30 à 40% chaque année (Park et al., 2012).

Ce sont des vers microscopiques telluriques, c'est-à-dire vivant dans le sol, et les galles qu'ils provoquent aux racines étant cachées sous terre, il est bien tard pour agir quand on voit les plantes dépérir (Caroline Djian-Caporalino). La lutte contre les nématodes à galle est devenue de plus en plus difficile à cause de la faible disponibilité en nématicides efficace, en particulier le bromure de méthyle. Par conséquent, l'établissement des méthodes alternatives est nécessaire pour limiter l'utilisation de ces produits toxiques. Cependant, l'utilisation de la lutte biologique, par des produits naturels d'origine végétale tels que : les extraits ou les composés purs, ou des Rhizobactéries promotrices de la croissance 'PGPR' constituent des stratégies prometteuses pour la lutte contre les nématodes dans la lutte intégrée (Vedie, 2009).

Les PGPR ou « Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effets on les considère comme Rhizobactéries promotrices de la croissance végétale (Dey et al., 2004 ; Herman et al., 2008 ; Microrisky, 2008). Elles colonisent de manière compétitive les racines des plantes et peuvent simultanément agir comme antagonistes des agents pathogènes des racines, tels que les bactéries, les champignons et les nématodes (Kumar et al. 2011). La relation entre PGPR et le biocontrôle est non seulement importante mais également utile. Une souche de biocontrôle devrait être capable de protéger la plante hôte contre les agents pathogènes et de satisfaire à l'exigence d'une forte colonisation. De nombreux composés toxiques pour les agents pathogènes, tels que l'HCN, les phénazines, la pyrrolnitrine et la pyolutéorine, ainsi que d'autres enzymes, antibiotiques, métabolites et phytohormones sont les moyens par lesquels la PGPR agit, au même titre que la détection du quorum et la chimiotaxie qui sont essentielles pour la rhizosphère (Babalola 2010).

Par ailleurs, *Sapindus*, un membre de la famille Sapindaceae, est couramment connu sous plusieurs noms, en Inde, tels que noisette, savane, reetha, et sabonedzair (dans la région

d'Alger). C'est un arbre à feuilles caduques largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales (George et al.,2014). Les fruits de *Sapindus*, à cause de sa richesse en saponines, présentent plusieurs effets pharmacologiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens, des effets insecticides, et nematicides(Chen et al., 2010).

La présente étude s'inscrit dans le but d'apporter une meilleure connaissance sur l'effet des souches PGPR de l'extrait des fruits de *Sapindusmukorossidans* la biocontrôle des nématodes. Elle a comme objectifs (i) d'isoler et de caractériserdeux nouvelles souches de bactéries (ii) d'évaluer leurs effets sur les nématodes à galle *meloidogyneincognita* et enfin, (iii) tester l'effet de l'extrait de *Sapindus* sur les nématodes à galle *meloidogyneincognita*.

Ainsi, ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- ✚ La première partie est une synthèse bibliographique qui donne une présentation générale sur les nématodes et les dégâts qu'il est provoquent, les PGPR et leurs modes d'action et sur l'espèce utilisé '*Sapindus*sp, leur effets et leurs importance.
- ✚ La deuxième partie décrit les méthodes et les matériels utilisés lors des différentes parties expérimentales.
- ✚ La troisième partie expose tous les résultats obtenus et leurs interprétations, suivi par une discussion de l'ensemble des résultats et, enfin une conclusion générale où quelques perspectives ont été suggérées.

# Synthèse

# Bibliographique

## Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

### 1. Les nématodes

#### 1.1. Généralités

Les nématodes (Némathelminthes) ou "vers ronds" (fig 01), forment un groupe zoologique d'organismes vermiformes. Ils sont dépourvus de membres et de squelette et ont la forme d'un fuseau. Ils présentent une symétrie bilatérale. Le corps est non segmenté et recouvert d'une épaisse cuticule. La majorité des nématodes telluriques mesurent entre 0,6 et 0,8 mm de long et entre 0,025 à 0.50 mm de large (**Sumenkova, 1988**), certains comme les Longidoridae atteignant 4 mm (**Butler et Coyne, 2010**) et sont responsables des pertes de rendement de la production alimentaire mondiale à hauteur de 14%, soit l'équivalent d'une perte économique de plus de 100 milliards de dollars par an (**Belair, 2005**).



**Figure 1:** Nématodes à galles (**Belair, 2005**)

#### 1.2. Types de nématodes

##### 1.2.1. Nématodes phyto-parasites

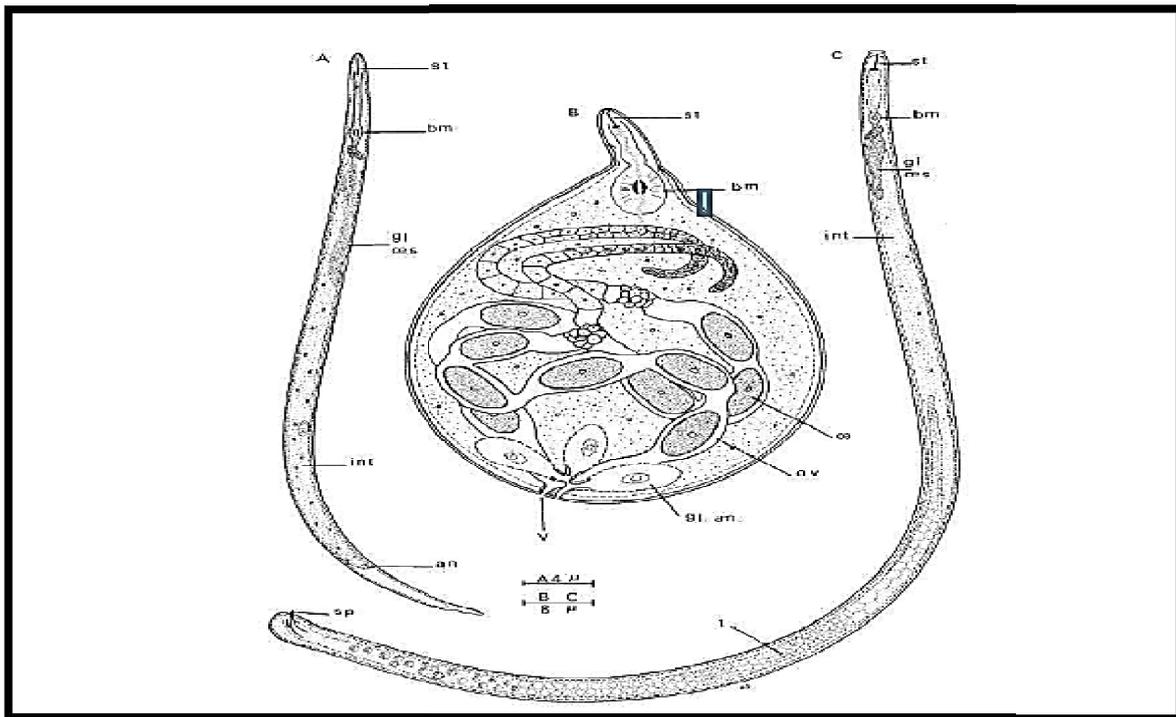
Les nématodes phyto-parasites sont des animaux vermiformes, les plus souvent microscopiques. Ils ont une morphologie externe similaire, avec un corps en forme d'aiguille et non segmenté, de taille variant de 0,25 à plus de 1 millimètre. Les nématodes phyto-parasites possèdent une structure spécialisée appelée stylet (**Mukhaimar, 2015**).

Le stylet est utilisé (i) pour injecter des enzymes dans les cellules et les tissus végétaux des plantes, (ii) et pour en extraire le contenu, d'une façon similaire à celle chez les pucerons (**Butler et Coyne, 2010**). Les juvéniles percent la paroi des cellules par des mouvements

répètes du stylet, injectant des sécrétions œsophagiennes, puis, après quelques secondes de repos, aspirent le contenu prédigéré des cellules grâce à leur bulbe médian. Les larves peuvent s'alimenter ainsi des cellules épidermiques, des cellules corticales, ou/et des celles du cylindre central de racine mais aussi des parties aériennes (DeGuiran et Netscher, 1970).

### 1.2.2. Nématodes à galles du genre *Meloidogyne*

Le phylum des *Nematoda* comprend plus de 26 000 espèces décrites dans l'alittérature mais la biodiversité de ce phylum est estimée à plus d'un million (Hugotet *al.*, 2001). Présents dans la plupart des milieux, les nématodes existent sous forme libre dans l'eau ou dans le sol. D'autres espèces sont décrites comme étant des parasites chez les animaux (dont l'Homme), les champignons, les insectes ou les plantes. Les nématodes phytoparasites, estimés à 4500 espèces environ, sont répartis en deux ordres : l'ordre des *Dorylaimida* (vecteurs de virus) et l'ordre des *Thylenchida*, le plus important en termes d'espèces (Djian-Caporalino *et al.*, 2014).



**Figure 2:** Morphologie et organisation des différents stades de *Meloidogyne* (DeGuira et Netscher, 1970).

A : au stade juvénile ; B : femelle ; C : mâle. an : anus ; bm : bulbe médian ; gl. an. : glandes anales ; gl. oes. : glandes de l'oesophage ; int. : intestin ; oe. : oeuf ; ov. : ovaire ; sp. :

spicules copulateurs ; st. : stylet ; t. : testicules ; v. : vulve.

### 1.3. Systématique des nématodes a galles

Après la révision de **Maggenti *et al.* (1987)**, la systématique du genre se présente comme suit :

**Ordre** : Tylenchida

**Sousordre** : Tylenchina

**Superfamille** : Tylenchoidea

**Famille** : Heteroderida

**Sousfamille** : Meloidogyninae

**Genre** : Meloidogyne

### 1.4. Modes de la reproduction

Il existe des modes différents de la reproduction chez les nématodes à galles, incluant l'amphimixie, la sexualité facultative, l'automixie et l'apomixie. Certaines espèces du genre *Meloidogyne* reproduisent par l'amphimixie obligatoire, telles que *M. carolinensis*, *M. megatylo*, et *M. microtylo* (**Triantaphyllou, 1985; Chitwood et Perry 2010**).

Par contre, *M. incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria* se reproduisent par pathogenèse mitotique (apomixie) uniquement (**Triantaphyllou, 1966 ; Perry & Moens, 2011**). Chez *M. hapla*, il existe des souches qui diffèrent de mode de reproduction ; la souche A peut se reproduire soit par amphimixie soit par la pathogenèse méiotique (automixie), alors que l'apomixie est obligatoire chez la souche B (**Triantaphyllou, 1966 ; Sasser et Carter, 1985 ; Perry et Moens, 2011**).

### 1.5. Cycle de développement des nématodes a galles

Les nématodes à galles sont des endoparasites sédentaires dont le cycle de vie se déroule en 2 phases (Fig 03): une phase d'invasion racinaire au stade larvaire et une phase d'élaboration d'un site nourricier au niveau du cylindre central de la racine (où est véhiculée la sève) permettant l'établissement du parasite. Ce site nourricier induit par les sécrétions salivaires du nématode est constitué de 5 à 6 cellules hypertrophiées (cellules géantes) qui lui permet d'accomplir son cycle sans avoir à se déplacer (le nématode n'aura en effet qu'à ponctionner avec son stylet buccal dans ces cellules géantes pour se nourrir). En 3 à 8 semaines (selon la température), les larves deviennent des femelles obèses (petites poires blanchâtres de diamètre

inférieur à 1 mm) qui pondent à l'extérieur de la racine de 300 à 3000 œufs protégés dans une gangue mucilagineuse. Plusieurs cycles peuvent se succéder en une année et l'infestation peut alors atteindre 100 à 200000 larves par kg de sol, s'étalant sur des profondeurs pouvant être supérieures à 30 cm (DeGuiran, 1983).

Tous les œufs n'éclosent pas en même temps et peuvent résister au froid et à la sécheresse pendant plusieurs années (jusqu'à 5-6 ans). Néanmoins lorsque les températures sont basses, l'infestation se développe lentement. C'est le cas en culture « hivernale » de salade sous abri (Djian-Caporalino et Védie, 2009).

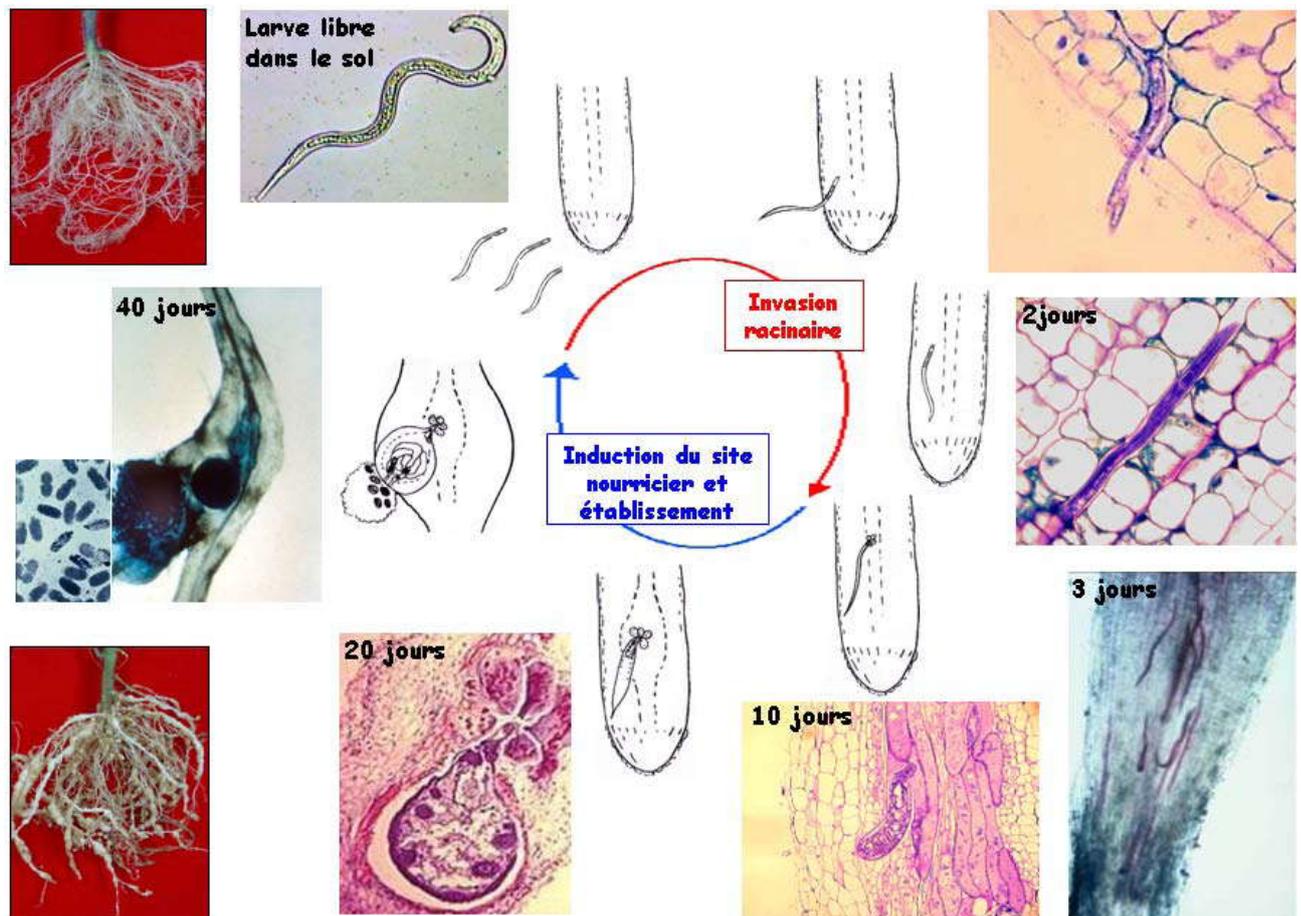


Figure 3: Cycle de développement a nématodes à galles (Djian-Caporalino et Védie, 2009)

## 1.6. Symptômes et Dégâts

### 1.6.1. Symptômes

Le symptôme direct d'une attaque de nématodes *Meloidogyne* est caractérisé par la formation de galls (fig 04) (De Guiran et Netscher, 1970). Leur nombre, leur forme et leur taille varient en fonction de l'espèce végétale hôte, de son âge physiologique, de l'espèce de

nématode elle-même et de la densité de sa population. Une échelle de notation au champ, mise au point par Zeck en 1971, permet de mesurer l'intensité des symptômes (tableau 1). La présence de galles, entraînant une déformation des éléments vasculaires, est souvent accompagnée de symptômes sur les parties aériennes. L'alimentation en eau et en éléments minéraux de la plante est perturbée par la présence de nématodes qui en consomment une partie. La plante est également plus sensible à la sécheresse du fait de la réduction de son alimentation en eau (Damré, 1998).

Les plantes infectées montrent alors des symptômes de flétrissements. L'infection de la plante entraîne donc des pertes de rendement. Dans le cas extrême, la plante peut dépérir entraînant une perte totale de la production (De Guiran et Netscher, 1970).



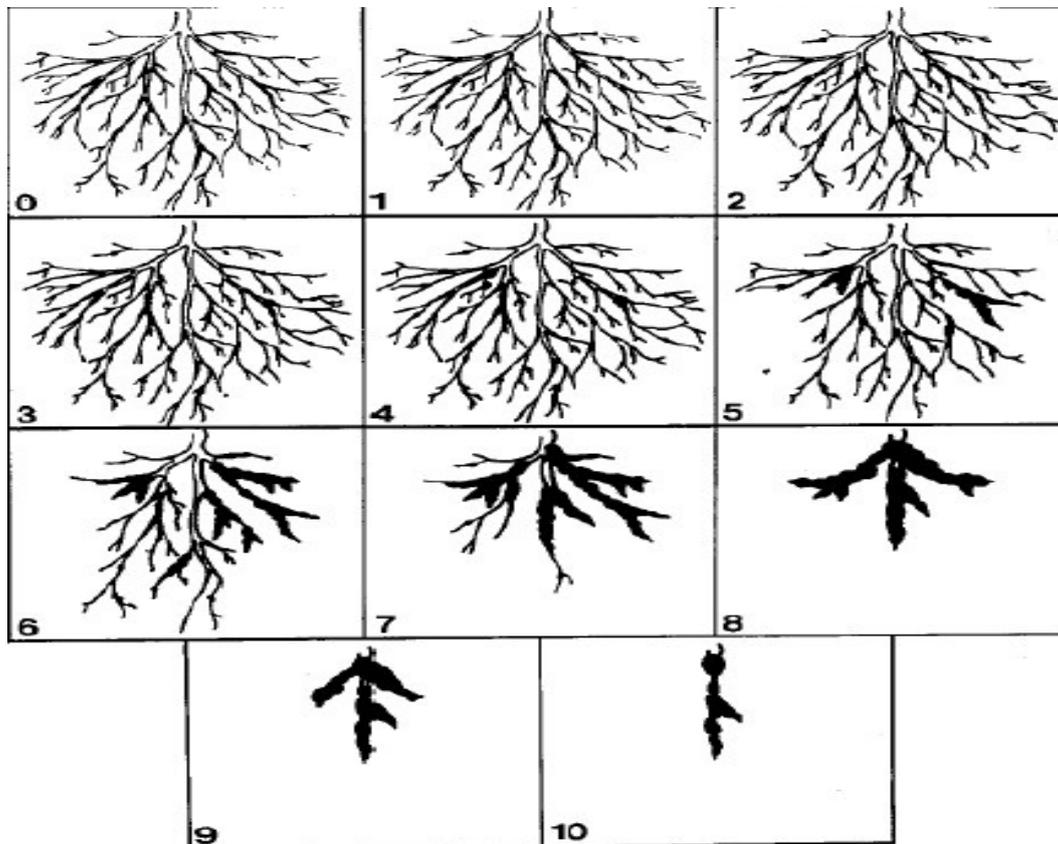
**Figure 4:** Symptômes sur racines de tomates par *Meloidogyne incognita*.

A gauche : galles des racines de tomates ; à droite : nématodes *M. incognita* dans la racine, coloration à la fuchsine acide (INRA-Sophia, 2008).

### 1.6.2. Dégâts

L'attaque de la plante par le nématode (fig 05) provoque des dégâts à différents niveaux : dans un premier temps au niveau cellulaire, puis racinaire, enfin au niveau de la plante toute entière. Pour pénétrer la plante, le nématode va utiliser son stylet qui, par action mécanique, rompre les parois cellulaires. Les dégâts provoqués au niveau cellulaire sont multiples et touchent la cellule dans son intégrité à la fois physique et physiologique (Thorner et al., 1985).

**Tableau 1:** Système de notation des indices de galles pour estimer les dégâts dus aux nématodes à galles du genre *Meloidogyne* (Netscher et Sikora, 1990)



0	Système racinaire complet et sain ; pas d'infestation.	1	Très peu de galles de petite taille.
2	Petites galles plus facilement détectables.	3	Nombreuses petites galles ; chevelu racinaire encore complet.
4	Nombreuses petites galles ; quelques grosses galles ; système racinaire fonctionnant encore.	5	25% du système racinaire comportant des galles et ne fonctionnant plus.
6	50% du système racinaire comportant des galles et ne fonctionnant plus.	7	75% du système racinaire comportant des galles et ne fonctionnant plus.
8	Quasiment plus de radicelles ; chapelets de grosses galles sur les racines principales ; la plante ne peut plus se nourrir.	9	Système racinaire réduit et rempli de grosses galles empêchant la plante de se nourrir.
10	Plante et racine mortes.		

Ces dégâts vont avoir des conséquences sur le développement racinaire. Les racines peuvent voir leur croissance réduite ou présenter un développement anormalement abondant du chevelu racinaire secondaire. Ce sont précisément ces déformations, quand elles touchent

des parties habituellement récoltées (pomme de terre, carotte, etc.) qui les rendent invendables. Au niveau de la partie aérienne, les dégâts peuvent rester invisibles. Le détournement des substances nutritives et de l'eau au profit du nématode se traduit par une moindre croissance de la plante. Les déformations de la racine (réduction de sa surface par exemple) rendent l'absorption des éléments nutritifs et de l'eau plus difficile pour la plante. Ce déficit sera particulièrement visible à l'occasion d'épisodes de sécheresse (Thorner *et al.*, 1985).



Figure 5: Dégâts sur racines de tomates, carottes, concombre, laitue et sur la tomate en serre et melons en plein champ. (Thorner *et al.*, 1985).

### 1.7. Lutte contre les nématodes à galles

Les méthodes de lutte et des contrôle issues des techniques modernes dont on dispose actuellement, s'avèrent tout à fait insuffisant. En effet, outre les assolements incompatibles avec l'agriculture intensive, l'emploi de nouvelles variétés résistantes qui reste un cas très exceptionnel, la lutte contre les nématodes est réalisée avec des produits chimiques extrêmement toxiques pour l'homme et l'environnement : produits fumigents dérivent d'anciens gaz de combat (bromure de méthyle, chloropicrine). Devant ce problème, de nombreux pays interdisent l'emploi de ces nématicides ou en restreignent l'usage. Il existe

cependant de nouvelles alternatives consistant à employer des agents de lutte biologique (bactéries, champignons, nématophages) (**Djian-caporalino et al., 2009**).

## 2. Les PGPR

### 2.1. Généralités

#### 2.1.1. Sol

Point de rencontre du monde végétal, animal et minéral, le sol est la base d'un cycle de vie sur notre planète. C'est un système dynamique qui naît (sol jeune), évolue (sol mûr) et meurt (sol dégradé), c'est un milieu vivant où se développe une activité biologique très intense (**Heritage et al., 1997**).

#### 2.1.2. Rhizosphère

Le terme « rhizosphère » dérive d'un mot grec « Rhizo » = racine et « Sphère » = champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). La rhizosphère est le volume du sol qui entoure les racines et dans lequel la microfaune est influencée par ces dernières. Elle est aussi définie comme étant la zone biologiquement active qui représente un habitat propice à la colonisation microbienne du sol où les interactions racines -microorganismes sont régulées par une variété de composés synthétisés, accumulés et sécrétés par les racines des plantes et qui agissent comme des attractants chimiques pour diverses communautés microbiennes hétérogènes (**Walker et al., 2003**).

Dans le sol, les bactéries sont les organismes les plus variés et les plus nombreux, leur densité est de l'ordre de 10<sup>9</sup> UFC par gramme du sol. Cependant, la densité des populations de la microflore associées aux racines est significativement plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol nu (**VanLoon, 2007**).

#### 2.1.3. Rhizo bactéries

Les bactéries de la rhizosphère, dits rhizo bactéries, sont capables de coloniser, à l'intérieur ou à l'extérieur de la racine, de nombreuses espèces des plantes et peuvent être divisées entre ceux qui forment une relation symbiotique avec la plante et ceux qui ne le font pas. Le ce dernier, disant libre-vie, sont étroitement associés à la surface de la racine et de résider dans les racines que les bactéries endophytes (**Kloepper et al., 1989**).

Elles sont généralement très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs (**Peter et al., 2015**), et sont des hétérotrophes typiques nécessitent des composés organiques comme source d'énergie, leurs besoins sont entièrement comblés à

l'intérieur même de la rhizosphère (**Campbell et Greaves, 1990**).Elles émettent des substances favorisant la croissance des plantes tout au long du leurs cycle de développement (**Kloepper, 1993**).

Elles sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes, connues sous le terme PGPR, (PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (**Kloepper et al., 1989**).

#### **2.1.4. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)**

Le terme PGPR provenant de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens (**Abnatura, 2013**).

Généralement, elles sont des souches très compétitives capables de coloniser le système racinaire des plantes riches en éléments nutritifs, leur abondance dans le sol s'explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme source d'énergie et d'éléments nutritifs (**Barraquio et al., 2000**). Les PGPRs sont divisés en deux grands groupes en fonction de leur relation avec les plantes hôtes (**Wang et al., 2014**) : les bactéries libres (non rhizosphériques), vivants dans le sol et n'utilisant pas les exsudats racinaires pour leur croissance et les bactéries symbiotiques à effet direct sur les composés organiques présents dans les racines. Les PGPRs forment un groupe hétérogène de bactéries dont les genres les plus étudiés sont: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* qui favorisent la croissance des plantes par des mécanismes directs et/ou indirects (**Ahmad et al., 2008**).

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... etc. Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (**Davet, 1996**).

La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago, 2005). Beaucoup de recherches se sont concentrées sur ces deux derniers types de bactéries parce qu'ils sont des habitants communs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle biologique de maladies liées au sol. Ils ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques, et ils sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler en laboratoire. De plus, les bacilles offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes au changement des conditions du milieu avantage aussi pour la formulation du produit (Cavaglieriet *al.* 2005).

## 2.2. Mode d'action des PGPR

### 2.2.1. Fixation d'azote

La fixation associative de l'azote et la promotion de la croissance végétale par les rhizobactéries sont importantes pour un système agricole durable. Les cultures dépendent principalement du processus de fixation d'azote par les bactéries associatives, symbiotiques et libres, vivant dans la rhizosphère (Martínez-Viveros et *al.*, 2010). La plus grande partie de l'azote de la biosphère (79%) existe sous forme gazeuse, cette forme est inaccessible pour les plantes (Weyens et *al.*, 2010).

Les PGPR plus connus pour leur rôle de stimulation des plantes grâce à leur capacité de fixer l'azote atmosphérique sont : *Azoarcussp.*, *Burkholderiasp.*, *Gluconacetobacterdiazotrophicus*, *Herbaspirillum*; *Azotobacter paenibacillus* et *Azospirillumbrasilense* (Weyens et *al.*, 2010).

### 2.2.2. Solubilisation du phosphate

Le phosphore constitue l'élément le plus important après l'azote, c'est le nutriment vital pour la croissance et la productivité des plantes qui sont capables seulement d'absorber les formes solubles mono- et dibasiques. Il joue un rôle primordial dans les processus métaboliques (La photosynthèse, le transfert d'énergie, biosynthèse macromoléculaire et la respiration), il est présent sous forme insoluble, immobilisé et précipité. Par ailleurs, les microorganismes solubilisant le phosphate sont abondants dans le sol et dans la rhizosphère de la plupart des plantes, ils convertissent les phosphates insolubles en forme soluble, en libérant le phosphate lié par solubilisation et minéralisation, et ceci est réalisé grâce à l'acidification, la chélation et la production d'acides organiques tels que l'acide gluconique Les espèces appartenant aux genres bactériens comme : *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*,

*Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* et *Serratia* ont la capacité de solubiliser le phosphate dans le sol (Gupta et al., 2015).

### 2.2.3. La production de sidérophores

Le fer est l'un des oligoéléments les plus importants pour la croissance microbienne, il agit comme un régulateur global de nombreux processus cellulaires, métaboliques et biosynthétiques. Dans des conditions de carence en fer, les bactéries aérobies produisent des métabolites secondaires appelés sidérophores. Bien que les champignons phytopathogènes synthétisent des sidérophores, ceux-ci ont généralement une faible affinité pour le fer par rapport à ceux produits par les PGPRs. Les sidérophores fixent le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) et le transforment en sa forme soluble qui est le fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Ils sont également utilisés dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes en s'appropriant des ions ferriques présents dans la rhizosphère, ils les rendent non disponibles aux champignons pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance (Glick, 1995).

### 2.2.4. L'antibiose

La production et la libération des molécules qui tuent ou réduisent la croissance des pathogènes cibles est le mécanisme le plus efficace par lequel les microorganismes peuvent contrôler les maladies des plantes, (Harman et Shores, 2007). Les antibiotiques consistent en : le butyrolactone, 2,4 diacétylphloroglucinol (DAPG), Kanosamine, oligomycine Aphénazine – 1 acide carboxylique, pyrolutérine, pyrrolnitrine, viscosinamide, xanthobaccine et zwittermycine sont généralement produits par diverses bactéries antagonistes.

### 2.2.5. La compétition

La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme biologique utilisé par les PGPRs pour éliminer les phytopathogènes. Cette compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Shameer et Prasad, 2017). Un agent antagoniste efficace doit être un colonisateur agressif capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration dans le sol, cette interaction entre les bactéries bénéfiques et les pathogènes est influencée par la densité et l'intensité de l'activité des rhizobactéries (Jijakli, 2003 ; Podile et Kishore, 2006).

### 3. Généralité sur le *Sapindus*

Les plantes de la famille Sapindaceae sont originaires des régions chaudes tempérés et tropicales du globe. Le genre comporte à la fois des espèces à feuilles caduques ou persistante set est connue principalement comme des *soapberries*, *soapnuts*, à cause de l'utilisation de leurs fruits pour la production ou substitution des détergents.

D'ailleurs, le nom de la Sapindaceae est dérivé du nom Latin Sapo, qui signifie «savon ». Le genre Sapindus (figure 06) est constitué de 5 à 12 espèces d'arbustes et des petits arbres dans la famille des Lychees (Rao,2012).

#### 3.1. Nom Scientifique de *Sapindussaponaria*

Saponaire : *Saponariaofficinalis*,son nom vient du latin « sapo » qui signifie savon. La saponine (glucoside) qui à la propriété d'adoucir l'eau, de mousser et de diluer les corps gras. Les saponines ont des propriétés détergentes qui forment des émulsions d'huile dans l'eau (H-E), et produisent des écumes copieuses, lorsqu'elles sont dissoutes dans l'eau(Gaussen et al., 1982).

#### 3.2. Description botanique de *Sapindussaponaria*

La figure 06 représente la description de l'arbre (avec feuilles et fleurs) et les fruits de *Sapindussaponaria*

La plante est petite à moyenne, parfois large (arbres forestiers), solitaire, croissante, à larges feuilles persistantes ou brièvement à feuilles caduques (Felger et al., 1993).

Le tronc est droit, cylindrique, typiquement propre, souvent élargi ou étalé à la base sur les grands spécimens forestiers (Gilman et al., 2017).

L'écorce est d'un brun clair à gris, lisse ou parfois granulaire, avec l'âge elle devient finement fissurée et l'excrétion dans les grandes écailles ou flocons exposant une jeune écorce lisse (Little et Skolmen 1989).

Les feuilles sont composées pennées, alternes, vert foncé généralement brillant mais parfois vert épâle, de 8 à18 pouces de long, avec un rachis et un pétiole parfois ailés (Little et Wadsworth, 1964).

Les fleurs sont en grappes triangulaires visibles terminales ou parfois latérales, un peu compact, blanc verdâtre à blanc ou jaunâtre, sur pédoncules courts, unisexuées ou bisexuelles. Les sépales sont en nombre de 5, inégales, extérieures, ovales; les pétales sont subégaux,

obovales à sub-orbiculaires-obovales, aussi larges que longues, fortement concaves, bordées de poils minuscules ;les étamines sont densément molles à la base, les anthères sont jaunâtres; l'ovaire est sans poils, de style mince et stigmaté lobé émoussée (Colis et al., 2005).

Les fruits sont des drupes, lobés, sphériques, bruns jaunâtres brillants à Orange- ou bruns foncés, tannée de la peau, la chair est claire ou translucide, persistant jusqu'à un an ou plus ;la graine est ronde, brune rougeâtre au noire et dure (Curieletal., 1992).



shutterstock.com • 1407722036

**Figure 6:**Arbre et les fruits de *Sapindussaponaria* (Colis et al., 2005)

### 3.3. Usages

*S. saponaria* est une plante ornementale exceptionnelle et a de nombreuses caractéristiques qui en font un précieux et magnifique arbre de petite à moyenne taille pour le paysage et la forêt urbaine. Ses fruits, brunâtres brillants voyantes et beaux, les feuilles pennées sont particulièrement attrayants et donnent un motif tropical à son caractère.

Certaines utilisations appropriées comprennent l'arbre de parc, l'arbre d'ombrage, l'arbre de la pelouse, l'arbre de la rue, l'écran, l'échantillon et la fructification (**Gilman et al., 2017**).

Les fruits de *Saponaria* sont utilisés par la population pour la fabrication du savon et des remèdes contre les ulcères, les lésions cutanées et les inflammations (**Doise et al., 1992**). **Abdel Wahab et Selim (1985)** ont détectés la présence d'hydrates de carbone, des stéroïdes et des saponines dans les feuilles, les tiges, les graines et les fruits de *S. saponaria*. Les flavonoïdes ont été détectés que dans les tiges et les feuilles. Les tanins, l'huile et anthraquinones essentiels ont été détectés que dans les tiges. les b-Sytosterol a et b-amyrine ont été trouvés dans les graines et la rutine et la lutéoline et 4-méthoxyflavone se trouvent dans les graines et les feuilles.

### 3.4. Distribution et écologie

*S. saponaria* est largement distribué dans le monde, allant des régions tempérées chaudes, subtropicales, et Amérique du Sud tropicale au nord du Mexique, les Caraïbes, la Floride, la Géorgie, la Caroline du Sud et dans le Pacifique du sud Hawai'i en Polynésie française, les îles Cook, Fidji, et Nouvelle-Calédonie (**Little et Skolmen 1989**). Il est largement cultivé en Asie tropicale et en Afrique.

*S. saponaria* se produit naturellement à partir du niveau de la mer près de 4800 pieds d'altitude, la plupart du temps dans un endroit sec pour les forêts humides. Dans les zones très sèches du nord du Mexique, il est généralement limité aux habitats riverains dans les arroyos, et la forêt tropicale à feuilles caduques bien que l'on trouve parfois sur les pentes sèches (**Felger et al., 2001**).

Dans Hawai'i, *S. saponaria* est limitée à la Big Island, près de Kilauea, Mauna Loa, et les volcans Hualalai dans un endroit sec aux forêts humides (**Curieletal., 1992**). La large gamme de sols sur lesquels *S. saponaria* pousse est remarquable, et comprend bien drainés, les sols rocheux et alluvions sableux à limons et argiles lourdes. Le pH du sol varie de légèrement acide à légèrement alcalin. Gelées sont rares sur la plage de *S. saponaria* mais ils se produisent généralement à des altitudes plus élevées et des latitudes plus élevées (**Curieletal., 1992**).

# Matériel et Méthodes

## Chapitre 02: Matériel et méthodes

### 1. Objectif du travail

L'objectif de notre étude est d'évaluer de l'efficacité de l'extrait éthanolique des fruits de *Sapindus*, en tant que nématicide naturel riche en métabolite secondaire, et de l'efficacité des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sur les nématodes cécidogène (*Meloidogyne incognita*).

### 2. Déroulement des expérimentations

Les essais d'isolement et d'identification des souches bactériennes ont été réalisés aux laboratoires d'analyse du sol et de microbiologie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

L'essai de l'évaluation *in vitro* des isolats PGPRs contre les nématodes à galles chez la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) a été réalisé au laboratoire de biotechnologies végétales de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA, Ex INA) d'Alger.

### 3. Matériel biologique

#### 3.1. Matériel bactérien

##### 3.1.1. Prélèvement des échantillons

Des échantillons de sol ont été prélevés dans la rhizosphère du palmier dattier, de la Wilaya de Oued-Souf, durant le mois de février 2019.

Cette région a été choisie sur la base de sa vocation agricole et ces conditions pédoclimatique difficiles. La période de tallage a été choisi pour effectuer l'échantillonnage (cette période est caractérisée par l'augmentation de l'activité microbienne dans le sol).

##### 3.1.2. Isolement des PGPR

L'isolement des bactéries a été effectué selon la méthode décrite par **Kushwaha et al. (2013)**. 10 g du sol rhizosphérique a été mis dans des fioles stériles de 250 ml, (pour chaque échantillon) (Fig 08) auxquelles sont ajoutés 90 ml d'eau distillée stérile. Ensuite, les fioles ont été mises sous agitation rotative à 150 tpm (tours par minute) pendant 20 minutes (fig 07).

Par la suite, une série de dilutions jusqu'au  $10^{-7}$  a été réalisée pour chaque échantillon comme suit : dans un tube à essai stérile de 10 ml, 1 ml de la solution initiale a été prélevé et 09 ml d'eau distillée stérile ont été rajouté et l'ensemble a été placé sous agitation rotative pendant 2 minutes. De la même façon, des séries de dilutions ont été réalisées et l'opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'une dilution de  $10^{-7}$ .

Par la suite, une aliquote (0,1 ml) de cette suspension a été étalée sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture King B solide (pH=7.2) (King et *al.*, 1948) (Annexe 1). Ces boîtes de Pétri ont été incubées dans l'étuve pendant 72 heures à une température de 28°C pour observer les colonies de bactéries.



**Figure 7:** Différentes étapes d'isolement des PGPR (Original)

### 3.1.3. Sélection des colonies bactériennes

Les colonies bactériennes typiques (ayant la même morphologie) ont été observées sur les boîtes de Pétri, après 72h de culture. Deux colonies bien isolées ont été sélectionnées, prélevées et ré-striées sur le milieu de culture King B, puis incubées de manière similaire que précédemment.

Les 02 souches sélectionnées ont été codées pour faciliter leurs utilisations ultérieures, ensuite, elles ont subi une série de multiplication (3 fois), afin d'assurer leurs puretés).

### 3.1.4. Identification et caractérisation des PGPR

Les souches bactériennes isolées ont été étudiées sur la base de leurs caractéristiques culturelles, morphologiques et biochimiques, en suivant le manuel de Bactériologie Systématique de Bergey (Hoit et *al.*, 1989).

#### 3.1.4.1. Caractéristiques culturelles

Tous les isolats ont été striés sur les boîtes de Pétri. Après 3 jours d'incubation, différentes caractéristiques des colonies telles que la forme des colonies (rondes, irrégulières...), la chromogénèse (couleur de la colonie) et la surface des colonies (lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée) ont été observées à l'aide d'un microscope optique. L'odeur des colonies a été aussi notée.

#### 3.1.4.2. Caractéristiques morphologiques

Les deux isolats bactériens ont été soumis à la coloration de Gram (Vincent, 1970), pour observer la forme de ces bactéries (fig 08).

Les bactéries Gram+ sont colorées en violet. Alors que, les bactéries Gram- sont colorées en rose, ceci étant dû à une différence de composition de la paroi.

Un frottis bactérien a été réalisé par dépôts d'une goutte d'eau distillée sur une lame de verre, prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée et dissociation soigneuse de l'inoculum dans la goutte d'eau et laisser sécher.

La préparation a été fixée à la flamme, séchée soigneusement puis laissée refroidir. La lame a été immergée dans la solution de Cristal Violet pendant 1 min puis a été lavée avec l'eau. La lame a été, par la suite, immergée dans du Lugol pendant 1 min en agitant et puis elle a été lavée à nouveau avec de l'eau.

La préparation a été décolorée dans l'alcool jusqu'à la disparition de la couleur violette et puis a été lavée avec de l'eau. A nouveau, la préparation a été colorée avec la solution de safranine diluée pendant 20 à 30 secondes, a été lavée avec l'eau et a été séchée à l'air. L'ensemble, recouvert d'une lamelle, a été observé sous microscope optique à l'objectif x 100, en immersion avec de l'huile.



**Figure 8:** Test de coloration de Gram (**Original**)

### 3.1.4.3. Caractéristiques biochimiques

#### ➤ Fixation de l'azote

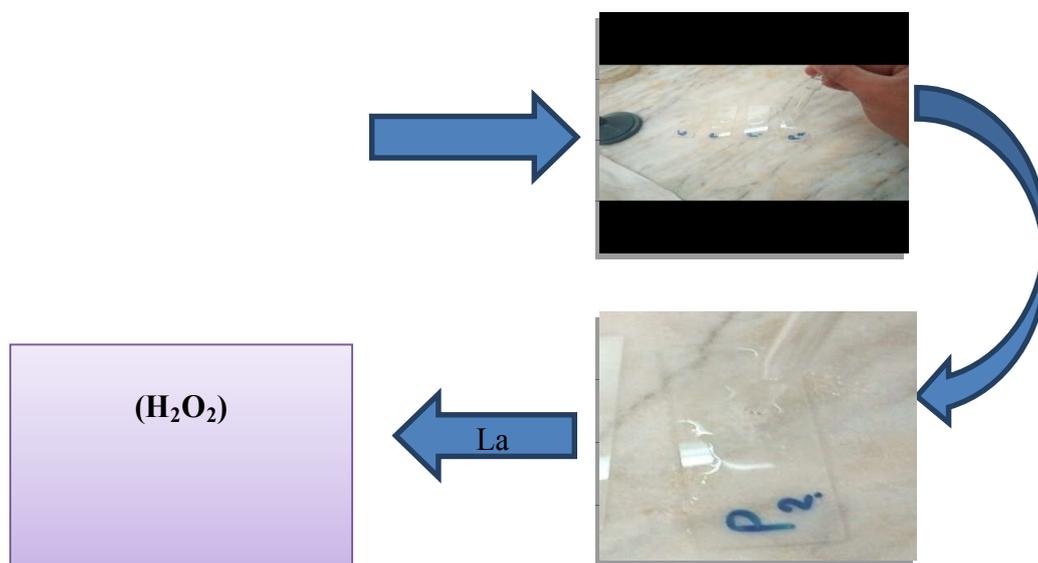
Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, un test a été réalisé selon la méthode décrite par Rodge et *al.* (2016), les isolats ont été striés sur le milieu gélosé Ashby stérile (Annexe 01), sans mannitol (ne contient aucune source d'azote), et incubés dans l'étuve à 25 °C pendant 48 heures. La croissance des bactéries sur ce milieu de culture indique leurs capacités de fixer l'azote atmosphérique (fig 09).



**Figure 9:** Milieu de culture Ashby (Original)

**Test Catalase :**

Les souches bactériennes ont été examinées pour leur activité catalase selon la méthode de MacFaddin (2000). Des cultures bactériennes fraîches ont été transférées sur une lame en verre, puis une quantité appropriée de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) à 3% a été ajouté sur les lames. La formation de bulles d'aires en 10 secondes confirme que la souche à une activité catalase (fig 10).



**Figure 10:** Test catalase (Original)

➤ **Test amylase**

La révélation de l'activité hydrolytique de l'amidon est mise en évidence par un test d'activité sur gélose à base d'amidon selon le protocole de **Vinoth et al. (2009)**.

Le milieu de culture (Annexe 01) a étéensemencé, puis incubé à 30°C pendant 48 à 72 h. Ensuite, une solution de Lugol, préalablement préparée (1 g d'iodine cristallin, 2 g de KI, 300 ml d'eau distillée), mélangée et laissée au repos puis filtrée, a été versée à la surface des boîtesensemencées, quelques minutes après, l'excès a été éliminé et les boîtes ont été rincées à l'eau distillée.

### ➤ **Activité estérasique et lipasique**

La recherche de ces deux activités a été effectuée sur le milieu de culture décrit par **Sierra (1957)** (Annexe 01). Le Tween 80 (1%, v/v) a été ajouté pour révéler l'activité estérasique, tandis que, le Tween 20 a été utilisé pour mettre en évidence l'activité lipolytique. Le pH a été ajusté à 7,4 (**Carrim et al., 2006**). Après ensemencement, les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 48h.

## **3.2. Matériel végétal**

### **3.2.1. Préparation des échantillons**

Le matériel végétal utilisé dans notre essai est les fruits de la *Sapindus* qui sont originaires de la région d'Alger. Ils ont été débarrassés de toutes les impuretés, séchées au laboratoire à une température ambiante située entre 25°C et 27°C, à l'abri du soleil et de la lumière pendant une durée suffisante. Les fruits sèches ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.

### **3.2.2. Préparation de l'extrait éthanolique**

Afin de préserver la totalité des molécules et des pigments, le broyat des fruits de *Sapindusa* a été conservé à température ambiante, à l'abri de la chaleur et de la lumière. La préparation de l'extrait éthanolique a été faite selon la méthode de macération décrite par **Younssi et Zadeh (2002)**.

### ➤ **Principe**

Le principe de cette méthode consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide afin d'en extraire les principes actifs, pour ce faire, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/ liquide, ensuite dissoudre le composé actif présente à l'intérieur et l'entraîner vers l'extérieur, l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Younssi et Zadeh, 2002**).

### ➤ **Technique**

10 g de broyat de fruits de *Sapindus* ont été macérés dans 100 millilitres d'éthanol dilué (70 ml éthanol et 30 ml eau distillée). Après une agitation de 24 h, à température

ambiante (**fig 11**), une filtration sur papier filtre a été réalisée. Le filtrat obtenu a été débarrasser de son solvant (l'éthanol) par évaporation à 70°C en évaporateur rotatif. Le mélange obtenu a été versé dans un verre à montre et placé dans une étuve ventilée à 40°C pour l'obtention d'un résidu sec. Ce dernier, a été rempli dans des tubes secs, fermés hermétiquement et conservés à une température de 4°C et à l'abri de la lumière pour des éventuelles expérimentations.



**Figure 11:** Etape de la préparation des extraits éthanolique des fruits de *Sapindus*.  
(Original)

### 3.2.3. Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec (PS), a été calculé par la différence entre le poids de la boîte Pétri en verre contenant l'extrait et le poids la boîte de Pétri vide. Le rendement de l'extraction (R %) est le rapport entre le poids de l'extrait sec (PS) et le poids initial (PI), est calculé par la formule suivante:

$$R\%=(PS/PI) \times 100$$

### 3.3. Nématodes utilisés

Le test d'efficacité du produit nématocide sont réalisés au laboratoire de nématologie à l'ENSA. Ils ont porté sur les larves (J2) et sur les œufs de *Meloidogynesp*.

#### 3.3.1. Isolement des nématodes

Les nématodes du genre *Meloidogyne*ont été isolés à partir des racines de la tomate (*Solanumlycopersicum* L.) et ont été identifiées sur la base de leur morphologie (Fig 12).



**Figure 12:** Isolement des nématodes(Original)

### 3.3.2. Culture des nématodes

Les œufs de *M. incognita* ont été extraits des racines de tomate à l'aide d'une solution de NaCl (0,5%). Ils ont été obtenus par rinçage des suspensions d'œufs à l'eau stérile dans un tamis de 25 µm (Hussey et Barker, 1973). Les œufs ont été incubés pendant 3 à 5 jours dans milieu liquide (l'eau distillé stérile) à la température ambiante ( $\approx 30$  °C).

Une observation microscopique est nécessaire pour s'assurer de la présence des nématodes dans la solution et pour évaluer leur concentration. Pour se faire, le protocole suivant a été utilisé :

Le contenu de la boîte de Pétri a été versé dans un bécher gradué auquel est ajouté de l'eau distillée jusqu'à un volume de 100 ml. A l'aide d'une pipette, la suspension a été homogénéisée en soufflant à l'intérieur. 1 ml de cette suspension a été prélevé et mis dans un verre de montre. Sous une loupe binoculaire, le comptage des larves a été fait. Ce **prélèvement a été répété 15 fois et la moyenne a été calculée (fig 13)**. Suite à cette opération, la concentration moyenne évaluée était de 50 larves de J2 pour chaque 1 ml d'eau distillée.



**Figure 13:** Observation microscopique de la *Meloidogyne incognita* (G x 40). (Original)

## 4. Evaluation *in vitro* de l'effet des PGPR et des extraits éthanoliques sur les nématodes à galles

### 4.1. Test de l'extrait éthanolique

En premier lieu, 10 g de l'extrait éthanolique a été dissout dans une solution de DMSO (0,1 ml de DMSO dans 10 ml d'eau distillée) sous agitation.

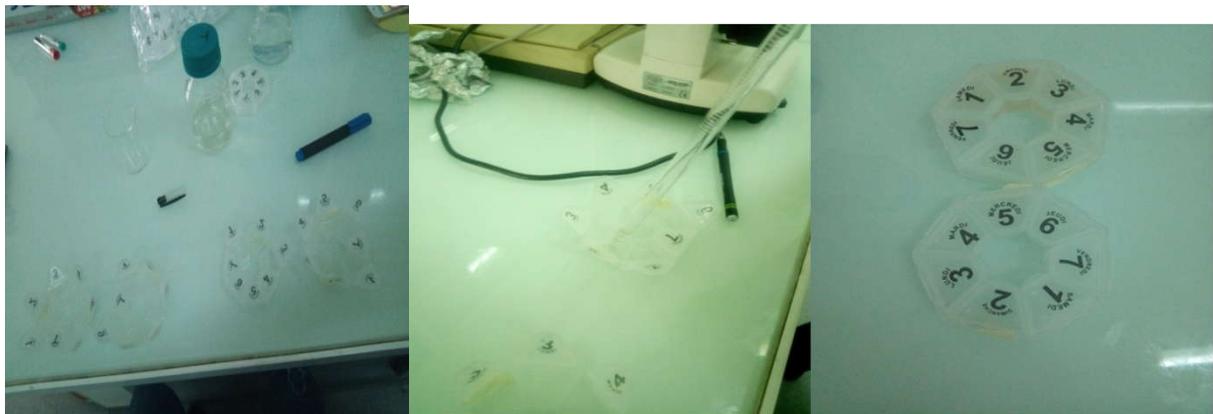
Deux de boîtes de Pétri, contenant chacune 6 places fermées, contenant chacune 1 ml de la suspension des nématodes avec une concentration de 100 larves par ml, ont été préparées. Ce dispositif a été choisi pour faciliter l'observation de la mobilité des larves de

*Meloidogynespp.* Dans cette expérimentation, trois doses différentes de l'extrait des fruits de la plante ont été utilisées en comparaison avec un bloc témoin (fig 14).



**Figure 14:** Dissout et ajout de l'extrait aux nématodes (Original)

Trois doses ont été ajoutées aux nématodes, chaque dose contient 3 volumes (400  $\mu$ l, 200  $\mu$ l et 100  $\mu$ l respectivement). Ces traitements ont été répétés trois fois en temps de 4h, 8h et 12h. Le diagramme illustré dans la figure 15 résume le protocole utilisé.



**Figure 15:** Traitement des nématodes par les extraits éthanoliques de Sapindussp. (Original)

#### 4.2. Test des PGPR

Pour déterminer les effets des PGPR sur la mortalité contre les nématodes à galle, *meloidogyneincognita*, 100  $\mu$ l de solution contenant environ 100 œufs de nématodes à galle, *meloidogyneincognita* ont été versés dans des boîtes de Pétri. Chaque boîte a ensuite été traitée avec 0, 10, 25, 50 ou 100  $\mu$ l de PGPR. Les boîtes ont été incubées à 26 ° C et la mortalité a été calculée en comptant le nombre de larves morts après 1 et 3 jours d'incubation.



**Figure 16:** Traitement des nématodes par les PGPR. (Original)

## 5. Analyses statistiques

Les données présentées sont des valeurs moyennes. Les mesures ont été effectuées sur trois répétitions ( $n = 3$ ) pour chaque traitement. Les données provenant des nématodes ont été soumis à une analyse factorielle de variance (ANOVA). Les différences entre les moyennes ont été comparées en es différences les moins significative.

# Résultats et discussion

## Chapitre 03 : Résultats et discussions

### 1. Résultats

Les PGPR favorisant la croissance des plantes auxquelles elles sont associées (**Klopperet Beauchamp, 1992**), représentent environ 5% des rhizobactéries et appartiennent à différents groupes taxonomiques dont les plus étudiés sont : *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., et *Pseudomonas* spp. (**Lemanceau, 1992 ; Podile et Kishore, 2006**). Au niveau appliqué, l'effet PGPR offre des possibilités intéressantes en bio-agronomie. Mais avant de passer à l'application, il est nécessaire de s'intéresser à l'étude des mécanismes bénéfiques de ces bactéries coopératives, Le travail présente dans ce mémoire porte sur l'étude de deux souches bactériennes, isolées de la rhizosphère du palmier dattier dans la Wilaya de Oued Souf.

#### 1.1. Caractérisation et Identification des PGPR

Cette partie du travail a porté sur la caractérisation culturelle, morphologique et biochimique de 02 souches bactériennes rhizosphérique isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier Wilaya de El Oued. Ces souches ont été nommées : **Gt, Pt**

##### 1.1.1. Caractérisation culturelle et morphologique

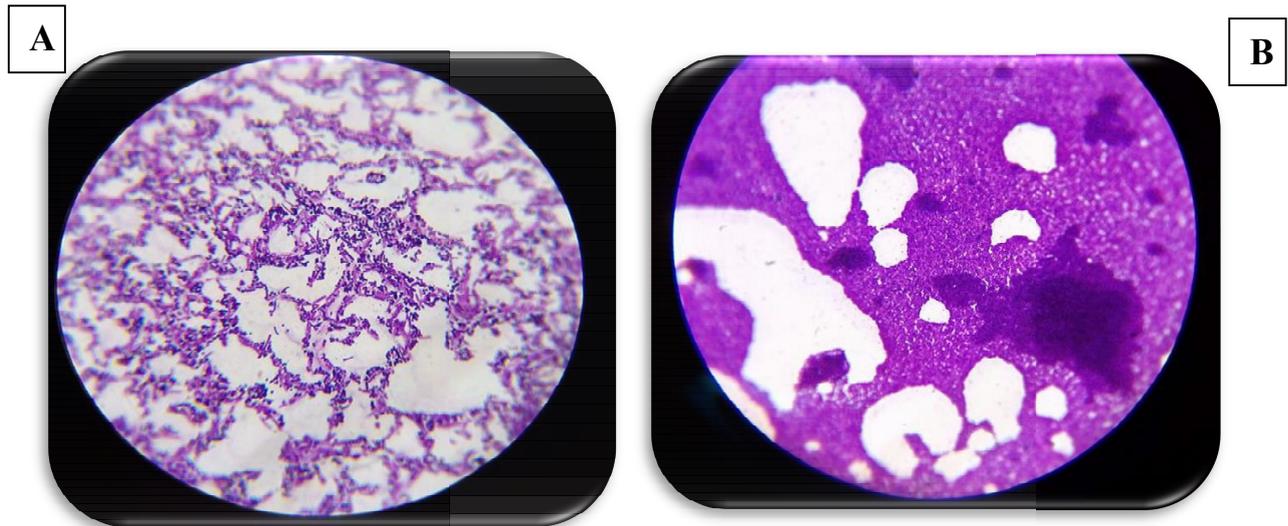
La caractérisation morphologique des bactéries se fait par des techniques standardisées. Les tests effectués sont basés soit sur les critères classiques ou traditionnels utilisés dans les schémas d'identification pratiqués dans la plupart des laboratoires de microbiologie (**Denis et al., 2007**). Les caractéristiques morphologiques et culturelles des deux isolats sont représentées dans le tableau 02.

Tableau 2: **Caractéristiques culturelles et morphologiques des isolats.**

Souches	Marge	couleur	forme	Réaction de Gram
Pt	lisse	Jaune	coque	+
Gt	lisse	Jaune claire	Bacille	+

Des observations microscopiques ont été effectuées afin de distinguer entre les formes, les marges et les couleurs des 02 souches isolées.

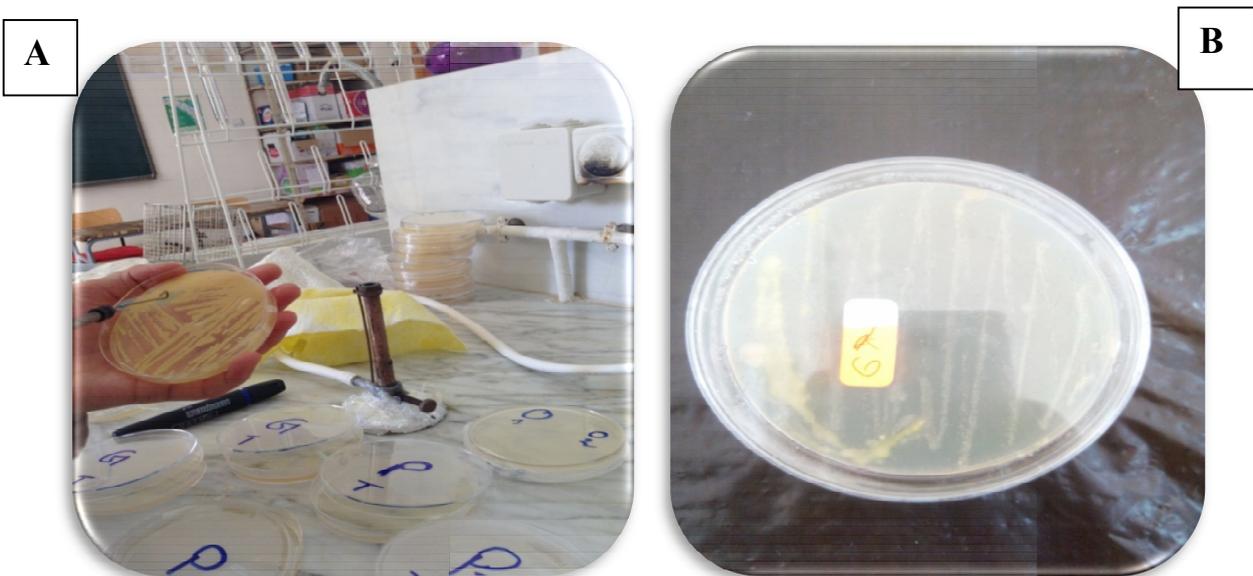
Les résultats obtenus ont montré que la souche **Gt** à une forme régulière bacille et la souche **Pt** a une forme régulière coque (Fig 17 et Tableau 2).



**Figure 17:** Observation microscopique des bactéries isolées (A) : Gt, (B) : Pt (**Original**)

En outre, après le test de Gram, les deux isolats Pt et Gt ont présenté un résultat positif (Gram +), alors les deux souches se sont des bactéries Gram positif.

Par ailleurs, tous les isolats ont présenté des colonies avec des surfaces lisses. La couleur des isolats Pt est jaune et celle de Gt Jaune claire (fig 18 et Tableau 2).



**Figure 18:** Aspect morphologique des rhizobactéries sur milieu « King B».

(A) : Isolats Pt, (B) : Isolats Gt(**Original**)

### 1.1.2. Caractérisation enzymatique et biochimique

Les caractéristiques enzymatique et biochimique des deux isolats sont représentées dans le tableau 03.

**Tableau 3:**Caractéristiques enzymatiques et biochimique

Souches	Test catalase	Fixation de l'azote	Test amylase	Activité estérasique	Activité lipasique
<b>Pt</b>	+	+	+	+	+
<b>Gt</b>	+	+	+	+	+

➤ **Fixation de l'azote**

Les résultats obtenus ont montré que les isolats **Pt et Gt** ont pu croître sur le milieu Ashby qui ne contient aucune source d'azote, ce qui montre la capacité de ces souches de fixer l'azote atmosphérique (fig 19).



**Figure 19:**Croissance des bactéries isolées (pt et Gt) sur un milieu Ashby (**Original**)

➤ **Test Catalase**

Pour effectuer l'identification d'une bactérie, il est préférable de connaître son type respiratoire. On trouve la catalase chez tous les organismes aérobies. C'est un cytochrome appartenant à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes.

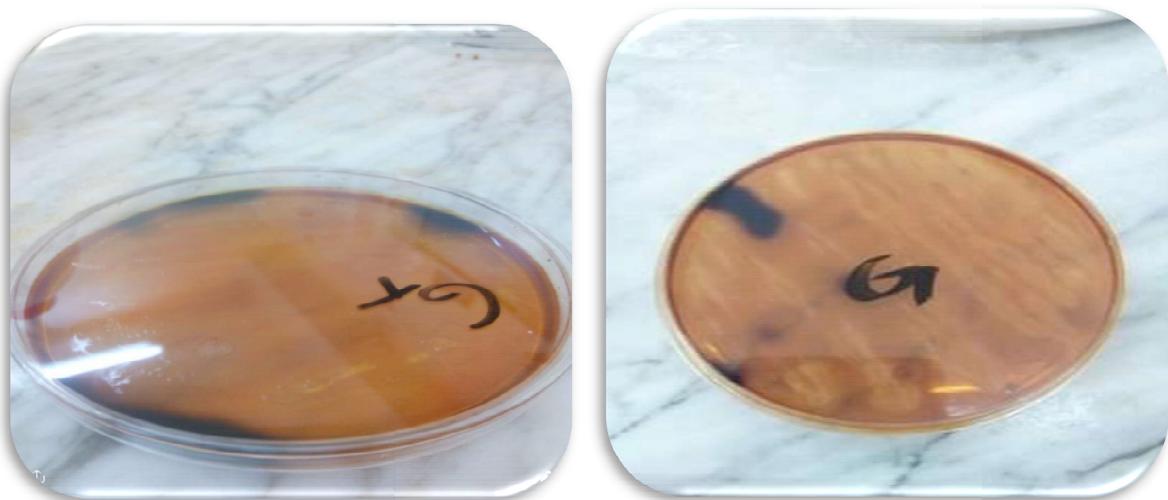
Dans notre étude, toutes les souches bactériennes que nous avons analysées sont des catalases positives, dont la présence se traduit par le dégagement de bulles (fig 20).



**Figure 20:** Test catalase pour les souches bactériennes (Pt et Gt) (Original)

➤ **Test amylase**

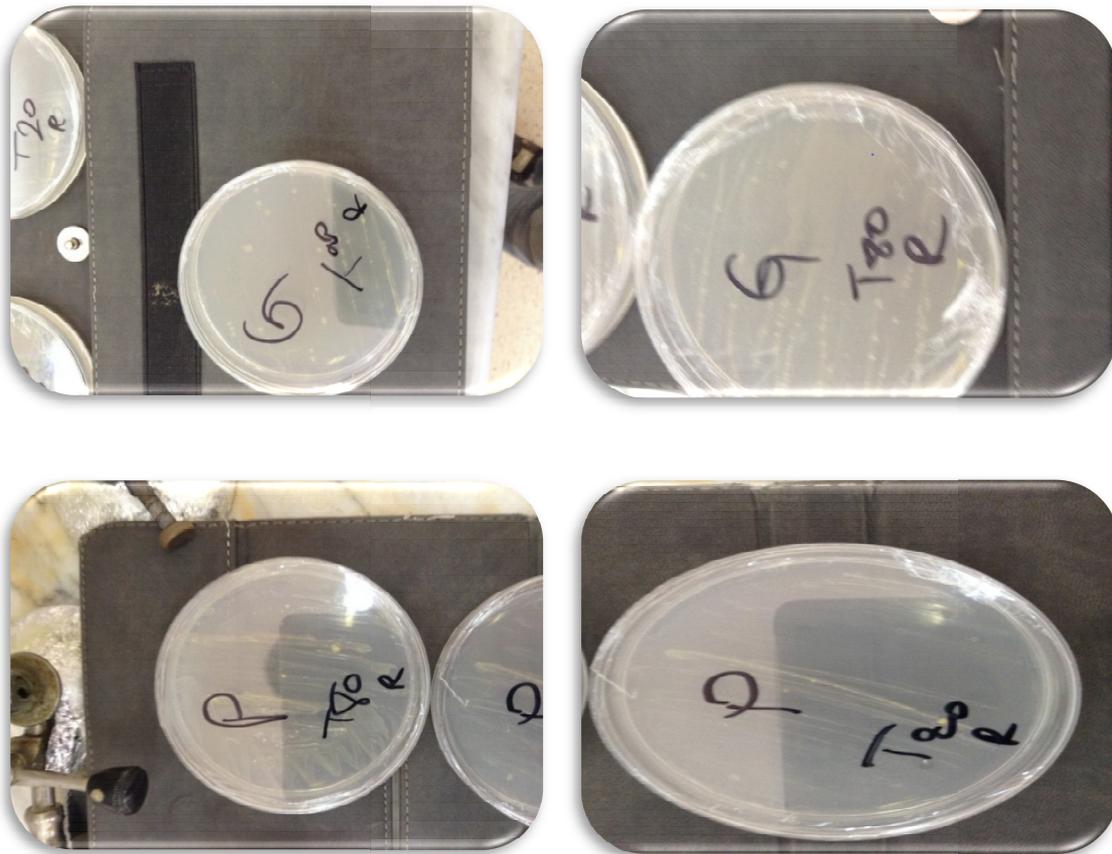
Les deux souches **PtetGt** bactériennes que nous avons analysées sont des amylases positives, dont l'apparition d'une zone claire autour des disques indique la présence d'une activité amylasique (fig 21).



**Figure 21:** Test amylase pour les souches bactériennes (Pt et Gt) (Original)

➤ **Test lipasique et estirasique**

Les deux souches bactériennes **PtetGt** que nous avons analysées sont des lipases et des estirases positives, dont la présence de l'activité est indiquée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (fig 22).



**Figure 22:** Teste lipasique et estérasique des souches bactériennes (Pt et Gt) (**Original**).

D'après les résultats, les souches isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier se répartissent en bacille Gram positif et coque à Gram positif. Par ailleurs toutes les souches identifiées sont catalase+. Ces caractères d'identification ont permis l'orientation vers deux genres **Staphylococcus (Pt)**, et **Bacillus (Gt)**.

## 1.2. Traitement des nématodes par *sapindus sp*

### 1.2.1. Rendement d'extraction

L'extraction est une étape importante dans l'étude et l'isolement des composés bioactifs des plantes. Au cours de l'extraction les solvants diffusent dans le matériel végétal solide et solubilisent les composés qui ont une polarité similaire (**Tiwari et al., 2011**).

A partir d'extraction de 10g de poudre des fruits de *Sapindus* dans 100ml d'éthanol, on a obtenu 1 g d'extrait brut à la fin.

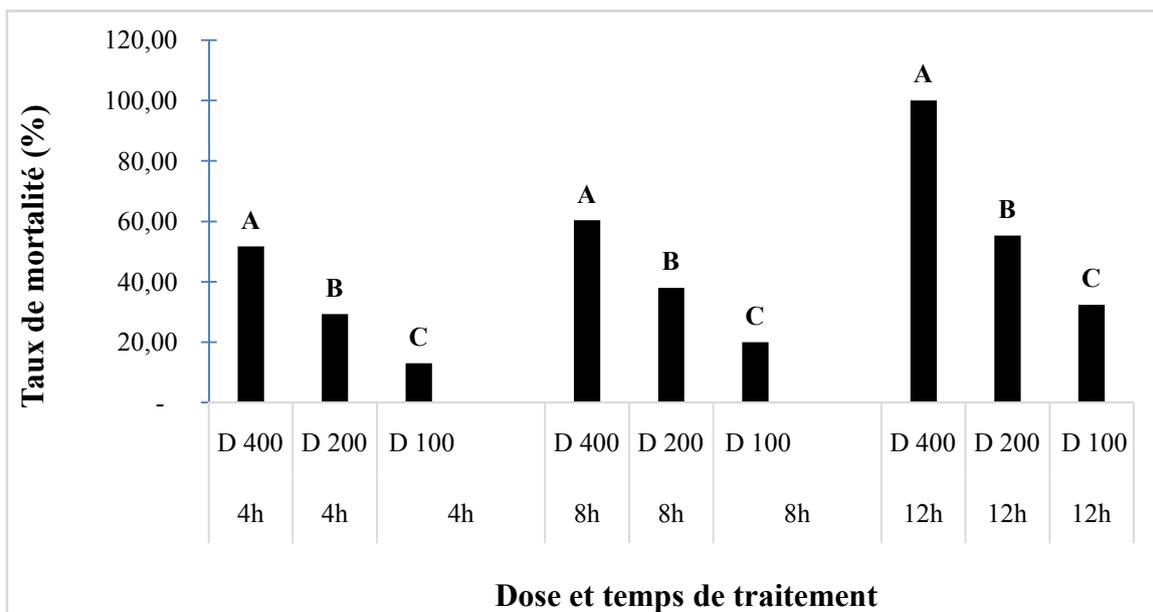
1.2.2. Traitement des nématodes par les extraits de *Sapindus*

Les résultats des tests d'efficacité du *Sapindus sp* sur la mortalité des larves sont présentés dans le tableau 04. Ces résultats montrent l'efficacité de l'activité nématocide de la combinaison de l'extrait éthanolique sur le taux de la mortalité des larves mobiles. Cette activité est proportionnelle à la concentration des doses est la période d'exposition avec une tolérance de  $P < 0.0001$ .

**Tableau 4:** Analyse de la variance de mortalité des nématodes par l'extrait éthanolique de *Sapindus sp*

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	Pr > F
Extraits	5	25550,305	5110,061	14,556	< 0,0001***
Résiduelle	30	10531,333	351,044		
Total	35	36081,638			

La présentation graphique par les courbes illustrée dans la figure 23 et le tableau 04 de l'annexe 02, montrent l'effet des doses sur la viabilité et la mobilité des larves de nématode de deuxième stade en fonction du temps. Pour but de bien évaluer l'efficacité de l'extrait de *Sapindus sp* sur la mortalité des larves, nous avons effectué deux tests avec le même modèle expérimental en gardant les mêmes doses.



**Figure 23:** Moyenne de mortalité des nématodes en fonction des différentes doses et du temps.

L'extrait éthanolique des fruits de *Sapindus spa* enregistré un taux de mortalité croissant durant les 12 heures de traitement pour les trois doses. Le test de comparaison des moyennes LSD de Fisher (tableau 02, Annexe 02) a séparé trois groupes homogènes où chaque dose est classée dans un groupe.

Après quatre (04) heure d'exposition des larves à l'extrait éthanolique des fruits de *Sapindussp*, la dose de 400µl a donné une moyenne de mortalité de 51,66% suivie de la dose de 200µl qui a donné le pourcentage de mortalité de 29,33% et en dernier lieu, la dose de 100µl a enregistré une mortalité de 13%.

Après huit (08) heures de traitement, le taux de mortalité des larves de nématode de deuxième stade a augmenté pour les trois doses testées. Une moyenne de 60,33 % de mortalité a été enregistré pour la dose de 400µl suivie de la dose de 200µl qui a enregistré une moyenne de 38 % et puis de la dose de 100µl où le pourcentage de mortalité des larves de nématode était de 20%.

Après douze heures (12h) d'exposition des larves à l'extrait éthanolique des fruits de *Sapindussp*, le taux de mortalité des larves de nématode de deuxième stade a augmenté pour les trois doses testées pour atteindre les 100% pour la dose de 400µl. Avec la dose de 200µl, le pourcentage de mortalité des larves de *Meloidogyneincognita* était de 55,33 % et était de 32,33 % de mortalité pour la dose 100 µl.

D'après ces résultats, la dose de 400 µl était la plus efficace par rapport aux deux autres doses (200 µl et 100 µl). Par conséquent, plus la dose de l'extrait de *Sapindussp* est élevée et plus la durée de l'expérience est longue, plus le taux de mortalité des *Meloidogyneincognita* est élevé.

### 1.3. Traitement des nématodes par PGPR

Après 72 heures d'exposition des nématodes aux deux isolats de PGPR (Pt et Gt), et après avoir placé les boîtes au microscope, aucune mortalité des larves de nématodes *Meloidogyneincognita* par PGPR n'a été observée.

Les traitements ont été préparés à nouveau, en augmentant le volume de traitement et les doses en quantité double et en laissant séjournés ensemble, les larves de nématodes *Meloidogyneincognita* et les solutions contenant les isolats des PGPR (Pt et Gt) pendant 72 heures. L'observation au microscope, n'a révélé aucune mortalité des larves de nématodes *Meloidogyneincognita* par PGPR. Donc le résultat est négatif.

## 2. Discussions

Ainsi, afin d'étudier l'effet de 02 PGPR sur les nématodes à galles *Meloidogyne incognita*, il fallait tout d'abord les identifier et les caractériser, surtout pour leur activité enzymatique et hydrolytique.

Dans cette étude, des méthodes classiques d'identification (morphologiques), ont été utilisées pour l'identification des 02 souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère palmier dattier dans la Wilaya de Oued Souf. Ces isolats ont été nommés : Pt et Gt.

L'identification a permis l'orientation vers deux genres de bactéries : le premier *Staphylococcus* pour la souche Pt, et le deuxième *Bacillus* pour la souche Gt. En outre, le genre *Bacillus* représente le groupe bactérien le plus dominant dans la rhizosphère des plantes et du blé (**Rawat et al., 2003**). **Tamilarasi et al. (2008)** ont isolé diverses bactéries de la rhizosphère de 50 plantes médicinales parmi lesquelles, parmi les bactéries isolées, l'espèce dominante était *Bacillus*, suivie de *Pseudomonas*. Selon **Mayak et al. (2004)**, les *Pseudomonas* et les *Bacillus* ont été signalés avec une très grande efficacité dans la colonisation de la racine de l'hôte et la production de métabolites de croissance entraînant une amélioration du rendement des cultures stratégiques. Les différents modes d'action d'une souche de *Bacillus subtilis* FZB24, contre les phytopathogènes suggèrent le rôle de la bactérie dans la vitalité des plantes.

*Bacillus*, Ils comprennent les espèces d'intérêts industriel, biotechnologique et environnemental, ainsi que des souches cliniquement importantes (Slepecky et Hemphill, 2006). En termes de propriétés métaboliques, ils présentent un groupe très diversifié, car ils peuvent dégrader divers substrats et produire de nombreuses molécules, y compris les biosurfactants lipopeptidiques, les antibactériens, les antifongiques et les antiviraux (**Saharan et Verma, 2014**). Ils sont couramment utilisés dans l'agriculture, la production alimentaire, la chimie, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques (**Pacwa-lociniczak et al., 2015**).

Par ailleurs, *Staphylococcus* est une bactérie à Gram positif, en forme de coque, non mobiles, sont à catalase positive et aéro-anaérobies facultatives (**Emilie, 2007**). Elle caractérisé par un grand potentiel de biofilm. Le PGPR *Staphylococcus kloosii* EY37 et inoculés sur des semences améliore les performances d'émergence, la croissance et l'absorption de nutriments et pourrait induire une tolérance au stress salin chez le radis (**Yildirim et al., 2008**).

La croissance des bactéries sur le milieu « Ashby » dépend de leur aptitude à fixer l'azote. Dans notre étude, on a trouvé que les deux isolats ont fixé l'azote se développent sur le milieu Ashby. Plusieurs auteurs ont supposé que la majorité des bactéries rhizosphériques ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique ce qui augmente le rendement des cultures (**Rodge et al., 2016**). La fixation d'azote par les bactéries pour les cultures légumineuses est bien connue et étudiée (**Barea et al., 2005 ; Esitken et al., 2006**). De même, les PGPR peuvent aussi fixer l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) pour d'autres cultures, les céréales (maïs, riz et blé) et les légumes (laitue et radis) (**Antoun et Prévost, 2000**). Par ailleurs, les *Pseudomonas fluorescens* ont été décrits, depuis longtemps comme stimulateurs de la nodulation chez le pois chiche (**Parmar et Dadarwal, 1999**). Par la suite, il est devenu évident que ces rhizobactéries améliorent de manière significative la longueur des racines, le nombre de feuilles et la taille des fruits. Aussi, la capacité des PGPR de fixer l'azote dans le sol et d'améliorer les rendements des cultures pourrait remplacer l'utilisation d'engrais azotés (**Vessey, 2003**).

Tous les isolats ont montré des résultats positifs pour la production de catalase. L'activité de la catalase dans les souches bactériennes peut être potentiellement très avantageuse et les souches bactériennes montrant une activité catalase doivent être très résistantes aux stress environnementaux, mécaniques et chimiques (**Singh et al., 2016**).

En outre, nos deux souches ont montré des résultats positifs avec toutes les activités enzymatiques réalisées. La production d'enzymes lytiques telles que la lipase, la cellulase, la pectinase et les protéases est un mécanisme couramment utilisé par les bactéries pour inhiber la croissance des autres microorganismes pathogènes (**Dinesh et al., 2015**). La synthèse d'enzymes amylolytiques par les bactéries du sol permet une dégradation de la matière organique et fournit les éléments minéraux nécessaires pour la croissance. Dans leur étude sur *Bacillus sp.*, Obi et Odibo (1984) ont révélé une production de quantités considérables en  $\alpha$  et  $\beta$ -amylases. Ils ont aussi déterminé les différents paramètres. L'activité amylasique est observée chez 83,3 % des isolats obtenus à partir des algues marines et 87,5% des isolats du sol. Les amylases sont des enzymes qui hydrolysent l'amidon ou le glycogène. Elles peuvent dériver de plusieurs sources comme les plantes, les animaux et les microorganismes. Ces derniers sont plus favorisés grâce à leur large disponibilité et leur production volumineuse à l'échelle industrielle (**Vidyalakshmi et al., 2009**). Par conséquent, les enzymes hydrolytiques telles que les chitinases et les protéases étaient proposées d'agir comme facteur de virulence contre les nématodes (**Jung et al., 2002; Siddiqui et al., 2005**). Ici, nous avons démontré que

les deux souches sont des puissants producteurs d'enzymes hydrolytiques telles que l'amylase et la protéase, qui peuvent être partiellement impliquées dans la suppression des nématodes à galles.

L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé d'augmenter au cours des 25 dernières années, principalement en raison du grand nombre d'applications qu'elles offrent dans différents domaines. Les lipases microbiennes présentent comme avantages d'une part, les procédés de fabrication sont relativement simples comparés aux lipases d'origine animale, et d'autre part, elles montrent une grande stabilité vis-à-vis de la température, des détergents et des enzymes protéolytiques. (Sharma et al., 2001).

L'extraction des poudres de *Sapindus* par l'éthanol a donné un extrait brut de 1g. Cette plante, est connue par sa richesse en saponine, un composé actif très efficace contre les microorganismes et les agents pathogènes. Le produit final a été testé sur les larves des nématodes à galle du genre *Meloidogyne* qui survivent dans le sol sous forme de larves de deuxième stade (L2), logées dans la coquille de l'œuf. Ces larves L2 éclosent à proximité des racines, stimulées par les substances chimiques produites par les exsudations racinaires de celles-ci (Eric Beliard, 2003). L'application des agents chimiques pour le contrôle de celles-ci n'a donc cessé d'augmenter. Par conséquent, l'augmentation de l'utilisation d'un certain nombre de pesticides a eu des effets négatifs sur la santé humaine et sur l'environnement (Weih et al., 2008). La production de substances "nématocides" par des végétaux supérieurs est par contre connue depuis très longtemps. Les données acquises sur le terrain démontrent une activité nette de certains végétaux introduits traditionnellement (par des ethnies africaines ou des populations d'Asie et d'Amérique du Sud) dans les assolements, en cultures intercalaires ou sous forme de broyats, pour lutter contre une "maladie", en fait des invasions de nématodes. Plus de 200 espèces de plantes appartenant à 80 familles différentes sont étudiées pour leurs propriétés nématocides.

Nos résultats, ont montré l'effet nématocides des fruits de *Sapindus* à plusieurs doses. Après quatre (04) heures d'exposition des larves à l'extrait éthanolique des fruits de *Sapindus*, la dose de 400 µl a donné la moyenne de mortalité la plus élevée 51,66%. Et après huit (08) heures, la même dose a montré une mortalité de 60,33 %. Cependant, Après douze heures (12h) le taux de mortalité des larves de nématode de deuxième stade a augmenté pour atteindre les 100% pour la dose de 400 µl. Dans une étude réalisée par Ibrahim et al. 2014 les saponines totales ont été extraites de trois plantes, à savoir *Corchorus olitorius*,

*Portulacaceae*, et *Cinnamomum camphora*, et leurs efficacité nématocide a été évaluée par rapport aux larves du deuxième stade dans des conditions de laboratoire, le taux de mortalité des larves était de 98,9 % et 100%. Les saponines sont connues pour augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire aux macromolécules (Francis et al., 2002), facilitant probablement l'absorption de molécules complexes et toxiques telles que les polyphénols. Cependant, il est clairement nécessaire de poursuivre les recherches pour élucider les mécanismes exacts par lesquels les extraits de *Sapindus* contrôlent les populations de nématodes parasites des plantes.

Par ailleurs, les espèces de *Bacillus* ont déjà démontré leur capacité à inhiber la croissance des phytopathogènes, mais également à faciliter la colonisation de la racine et à induire une résistance de l'hôte (Ongena et Jacques, 2007). Nombreuses des études ont examiné le potentiel des espèces de *Bacillus* pour le contrôle des populations de *Meloidogyne* et des maladies de différentes cultures. Plusieurs espèces de *Bacillus*, dont *B. cereus* (Oka et al. 1993), *B. firmus* (Terefe et al., 2009), *B. subtilis* (Siddiqui 2002; Xia et al., 2011), *B. nematocida* (Niu et al., 2007), *B. thuringiensis* (SalehiJouzani et al., 2008) et *B. megaterium* (Huang et al., 2010), ont été démontrés pour lutter efficacement contre les nématodes. Alors que nos résultats ont montré un effet négatif des deux souches sur les larves de nématodes. Ca est peut-être dû aux concentrations faibles des bactéries ou bien à l'absence de l'activité nématocide chez nos souches, malgré leurs capacités productrices de plusieurs enzymes hydrolytiques. Les mêmes résultats ont été obtenus précédemment par Tariq (2008), qui a trouvé que certaine souche, considéré PGPR, isolée à partir de la tomate, n'ont pas d'effet significatif sur les nématodes.

# Conclusion

### Conclusion

Les nématodes phytoparasites constituent l'un des groupes les plus nuisibles des cultures, en particulier dans les en développement du monde. Les nématodes à galle (*Meloidogyne sp.*) Sont présents dans le monde entier et sont responsables d'une grande partie des pertes de rendement annuelles attribuées aux nématodes.

Cette étude renferme trois volets : l'isolement et l'identification des deux souches PGPR, l'effet des isolats sur les nématodes à galle '*meloidogyneincognita*' et enfin l'effet des extraits de fruit de *Sapindus* sur les nématodes.

Dans la première partie, deux souches codées Pt et Gt ont été isolée à partir de la rhizosphère du palmier dattier dans la wilaya d'Oued Souf. L'identification et la caractérisation morphologique des souches bactériennes isolées a permis de les classer dans 02 genres différents qui sont : Bacillus pour la souche Pt et Staphylococcus pour la souche Gt. Par la suite, ces deux souches ont été évaluées par quelques traits biochimiques. Les isolats ont pu : fixer l'azote atmosphérique et ils ont montré une activité catalytique, amylasique, lipasique et estérasique positives.

Dans la deuxième partie, pour confirmer l'effet positif des bactéries sur la mortalité des larves des nématodes, un inoculum bactérien pour les deux souches a été préparé préalablement, puis testé sur ces larves. Les résultats obtenus après 24h de traitement, montre que les deux souches n'ont pas une activité nématocides

Et enfin la troisième partie où on a étudié l'effet des extraits de *Sapindus* sur les larves de nématodes. La dose d'extrait de 400 µl a montré les meilleurs résultats dans chaque observation. Après 04heures, 08 heures et 12 heures cette dose a donné les moyennes de mortalité la plus élevée : 51,66%,60,33 % et 100%, respectivement.

Au terme de ce travail, nous tenons à proposer quelques recommandations afin d'améliorer le contrôle biologique des nématodes, pour cela il serait intéressant de :

- Isoler des nouvelles souches PGPR, à partir des milieux extrêmes et évaluer leurs performances nématocides ;
- Valoriser l'utilisation des extraits des plantes en tant agent de contrôle biologique, par fabrication industriel et utilisation à grande échelle.

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

- Abdel Wahab, S. M., & Selim, M. A. (1985). Lipids and flavonoids of *Sapindussaponaria*. *Fitoterapia*.
- Abnatura RD. (2013). Les Rhizobactéries PGPR. Bulletin Technique. Avril 2013 Issue. <[http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura\\_bulletin](http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin). (Accessed 21.04.18).
- agents, In: *Soil Microbial Ecology*. Ed., F.B. Jrounal, Marcel Dekker inc., N.Y. p. 255 -273
- Ahamed, M., Akhtar, M. J., Siddiqui, M. A., Ahmad, J., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A. A., ... & Alrokayan, S. A. (2011). Oxidative stress mediated apoptosis induced by nickel ferrite nanoparticles in cultured A549 cells. *Toxicology*, 283(2-3), 101-108.
- Ahmad F, Ahmad I, et Khan M.S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*. 163, 173-181.
- Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcon, R., & Azcon-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417), 1761-1778.
- Barraquio, W. L., E. M. Segurbre, M. S. Gonzalez, S. C. Verma, E. K. James, J. K. Ladha, and A. K. tripathi. (2000). p. 93-118. In the Quest for nitrogen fixation in rice, (ed.), IRRI, Los Banos, Philippines.
- Beauchamp, C. J. (1993). Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74(1), 19-27.
- Beliard, R., Waegemans, T., Notelet, D., Massad, L., Dhainaut, F., Romeuf, C. D., ... & Prost, J. F. (2008). A human anti- $\alpha$ D monoclonal antibody selected for enhanced Fc $\gamma$ RIII engagement clears RhD<sup>+</sup> autologous red cells in human volunteers as efficiently as polyclonal anti- $\alpha$ D antibodies. *British journal of haematology*, 141(1), 109-119.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1044-1051.
- Butler, R. N., & Coyne, A. G. (2010). Water: Nature's Reaction Enforcer  $\square$  Comparative Effects for Organic Synthesis "In-Water" and "On-Water". *Chemical reviews*, 110(10), 6302-6337.

- Campbell R et Greaves MP. (1990). Anatomy and community structure of the
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodriguez, M.I., Chulze, S. and Etcheverry, M. (2005). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Res.Microbiol.* 156(5-6):748-754.
- Colis, J. C. F., Laroche, C., Staples, R., Herbst-Irmer, R., & Patterson, H. (2005). Structural studies of lanthanide ion complexes of pure gold, pure silver and mixed metal (gold–silver) dicyanides. *Dalton Transactions*, (4), 675-679.
- Curiel, D. T., Wagner, E., Cotten, M., Birnstiel, M. L., Agarwal, S., Li, C. M., ... & Hu, P. C. (1992). High-efficiency gene transfer mediated by adenovirus coupled to DNA–polylysine complexes. *Human gene therapy*, 3(2), 147-154.
- Dabiré, K. R. (1998). Influence du sol sur l'infestation de *MeZoidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (Nematoda) par l'actinomycète parasitoïde *Pasteuria penetrans* (Thorne, 1940) Sayre & Starr, 1985.
- Davet, P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Editions Quae.
- De Bélair, G. (2005). Dynamique de la végétation de mares temporaires en Afrique du Nord (Numidie orientale, NE Algérie). *Ecologia mediterranea*, 31(1), 1-18.
- De Guiran, G., & Netscher, C. (1970). LES NEMATODES DU GENRE *MELOZDOGYA*'E, PARASITES DE CULTURES TROPICALES. Complétez la référence
- Djian-Caporalino, C., Fazari, A., Marteu, N., Navarrete, M., Dufils, A., Tchamitchian, M., ... & Tavoillot, J. afpp–cinquième conférence internationale sur les méthodes alternatives de protection des plantes lille–11 au 13 mars 2015 le projet gedunem: innovations techniques et varietales pour une gestion durable & integree des nématodes a galles dans les systemes maraichers sous abris.
- Doise, W., Clémence, A., & Lorenzi-Cioldi, F. (1992). Représentations sociales et analyses de données.
- Dommergues, Y. Mangenot (1970) Ecologie microbienne du sol. *Masson y Cié., Paris, 10*, 375-400.
- Felger, R., Wiens, J. F., Smith, S. G., Laferriere, J. E., Mastrogiuseppe, J. D., Old, R. R., ... & Roche, C. T. (1993). Noteworthy Collections. *Madroño*, 40(3), 178-186.

- Gilman, D., Aldighieri, P., Watson, D. L., Sandvig, C., Bodnar, L., Greenberg, J. A., & Watson, A. L. (2017). U.S. Patent No. 9,696,176. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Gilman, D., Aldighieri, P., Watson, D. L., Sandvig, C., Bodnar, L., Greenberg, J. A., & Watson, A. L. (2017). U.S. Patent No. 9,696,176. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Glick BR (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol* 41:109-117.
- Gupta G, Singh Parihar S, Kumar Ahirwar N, Kumar SnehiS et Singh V. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J MicrobBiochemTechnol*. Volume 7(2), 96-102.
- Haas, D. and Defago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319.
- Hache, É. (2007). La responsabilité, une technique de gouvernamentalité néolibérale?. *Raisons politiques*, (4), 49-65.
- Harman, G. E., &Shoresh, M. (2007). The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. In *Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management* (pp. 131-155). Springer, Dordrecht.
- Heritage J., Evans E. G. V. and Killington R. A. (1997). The microbiology of soil and of nutrient cycling. *Microbiology in Action*. Completez la référence
- Hoit, J. D., &Hixon, T. J. (1992). Age and laryngeal airway resistance during vowel production in women. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, 35(2), 309-313.
- Hughes□Hassell, S., & Rodge, P. (2007). The leisure reading habits of urban adolescents. *Journal of Adolescent & Adult Literacy*, 51(1), 22-33.
- Hussey, R. S., & Barker, A. A. (1973). Comparison methods of colleting inocula of.
- Jijakli, H. (2003). La lutte biologique en phytopathologie. Pp: 289-311. *Lepoivre, P. phytopathologie. Ed. les presses agronomiques des Gembloux.*

- Kishore, G. K., Pande, S., & Podile, A. R. (2006). *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. *Australasian Plant Pathology*, 35(2), 259-263.
- Kloepper JW, Litshitz R et Zablutowicz RM. (1989). Free living bacterial inoculation for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol*, 7:39-43.
- Kloepper JW. (1993). Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control
- Kushwaha, U. K. S., Ghimire, S. K., Yadav, N. K., & Ojha, B. R. (2013). Genetic relatedness of lentil (*Lens culinaris* L.) germplasm by using SSR markers. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3), 132-136.
- Latif, M., & Tariq, J. A. (2009). Performance assessment of irrigation management transfer from government-managed to farmer-managed irrigation system: a case study. *Irrigation and Drainage: The journal of the International Commission on Irrigation and Drainage*, 58(3), 275-286.
- Little, E. L., & Skolmen, R. G. (1989). Common forest trees of Hawaii (native and introduced). Washington, DC: US Department of Agriculture, Forest Service, Agricultural Handbook No. 679. 321 p, 679.
- Martínez-Viveros<sup>1</sup> O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo G. and Mora M.L. (2010). Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10 (3): 293 – 319.
- Morgan J. A. W., Bending G. D. and White P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56 : 1729-1739.
- Mukhaimar, M. (2015). Sources naturelles de la résistance contre les nématodes à galles *Meloidogyne javanica* chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- Muller, J. P., Denis, M. A., Dundas, R. D., Mitchell, K. L., Naud, C., & Mannstein, H. (2007). Stereo cloud-top heights and cloud fraction retrieval from ATSR-2. *International Journal of Remote Sensing*, 28(9), 1921-1938.

- Ningyu, L. I., Bin, G. U. O., Hua, L. I., Qinglin, F. U., Renwei, F. E. N. G., & Yongzhen, D. I. N. G. (2016). Effects of double harvesting on heavy metal uptake by six forage species and the potential for phytoextraction in field. *Pedosphere*, 26(5), 717-724.
- Obi, S. K. C., & Odibo, F. J. C. (1984). Partial purification and characterization of a thermostable actinomycete  $\beta$ -amylase. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47(3), 571-575.
- Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., ... & Thonart, P. (2007). Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental microbiology*, 9(4), 1084-1090.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., & Sahin, F. (2006). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia Horticulturae*, 111(1), 38-43.
- Parmar, N., & Dadarwal, K. R. (1999). Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria. *Journal of applied Microbiology*, 86(1), 36-44.
- Peter H, Georges BJ, Raven KA, Mason JB, Losos SR et Singer. (2015). *Biologies*, 9ème Ed. amirécaine du Raven, p: 140
- Ramos-Solano B, Barriuso-Maicas J, Gutierrez-Mañero J (2009). Biotechnology of the Ravi Kumar M. N. V., 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1) 1-27.
- Rao, H. J. (2012). Lakshmi: Anti-diarrhoeal activity of the aqueous extract of the bark of *cinnamomumzeylanicum*linn in mice. *J ClinDiagn Res*, 6, 215-219.
- Rodge, S. P., Sable, S. K., Salve, S. K., Sawant, S. A., &Patil, N. P. (2016). Isolation and Characterization of PGPR from Roots of *Ficus religiosa* growing on Concrete Walls and its Effect on Plant Growth in Drought Condition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(9), 583-593.
- Schölkopf, B., Smola, A. J., & Bach, F. (2002). *Learning with kernels: support vector machines, regularization, optimization, and beyond*. MIT press
- Seshiah, V., Balaji, V., Balaji, M. S., Paneerselvam, A., Arthi, T., Thamizharasi, M., & Datta, M. (2008). Prevalence of gestational diabetes mellitus in South India (Tamil Nadu): a community based study. *JAPI*, 56, 329-33.

- Shai, I., Schwarzfuchs, D., Henkin, Y., Shahar, D. R., Witkow, S., Greenberg, I., ... & Tangi-Rozental, O. (2008). Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *New England Journal of Medicine*, 359(3), 229-241.
- Shameer, K. M., Manjunath, K., Marconi, S. D., Krishnaveni, V., Rakesh, P. S., & Prasad, J. H. (2017). A community based case control study on risk factors for treatment interruptions in people with tuberculosis in Kollam district, Kerala, southern India. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 3(4), 962-967.
- Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology advances*, 19(8), 627-662.
- Slepecky, R. A., & Hemphill, H. E. (2006). The genus *Bacillus*—nonmedical. *The Prokaryotes: Volume 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*, 530-562.
- Southey, J. F. (1986). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. HMSO.
- Sumenkova, N. I. "PARAMALENCHUS-ANTHRISCULUS GEN ET SP-N (NEMATODA, TYLENCHIDAE) FROM THE RHIZOSPHERE OF PLANTS IN A FLOODLAND MEADOW." *Zoologicheskyy Zhurnal* 67, no. 7 (1988): 1073-1076.
- Suresh, U., Murugan, K., Benelli, G., Nicoletti, M., Barnard, D. R., Panneerselvam, C., ... & Chandramohan, B. (2015). Tackling the growing threat of dengue: *Phyllanthus niruri*-mediated synthesis of silver nanoparticles and their mosquitocidal properties against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, 114(4), 1551-1562.
- Thines, B., Katsir, L., Melotto, M., Niu, Y., Mandaokar, A., Liu, G., ... & Browse, J. (2007). JAZ repressor proteins are targets of the SCF CO11 complex during jasmonate signalling. *Nature*, 448(7154), 661
- Thorner, M. O., Reschke, J., Chitwood, J., Rogol, A. D., Furlanetto, R., Rivier, J., ... & Blizzard, R. M. (1985). Acceleration of growth in two children treated with human growth hormone-releasing factor. *New England Journal of Medicine*, 312(1), 4-9.
- Valle, M., Zavialov, A., Sengupta, J., Rawat, U., Ehrenberg, M., & Frank, J. (2003). Locking and unlocking of ribosomal motions. *Cell*, 114(1), 123-134.
- Van Loon, L.C. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-254.

- Verma, R. (2014). Land grabs, power, and gender in East and Southern Africa: So, what's new?. *Feminist Economics*, 20(1), 52-75.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
- Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., & Indhumathi, J. (2009). Amylase production on submerged fermentation by *Bacillus* spp. *World Journal of Chemistry*, 4(1), 89-91.
- Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. Pimenta, F. P., Souza, M. C., Pereira, G. A., Hirata Jr, R., Camello, T. C. F., & Mattos □ Guaraldi, A. L. (2008). DNase test as a novel approach for the routine screening of *Corynebacterium diphtheriae*. *Letters in applied microbiology*, 46(3), 307-311.
- Walker, T.S., Bais, H.P., Grotewold, E., Vivanco, J.M. (2003). Root exudation and
- Wang X., Mavrodi D.V., Ke L., Mavrodi O.V., Yang M., Thomashow L.S., Zheng N., Weller D.M. et Zhang J. (2014). Biocontrol and plant growth-promoting activity of rhizobacteria from Chinese fields with contaminated soils. *Microbial Biotechnology*. 8: 404-418.91-112. New Delhi, Fertiliser Development and Consultation Organization.
- Wani, P.A., Khan, M.S., 2010. *Bacillus* species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. *Food Chem. Toxicol.* 48, 3262–3267.
- Weyens N., Monchy S., Vangronsveld J., Taghari. and Lelie D. V. (2010). Plant- Microbe Partnerships (ed.), *Hand booh of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. p. 547-257.
- Yates, A., Akanni, W., Amode, M. R., Barrell, D., Billis, K., Carvalho -Silva, D., ... & Girón, C. G. (2015). Ensembl 2016. *Nucleic acids research*, 44(D1), D710-D716.
- Yu, H., Braun, P., Yıldırım, M. A., Lemmens, I., Venkatesan, K., Sahalie, J., ... & Hao, T. (2008). High-quality binary protein interaction map of the yeast interactome network. *Science*, 322(5898), 104-110.
- Zieger, S., Vinoth, J., & Young, I. R. (2009). Joint calibration of multiplatform altimeter measurements of wind speed and wave height over the past 20 years. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 26(12), 2549-2564.

Zieger, S., Vinoth, J., & Young, I. R. (2009). Joint calibration of multiplatform altimeter measurements of wind speed and wave height over the past 20 years. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 26(12), 2549-2564.

# Annexes

**Annexes****Annexe 01 : Composition des milieux de culture****Composition du milieu King Ben (g/l) pH =7,2**

Peptone (Difco).....	20 g
Glycérol (prolabo) .....	15 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (sigma) .....	1,5 g
MgSO <sub>4</sub> (sigma) .....	1,15 g
Agar (sigma) .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

**Composition du milieu Ashby sans azote en (g/l)**

Mannitol .....	20 g
Hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) .....	0,20 g
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> ) .....	0,200 g
Chlorure de sodium (NaCl) .....	0,200 g
Sulfate de potassium (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ).....	0,10 g
Carbonate de calcium (CaCO <sub>3</sub> ) .....	5 g
Agar .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

**Composition de milieu pour le test d'amylase (Gélose à base d'amidon contenant en g/l)**

KNO <sub>3</sub> .....	0,5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1,0 g
MgSO <sub>4</sub> .....	0,2 g
CaCl <sub>2</sub> .....	0,1 g
FeCl <sub>3</sub> .....	0,001g
Amidon soluble .....	10 g
Agar .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

**Solution de Lugol**

1 g d'iodine cristallin,  
2 g de KI,  
300 ml d'eau distillée

**Composition de milieu pour l'activité estérasique et lipasique**

Peptone .....	10 g
NaCl .....	5 g
CaCl 2H <sub>2</sub> O .....	0,1 g
Agar .....	18 g
Tween 80 (1%, v/v).	
Tween 20 (1%, v/v).	

## Annexe 02: Statistiques de traitement des nématodes par l'extrait éthanolique de *Sapindus sp*

**Tableau 01 :** Effet des extraits sur la mortalité des larves juvéniles de *Meloidogynesp* en fonction du temps et des doses.

Témoin		0	0	0		0	0	0		0	0	0
Extraits Mét h Sapindus	Dose ml/m l eau	400	200	100		400	20	10		40	200	100
	4h	51	28	10	8h	59	39	17	12h	100	60	31
		49	29	12		62	35	21		100	54	29
		55	31	17		60	40	22		100	52	37
Moyenne	51,67	29,33	13,00		60,33	38	20		100	55,33	32,33	

**Tableau 02 :** Test de comparaison des moyennes (Fischer, LSD).

Doses	Moyennes estimées	Ecart types	Groupes homogènes		
D1	72,2222	6,2454	A		
D2	52,8889	6,2454	A	B	
D3	34,1111	6,2454		B	C
Control	0	10,8173			C

## Résumé

Les restrictions imposées sur l'utilisation de nématicides conventionnels ont accru le besoin de nouvelles méthodes de gestion des nématodes phytoparasites. Par conséquent, les microbes antagonistes des nématodes et les composés actifs produits par les plantes sont à l'étude en vue d'ajouter aux pratiques de gestion. Dans cette étude, deux souches bactériennes Pt et Gt ont été isolées à partir de la rhizosphère du palmier dattier pour évaluer leur effet nématicides sur *Meloidogyne incognita*. Tout d'abord, ces souches ont été caractérisées selon des traits morphologiques et biochimiques pour leur capacité à fixer l'azote, leurs activités enzymatiques telles que le catalase, l'amylase, la lipase et l'estérase. La majorité des souches testées ont présenté des résultats positifs avec les tests précités. Par la suite, ces deux isolats ont été testés en tant que agents de biocontrôle contre les nématodes, les résultats obtenus ont montré que nos souches n'ont pas d'effet sur les nématodes. Par ailleurs, l'application des extraits des fruits de *Sapindus*, sur ces nématodes, a montré une activité nématicides importante, notamment par la dose 400 µl, qui a donné des taux de mortalité des larves de 51%, 67 ; 60,30% et de 100%, après un temps de traitement de 4h, 8h et 12h, respectivement.

**Mots clés :** Nématodes, *Meloidogyne incognita*, *Sapindus sp.*, PGPR

## Abstract:

Restrictions on the use of conventional nematicides have increased the need for new methods for the management of plant parasitic nematodes. Therefore, antagonistic nematode microbes and active compounds produced by plants are being studied with a view to adding to management practices. In this study, two bacterial strains Pt and Gt were isolated from the rhizosphere of the date palm to evaluate their nematicidal effect on *Meloidogyne incognita*. First, these strains were characterized according to morphological and biochemical traits for their ability to fix nitrogen, their enzymatic activities such as catalase, amylase, lipase and esterase. The majority of strains tested showed a positive results with the above tests. Subsequently, these two isolates were tested as biocontrol agents against nematodes, the results obtained showed that our strains have no effect on nematodes. In addition, the application of *Sapindus* fruit extracts to these nematodes has shown significant nematicide activity, in particular by the 400 µl dose, which gave larval mortality rates of 51%, 67; 60.30% and 100%, after a treatment time of 4h, 8h and 12h, respectively.

**Key words:** Nematodes, *Meloidogyne incognita*, *Sapindus sp.*, PGPR

## ملخص

تعتبر النيماطودا ذات العقد الجذرية *Meloidogyne incognita* واحدة من أكثر الآفات إنتشارا التي تحد من الإنتاجية الزراعية العالمية و سيعتمد التحكم فيها في المستقبل إلى حد كبير على تطوير المستمر للأنواع المقاومة و الممارسات الزراعية الحكيمة. أقل على زرع استراتيجيات متكاملة للسيطرة على مسببات الأمراض . حتى الآن , ثم استخدام المبيدات الفطرية الجهازية التقليدية بسهولة من قبل العمال السابقين في العديد من المحاصيل لإبادة النيماطودا ذات العقد الجذرية و مع ذلك فان الأثار الضارة على البيئة و صحة الإنسان تحد من إستخدام هذه المبيدات لذلك في هذا العمل تم إختبار تأثير سلالتين من PGPR على الديدان الخيطية و التي لم تظهر أي أثار على هذه الأخيرة.

أظهرت النتائج ان خاصية المبيد الحيوي المستخلص من ثمار *Sapindus sp* على النيماطودا من جنس *Meloidogyne incognita* قد نجحت في قتل الديدان الخيطية , و أظهرت النتائج أن نبات *Sapindus sp* تلعب دورا فعالا للغاية في وفيات النيماطودا و يمكن أن تكون البديل الأفضل من المبيدات الكيميائية.

**الكلمات المفتاحية :** النيماطودا , *Meloidogyne incognita* , *Sapindus sp* , المستخلص الطبيعي , الوفيات.