



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

Intitulé :

Caractérisation de quelques modes d'action des PGPR chez des souches isolées des deux régions de la wilaya de Constantine

Présenté et soutenu par : *LETRECH ASMA*
KERMICHE AYA

Le : 08/07/2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr. *MAOUGAL R. T* (M.C.B - INATAA UFM Constantine).

Encadrant : Dr. *KECHID M* (M.C.B – INATAA UFM Constantine).

Examineur : *Mr. TEMAGOULT M.* (M.A.A – SNV UFM Constantine).

Année universitaire
2020 – 2021

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu Le Tout Puissant qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons aussi à remercier chaleureusement **Mme.KECHID M.** pour avoir dirigé ce travail, nous la remercions pour sa patience, pour son aide, ses conseils précieux et sa disponibilité entière tout au long de la période de la réalisation de notre mémoire.

Nos remerciements vont aussi **Dr Maougal R. T** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Nous voudrions également exprimer nos plus vifs remerciements à **Mr Temagoult M.** qui a accepté de lire et juger notre travail.

Je tiens à remercier toute l'équipe des laboratoires de « Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales », en particulier, **Mr. Nadir BELBEKRI** pour son assistance et ses conseils, ainsi que **Mme Bouldjedj Ryma, Mme Zahraoui Chafika** qui ont été très patientes et bienveillantes avec nous.

J'adresse mes remerciements à tous nos enseignants. Nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience, tout au long de notre cursus universitaire.

Un grand merci à mes collègues de promotion ainsi qu'à toute personne qui a aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout je tien à remercier Dieu, le tout puissant de m'avoir suffisamment de courage et surtout de patience pour réaliser ce modeste travail.

A la mémoire de mon père **Abd elhafid** que dieu fasse miséricorde, aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours en pour vous.

A ma chère maman **Aicha** gentillesse, noblesse : tu représente pour moi le symbole de la bonté excellence, la source de tendresse, exemple de dévouement, qui n'a cassé de m'encourager, de prier pour moi.

Je n'oublierai pas mes belles sœurs : **Khadidja, Cheyma** pour leur aide et leur soutien.

A mes frères : **Hamza, Mohamed El Hadi, Saïd** chez lesquels j'avais trouvé aide, conseils et réconfort.

Je dédie mon futur marie **Billel**, qui à toujours été à mes coté, surtout dans les moments les plus difficiles.

Et n'oublierai pas mes cher petit gars **Taqi Eddine**

A tous les nombres de ma famille, grands et petits veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection,

A mes cher amie:

Roumaïssa, Wafia, Aya, Fatima, Nada.

Et ma binôme et sa famille.

A mon encadreur Mme **Kechid Maya**

A tous les membres de ma promotion.

Letrech Asma

Dédicace

A la mémoire de mon Grand Père **Elgarmi**

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu Pour vous.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON TRÈS CHER PÈRE : Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma deuxième mère **Assia** ; mes chère tantes et ma grand-mère
Mahbouba

A ma chère sœur **Bouchra** et mes deux adorables frères **Ismail** et **Ishak**
A toute la famille **Kermiche** ; **Benhafed** et **Lakhdara**

A mes amies de toujours :

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble **Ghozlen, Rahil, Leila, Ibtissem, Chaima, Rania, Djihed, Achwak**

Son oublier mes chéries : **Fatima, Asma, Nada** et **Marwa**

A mon encadreur Mme **Kechid Maya**

A tous les membres de ma promotion.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

Kermiche Aya

Liste des figures

Les figures

Figure	Page
FIGURE 1 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère	3
FIGURE 2 : Différents actions des PGPR sur les plantes	5
FIGURE 3 : Présentation générale des deux modes directs et indirects des PGPR	6
FIGURE 4 : Mécanismes d'action des bactéries solubilisant les phosphates	10
FIGURE 5 : Rôle de l'acide indole acétique dans l'amélioration de la croissance végétale	11
FIGURE 6 : Fonctions biologiques des sidérophores	15
FIGURE 7 : Sites d'isolement des souches du Rhizoplan et de la Rhizosphère	23
FIGURE 8 : Repiquages des souches bactériennes.	25
FIGURE 9 : Ensemencement des bactéries dans les boites pétri.	26
FIGURE10 : Centrifugeuse	28
FIGURE 11 : Résultats de la coloration de Gram. Bactéries Gram plus (à droite) et Gram négatif (à gauche).	29
FIGURE 12 : Absorption du rouge de Congo par les bactéries.	32
FIGURE 13 : Fluorescence de la souche (AS5) sur King A.	32
FIGURE 14 : Résultat négatif sur milieu King B.	33
FIGURE 15 : Résultat positif de la production d'ammoniaque.	34
FIGURE 16 : Test qualitatif de croissance des bactéries sur un milieu contenant le phytate comme seule source de phosphore.	35
FIGURE 17 : Taux de production d'auxines chez les différentes souches. A : Souches de Ain Abid, B : Souches d'El Khroub, AB : <i>Azospirillumbrasilens</i> .	36

Liste des tableaux

Les tableaux :

Tableau	Page
TABLEAU 1 : différentes souches bactériennes des deux régions	23
TABLEAU 2 : Caractérisation morphologique des 30 souches.	30
TABLEAU 3 : Correspondance entre la concentration bactérienne et l'absorbance 1.	31

Liste des abréviations

AG: Gibbérelline

AIA: Acide iodique acétique

AR : Souche d'ainabid racine

AS Souche d'ainabud sol

CK: Cytokinine

GN :Gélose nutritive

GPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

ISR: Résistance systémique induite

KR : Souche d'el khroub racine

KS : Souche d'elkhroub sol

LB: Milieu luria-Bertani

RC: Rouge congo

UFC: unité formant colonies

YMA: Yeast-Manitol Agar

Résumé

Résumé

le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant où se trouve des bactéries qui colonisent les racines de façon intense appelés les rhizobactérie. Certaines bactéries sont reconnues pour posséder certaines caractéristiques bénéfiques pour les plantes soit au niveau du contrôle des pathogènes soit au niveau de l'augmentation et l'amélioration de la croissance. Plusieurs genres bactériens sont reconnus pour être capables d'aider la croissance des plantes et sont regroupés sous le nom de PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Il est possible d'utiliser les PGPR comme des biofertilisants ou des biopesticides pour les plantes pour remplacer l'utilisation des produits chimiques et sauver l'environnement et la santé du consommateur.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à caractériser 30 souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère et le rhizoplan de blé dur (*Triticum durum*), à partir des deux régions de Constantine (El Khroub et Ain Abid), dans le but de caractériser leur propriétés morphologiques et phénotypiques, ainsi que leurs caractéristiques de PGPR. Nous avons réalisé plusieurs tests et nous avons déterminé les souches capables de produire l'auxine, de solubiliser la phytate et de produire l'ammoniaque. Les résultats obtenus vont nous servir pour sélectionner et classer les bactéries les plus performantes pour stimuler la croissance de la plante.

Mots clé : PGPR, Modes d'action, Rhizosphère, Rhizoplan.

Abstract

Abstract

The rhizoplan and the rhizosphere are the seat of intense exchanges between the plant and the surrounding environment where bacteria are found which colonize the roots in an intense way called rhizobacteria. Some bacteria are known to have certain characteristics that are beneficial to plants, either in controlling pathogens or in increasing and improving growth. Several bacterial genera are recognized to be able to help the growth of plants and are grouped under the name of PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). It is possible to use PGPRs as biofertilizers or biopesticides for plants to replace the use of chemicals and save the environment and the health of the consumer.

In our work, we were interested in characterizing 30 bacterial strains isolated from the rhizosphere and the rhizoplan of durum wheat (*Triticum durum*), from the two regions of Constantine (El Khroub and Ain Abid), in order to characterize their morphological and phenotypic properties, as well as their PGPR characteristics. We carried out several tests and we determined the strains capable of producing auxin, solubilizing phytate and producing ammonia. The results obtained will be used to select and classify the best performing bacteria to stimulate plant growth.

Key words:PGPR, Modes of Action, Rhizosphere, Rhizoplan.

ملخص

الجدور والمحيط الجذري هي مقر التبادلات المكثفة بين النبات والبيئة المحيطة حيث توجد البكتيريا التي تستعمر الجذور بطريقة مكثفة تسمى البكتيريا الجذرية. من المعروف أن بعض البكتيريا لها خصائص معينة مفيدة للنباتات، إما في السيطرة على مسببات الأمراض أو في زيادة النمو وتحسينه. يتم التعرف على العديد من الأجناس البكتيرية لتكون قادرة على المساعدة في نمو النباتات ويتم تجميعها تحت اسم (PGPR البكتيريا الجذرية التي تعزز نمو النبات). من الممكن استخدام PGPRs كأسمدة حيوية أو مبيدات آفات حيوية للنباتات لتحل محل استخدام المواد الكيميائية والحفاظ على البيئة وصحة المستهلك.

في عملنا، كنا مهتمين بتوصيف 30 سلالة بكتيرية معزولة من منطقة الجذور وجذور القمح القاسي (Triticum durum)، من منطقتي قسنطينة (الخروب وعين عبيد)، من أجل توصيف خصائصها المورفولوجية والمظهرية. فضلا عن خصائص PGPR الخاصة بهم. أجرينا العديد من الاختبارات وحددنا السلالات القادرة على إنتاج auxine، وإذابة phytate وإنتاج ammoniac. سيتم استخدام النتائج التي تم الحصول عليها لاختيار وتصنيف البكتيريا الأفضل أداءً لتحفيز نمو النبات.

الكلمات المفتاحية : PGPR , mode d'action, rhizosphere, rhizoplan

Table de matière

<i>Table de matière</i>	<i>page</i>
Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Sommaire	
Introduction générale	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1. Rhizosphère	3
2. Rhizobactérie	4
3. Bactéries promotrice de la croissance des plantes (PGPR)	4
3.1. Présentation des bactéries promotrices de la croissance des plantes(PGPRs)	4
3.2. Historique des PGPR	5
3.3. Modes d'action des PGPR	6
3.3.1. Mode direct	7
3.3.1.1. Fixation biologique de l'azote	7
3.3.1.2. Solubilisation du phosphate	8
3.3.1.3. Production d'hormone de croissance (phytohormones)	10
a. Acide iodique acétique (AIA)	11
b. Cytokinine	12
c. Gibbérelline	12
d. Régulation d'éthylène etproduction d'ACC désaminase	13
3.3.1.4. Formation de sidérophores	14

3.3.2. Modes indirects	16
3.3.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments	16
3.3.2.2. Antibiose	16
3.3.2.3. Résistance systématique induite (ISR)	17
3.3.2.4. Production d'enzymes hydrolytiques	17
3.4. Différents genres des PGPR	18
3.4.1. Azopirillum	18
3.4.2. Pseudomonas	18
3.4.3. Bacillus	19
3.4.4. Rhizobium	19
3.4.5. Frankia	20
4. Réponse de la plante à l'inoculation par des PGPR	21
5. Intérêt des PGPR pour l'agriculture	21
Chapitre 2 : Matériel et méthode	
1. Matériel biologique	23
2. Caractérisation morphologique	24
2.1. Test de mobilité	24
3. Estimation de la concentration bactérienne	24
3.1. Préparation d'une préculture	24
3.2. Dilution des souches bactériennes	25
4. Caractérisation des modes d'action des PGPR	26
4.1. Production d'ammoniac	26
4.2. Solubilisation de phytate	26
4.3. Mise en évidence de la production de la pyoverdine et la pyocyanine	27
4.4. Caractérisation des souches sur milieu YMA	27

4.5. Caractérisation des souches sur milieu Burk's N Free	27
4.6. production d'auxine	28
Chapitre 3 : Résultat et discussion	
1. Caractérisation morphologique	29
2. Estimation de la concentration bactérienne	30
3. Caractérisation des modes d'action des PGPR	31
3.1. Caractérisation des bactéries sur milieu YMA	31
3.2. Mise en évidence de la production de pyoverdine et de pyocyanine	32
3.3. Caractérisation des bactéries sur milieu Burk's N Free	33
3.4. Production d'ammoniaque	33
3.5. Solubilisation de phytate	34
3.6. Production d'auxine	35
Conclusion	37
Référence bibliographique	39
Annexes	48

Introduction

Introduction

Depuis plus d'un siècle, la compréhension des interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs. La rhizosphère est définie comme étant la zone de sol entourant la racine qui est directement ou indirectement influencée par cette dernière et qui présente une forte activité microbienne. Des recherches considérables ont montré que plusieurs microorganismes de diverses origines phylogénétiques sont capables de coloniser activement le système racinaire de la plante en présence d'une micro flore compétitive, et d'inhiber différents agents pathogènes et maladies.

En effet, le rhizoplan et le rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnement (**Curl, 1982**).

En Algérie, le blé est l'une des récoltes les plus importantes, plusieurs hectares sont employés pour sa plantation. Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est la première céréale cultivée en Algérie, elle occupe environ 2 millions d'hectares (**Susana et al., 2008**).

La production nationale ne répond pas au besoin de la population étant donné le faible rendement ce qui classe l'Algérie comme l'un des plus importants pays importateurs des céréales. Ceci est dû essentiellement à la dégradation du sol qui représente une menace pour la survie à long terme de la production agricole. En plus, la culture du blé nécessite des apports importants en engrais azotés, ce qui favorise la contamination des nappes souterraines.

Actuellement, plusieurs recherches ont utilisé d'autres méthodes pour améliorer la production de blé et diminuer le risque de contamination de l'environnement,

Alors ces chercheurs ont identifié des bactéries du sol possédant des propriétés bénéfiques pour les plantes tant pour leur croissance que pour leur santé. Ils ont regroupé ces bactéries sous le nom de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Les PGPR sont retrouvés dans la rhizosphère, à la surface des racines ou encore en association avec les racines.

Ces bactéries sont utilisées pour améliorer la croissance et la santé des plantes. Les objectifs majeurs de l'inoculation bactérienne incluent ; l'augmentation de la fixation symbiotique de l'azote, dégradation des composés inaccessibles pour la plante, promotion de la croissance des plantes et la lutte biologique contre les microorganismes pathogènes (**Barriuso et al., 2008**). Les effets bénéfiques de rhizobactéries sont liés à leur position stratégique à l'interface sol-racine.

Introduction

Cette étude a pour but de caractériser parmi des souches isolées de la rhizosphère et le rhizoplan du blé dur, quelques modes d'actions des PGPR et de déterminer parmi les bactéries celles qui ont le potentiel d'agir en tant que bactéries bénéfiques. Ce document est constitué de trois chapitres :

Une synthèse bibliographique qui présente des définitions de rhizosphère, rhizobactérie plus des généralités sur les PGPR et leur mode action, ainsi que les différents genres des PGPR.

Le deuxième chapitre représente la partie matériel et méthodes qui a été réalisé au niveau du laboratoire GBBV (Génétique ; Biochimie et Biotechnologie Végétale) de l'Université Frères Mentouri Constantine 1. Ce chapitre présente les caractérisations microbiologiques de 30 souches bactériennes isolées de deux régions de Constantine et leur potentiel à être des biofertilisants.

Puis le dernier chapitre qui représente la partie résultats et discussions ; cette partie englobe les différents résultats obtenus sur la caractérisation morphologique (la forme, la mobilité et le Gram des souches), les résultats de la caractérisation de certains test sur l'action des PGPR tel que : la fixation d'azote, leur capacité à produire l'ammoniaque, à solubiliser le phosphore et à produire l'auxine.

En fin une conclusion générale qui englobe tous les résultats obtenus et leurs perspectives.

Chapitre 1
Synthèse Bibliographique

1. Rhizosphère

Le terme « rhizosphère » dérive d'un mot grec « Rhizo »=racine et « Sphère »= champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). La rhizosphère est la zone de sol qui entoure les racines et qui est sous l'influence des exsudats racinaires. La richesse de cette zone la rend favorable à la colonisation par des microorganismes dont leur activité, modifie sa composition et son activité chimique (**Hiltner, 1904**). Les microorganismes qui se trouvent dans cette zone, nous appelons les « Rhizobactéries ».

La rhizosphère a été subdivisée en trois zones; l'endorhizosphère (la partie de l'endoderme, le cortex radriculaire et l'espace apoplastique entre les cellules); rhizoplan (la surface de la racine); et ectorhizosphère (la zone s'étendant du rhizoplan au sol en vrac) (Figure 1) (**Mcneear, 2013**).

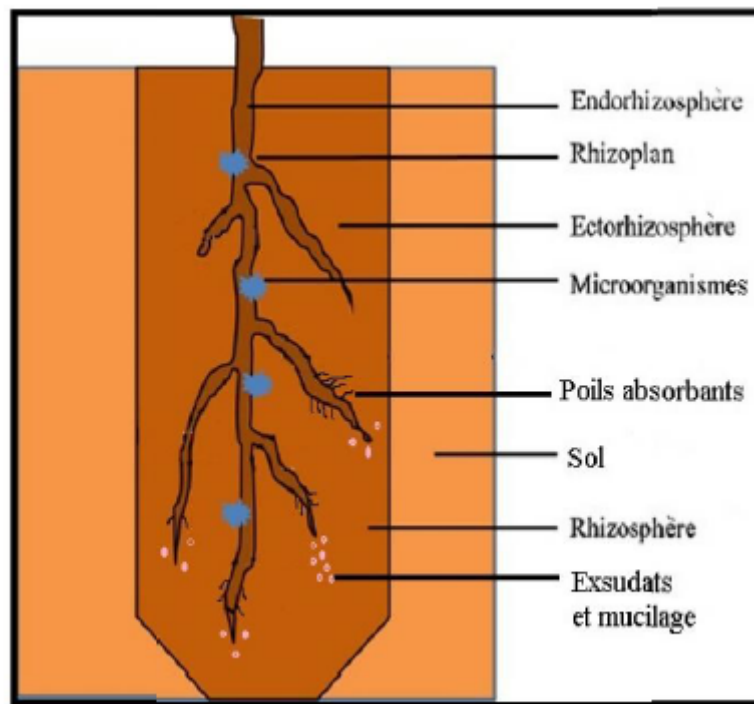


Figure 01 : Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (**Seshadri et al., 2015**).

2. Rhizobactérie

Ces bactéries se retrouvent dans la rhizosphère. Elles semblent promouvoir la croissance des cultures par plusieurs mécanismes qui sont comme suit : suppression des maladies des plantes (par des bio-protecteurs), l'amélioration de l'acquisition des éléments nutritifs (biofertilisants), ou la production de phytohormones (appelées biostimulants) (**Agritech, 2014**).

Des espèces comme *Pseudomonas* et *Bacillus* élaborent des substances qui ne sont pas encore bien définies soit comme des phytohormones soit comme des régulateurs de croissance permettant aux cultures d'avoir plus de racines fines augmentant ainsi la surface d'absorption chez les plantes. Ces Rhizobactéries sont désignés comme des bio-stimulants et les phytohormones qu'ils produisent comprennent : indole-acétique, les cytokinines, les gibbérellines et les inhibiteurs de la production d'éthylène (**Agritech, 2014**).

3. Bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

3.1. Présentation des bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPRs)

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou RFCP (en anglais : PGPR, acronyme de *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) sont des bactéries de la rhizosphère bénéfiques à la croissance et à la santé des plantes. On distingue deux grands groupes de RFCP : Les phytostimulatrices et les phytoprotectrices.

Les bactéries colonisatrices de racines (rhizobactéries) qui exercent des effets bénéfiques sur le développement des plantes via des mécanismes directs ou indirects ont été définies comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. (**Garcia et al., 2003**).

Selon **Beneduzi et al. (2012)**, les PGPR exercent des effets positifs sur la croissance des plantes par le biais de mécanismes directs et indirects. Les principaux mécanismes directs d'action des PGPR comprennent la fixation de l'azote, la mobilisation des minéraux (P, Zn et Fe) et la production de phytohormones. Cependant, la lutte biologique contre les agents pathogènes par la production d'ACC-désaminase, de sidérophores, d'antibiotiques, d'enzymes lytiques, de résistance systémique induite (ISR) et d'induction de résistance contre les stress abiotiques est décrite comme des mécanismes d'action indirects des PGPR. La figure 02 résume les effets directs et indirects favorisant la croissance exercés par les PGPR sur les plantes.

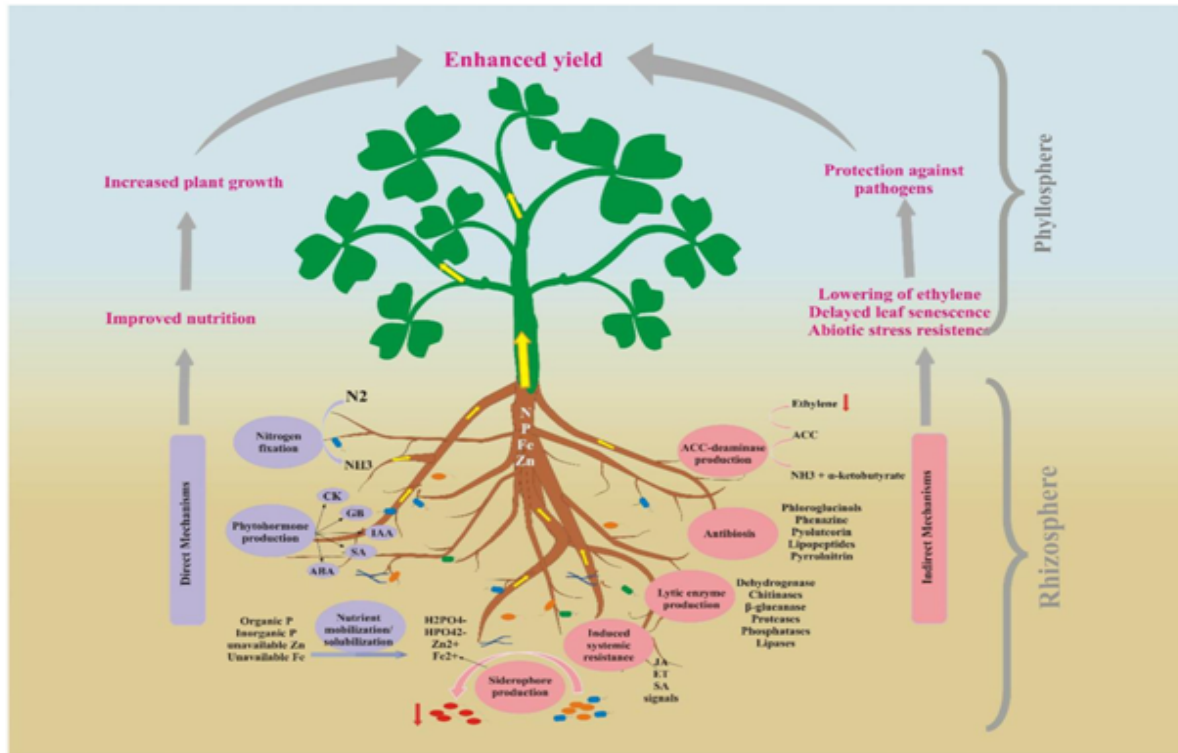


Figure 02 : Différents actions des PGPR sur les plantes (Hakim et al., 2021).

3.2. Historique des PGPR

Le terme PGPR a été introduit pour la première fois à la fin des années 1970, lorsqu'il a été démontré, par Kloepper et Schroth, que des souches de *Pseudomonas fluorescens* ont amélioré le rendement des cultures de pommes de terre jusqu'à 500% par la production de sidérophores ; chélateurs de fer, privant les bactéries pathogènes indigènes de fer (Garcia et al., 2003). Seulement 1 à 2% des bactéries favorisent la croissance des plantes dans la rhizosphère (Beneduzi et al., 2012).

Ces bactéries naturellement présentes dans la rhizosphère des plantes sont capables d'adhérer aux racines de façon spontanée, par la formation de biofilms ou par la mise en place d'organites symbiotiques. Leur action peut être directe ou indirecte selon que le bénéfice s'opère en présence ou en l'absence de pathogène. Les PGPR appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Serratia* (Ahmad et al., 2008), *Acetobacter*, *Flavobacterium* et *Erwinia* (Rodriguez et Fraga, 1999).

3.3. Modes d'action des PGPR

Les modes d'action des PGPR sont regroupés en deux modes : directs et indirects. Bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes directs sont ceux agissant à l'intérieur des plantes et affectent directement leur nutrition, leur métabolisme et leur développement, tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes et touchent surtout tout ce qui est en relation avec le bio contrôle. Les mécanismes directs comprennent les processus de bio fertilisation (nutrition de la plante) et de bio stimulation (production des phytohormones de croissance). Les processus de bio contrôle (production des métabolites antifongiques, production de composés volatiles,...) ; constituent des mécanismes indirects, car elle assure un milieu sain pour la croissance de la plante, ce qui assure une bonne croissance de celle-ci (Figure 3).

Ces différents modes d'actions contribuent tous potentiellement à un meilleur développement de la plante et pourront conduire à un meilleur rendement.

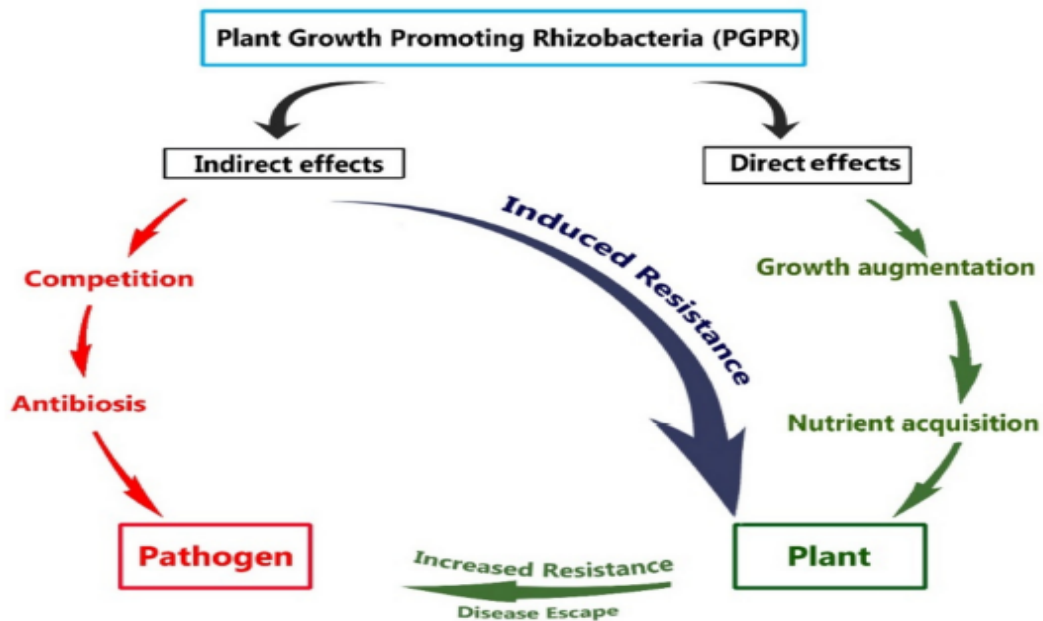


Figure 03: Présentation générale des deux modes directs et indirects des PGPR (Basu et al., 2021).

3.3.1. Modes directs

Les PGPR participent à augmenter la disponibilité des nutriments et des phytohormones dans la rhizosphère, ceci stimule directement le développement et la croissance de la plante, les mécanismes les plus importants sont cités ci-dessous.

3.3.1.1. Fixation biologique de l'azote

L'azote (N) constitue environ 2% de la matière sèche totale d'une plante est essentiellement nécessaire à la croissance des plantes. Les plantes ont besoin de N pour la synthèse d'acide nucléique, de protéines et d'enzymes (Bano et Iqbal, 2016). Sa carence entraîne une croissance réduite, un jaunissement de feuilles et ramification réduite des légumineuses. Cependant, le diazote (N_2) qui représente environ 80% de l'atmosphère n'est pas accessible aux plantes. Les plantes ne peuvent absorber que l'azote disponible dans le sol sous forme d'ammonium et de nitrate à travers leurs racines. La forme d'ammonium est directement assimilée en acides aminés et stimule la ramification des racines pour augmenter la surface d'absorption des nutriments ainsi que des résultats en acide aminé plus élevé. Alors que le nitrate peut être conservé chez les plantes afin d'être utilisé lorsque celle-ci en a besoin, il doit être converti en ammonium avant de pouvoir être utilisé (Beeckman et al., 2018). Le nitrate améliore l'absorption de plus de nutriments par allongement des racines et a un effet plus direct sur différentes signalisations (O'Brien et al., 2016).

Le PGPR peut augmenter directement l'absorption de nitrate en stimulant les systèmes de transport de NO_3^- . Il a été rapporté que deux putatifs des gènes de transporteur de nitrate, c'est-à-dire *NRT2.5* et *NRT2.6* sont apparus être fortement réglementés à la hausse en réponse à l'inoculation par *Phyllobacterium brassicacearum* chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Kechid et al., 2013). De même, les gènes des transporteurs de nitrate se sont avérés être régulés à la hausse dans les racines de riz lors des interactions avec *Azospirillum brasilense* (Thomas et al., 2019 ; Calvo et al., 2019). Il a été aussi rapporté que l'inoculation d'*A. thaliana* par *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus* ont régulés à la hausse les quatre gènes d'absorption des nitrates avec une augmentation significative de la biomasse de la plante (Calvo et al., 2019).

L'utilisation de bio-engrais tels que les bactéries fixatrices d'azote peut accroître la productivité et constitue une alternative viable qui contribue à réduire la pollution due aux applications d'engrais chimiques, à préserver l'environnement et à baisser le coût de la

Synthèse bibliographique

production. Ainsi, **Figueiredo et al. (2008)** ont rapporté que, au cours des deux dernières décennies, l'utilisation de PGPR pour le développement durable de l'agriculture a considérablement augmenté dans plusieurs régions du monde. Les microorganismes prennent de l'importance dans l'agriculture en favorisant la circulation des éléments nutritifs (**Sahin et al., 2004; Orhan et al., 2006**). L'un des avantages des bactéries diazotrophes est de fournir aux plantes l'azote en échange du carbone libéré par les exsudats racinaires. Toutefois, la disponibilité du carbone comme source d'énergie est requise pour la fixation intensive de l'azote. Ceci impose à ces diazotrophes de vivre près des plantes soit dans la rhizosphère, le rhizoplan ou comme endophytes.

Les microorganismes à associations symbiotiques produisent 80% de l'azote et le reste provient des systèmes libres ou associés (**Graham, 1988**). La fixation de l'azote non symbiotique a une grande importance agronomique (**Saxena et Tilak, 1998**). Les bactéries fixatrices d'azote associées à la rhizosphère sont de plus en plus utilisées dans les cultures des non légumineuses comme la betterave sucrière, la canne à sucre, le riz, le maïs, et le blé (**Dobereiner, 1997; Hecht-Buchholz, 1998; Sahin et al., 2004**). Parmi les bactéries fixatrices d'azote non-symbiotiques les plus importantes, elles appartiennent à plusieurs espèces : *Azoarcus* sp., *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Dexia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Xanthobacter*, *Azospirillum*, ce dernier est le représentant des PGPR, ses capacités ont été évaluées dans des expériences à travers le monde (**Burdman et al., 2000; Dobbelaere et al., 2003; Vessey 2003; Lucy et al., 2004; Ramirez et Mellado, 2005**). De même, d'autres bactéries endophytiques telles que *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Burkholderia* et *Stenotrophomonas*, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs ces dernières années en raison de leur association avec des cultures importantes et leur potentiel à améliorer la croissance des plantes (**Chélius et Triplett, 2000; Verma et al., 2001; Dong et al., 2003; Ramirez et Mellado, 2005**).

3.3.1.2. Solubilisation du Phosphate

L'amélioration de la fertilité du sol est l'une des stratégies les plus communes pour augmenter la production agricole. En plus de la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates représente également un moyen important. Le phosphore (P) est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un

Synthèse bibliographique

important élément nutritif limitant cette croissance. Contrairement à l'azote, il n'existe pas de source biologique disponible (**Ezawa et al., 2002**). Même dans les sols riches, la plupart du phosphore n'est pas disponible pour les plantes, une grande quantité se trouve sous forme insoluble. Les bactéries solubilisant le phosphate, PSB (*Phosphate Solubilizing Bacteria*) sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (**Vessey, 2003**). Les microorganismes permettent la disponibilité du P pour les plantes par minéralisation du P organique du sol et par solubilisation des phosphates précipités (**Kucey et al., 1989; Pradhan et Sukla, 2005**). La capacité de quelques micro-organismes à convertir le phosphore insoluble en forme accessible est un trait important pour les PGPR. Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient être une source prometteuse comme agent bio fertilisant dans l'agriculture (**Sharma et al., 2007**).

Le principal mécanisme de solubilisation des phosphates est la production d'acides organiques. Les acides gluconiques et 2-cétogluconique sont les plus fréquemment rencontrés. La libération de ces acides mobilisant le phosphore par l'intermédiaire d'interactions ioniques avec les cations du sel, de phosphate conduisent à l'acidification des cellules microbiennes et de leur environnement et par conséquent la libération du phosphate sous forme ionique. La libération des groupements phosphates liés à la matière organique est assurée par l'action des phosphatases (Figure 4) (**Kumar et Narula 1999; Whitelaw, 2000; Gyaneshwar et al., 2002**).

Parmi les communautés bactériennes du sol capables de solubiliser le phosphore, on trouve les espèces de *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia* et *Pseudomonas* spp. (**Subbarao, 1988 ; Kucey et al., 1989**). *Bacillus megaterium*, *B. polymyxa*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. subtilis* et *B. sircalmous* sont les plus performantes dans la solubilisation des phosphates (**Podile et Kishore, 2006**).

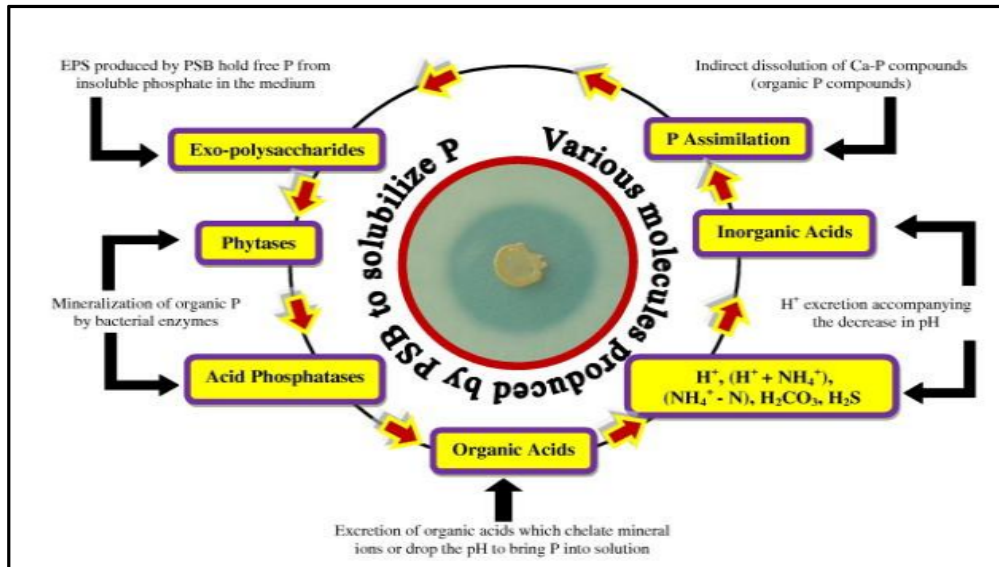


Figure 04: Mécanismes d'action des bactéries solubilisant les phosphates (Khan et al., 2009).

3.3.1.3. Production d'hormones de croissance (phytohormones)

Les phytohormones influencent les fonctions physiologiques des plantes à de très faibles concentrations comme messagers chimiques. Les phytohormones sont des déterminants clés du comportement des plantes et jouent un rôle de premier plan dans divers aspects physiologiques. Traditionnellement, les hormones végétales ont été divisées en cinq classes différentes: l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines, les acides abscissiques et l'éthylène (Olenska et al., 2020). En outre, plusieurs phytohormones comme les jasmonates, les brassinostéroïdes et les acides salicyliques jouent également un rôle important dans la croissance et le développement des plantes en particulier dans des conditions de stress biotique et abiotique (Wong et al., 2015; Kang et al., 2016). Une large gamme de bactéries rhizosphériques présentes peuvent produire des phytohormones pour faciliter la croissance et le développement des plantes. Les phytohormones produites par les rhizobactéries sont impliquées dans l'amélioration de la croissance des plantes (Maheshwari et al., 2015). Les régulateurs de croissance des végétaux sont les substances qui influencent les processus physiologiques de la plante à de très faibles concentrations et modifient ou contrôlent un ou plusieurs événements spécifiques du métabolisme d'une plante. Les hormones végétales sont des signaux chimiques affectant la capacité de la plante à réagir à son environnement. Sans compter qu'elles jouent un rôle important dans la réponse de la plante aux stress biotiques et abiotiques.

Synthèse bibliographique

a. Acide indole acétique (AIA)

L'AIA est le plus important du groupe des auxines (Ashrafuzzaman et al., 2009) et quantitativement le plus produit par les PGPR. Il fonctionne comme une molécule signal importante dans la régulation du développement des plantes, agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes (Figure 5) (Ryu et Patten, 2008). Le rôle de l'AIA dans la stimulation de la croissance est obtenu en limitant l'effet de la bactérie par l'application directe de l'AIA sur les racines. Il favorise la survie des bactéries dans la rhizosphère. Les poids des tiges et des racines des plantes de blé sont influencés positivement par l'ajout de l'AIA (Narula et al., 2006). Diverses espèces bactériennes possèdent la capacité de produire de l'AIA. Une grande proportion (80%) de bactéries colonisant la rhizosphère le synthétise, les bactéries à Gram positif sont faiblement productrices (Loper et Schroth, 1986). Toutefois, l'amélioration de la croissance des plantes par la colonisation racinaire avec des espèces de *Bacillus* et *Paenibacillus* productrices d'AIA est bien connue (Kloepper et al., 2004 ; Idris et al., 2007).

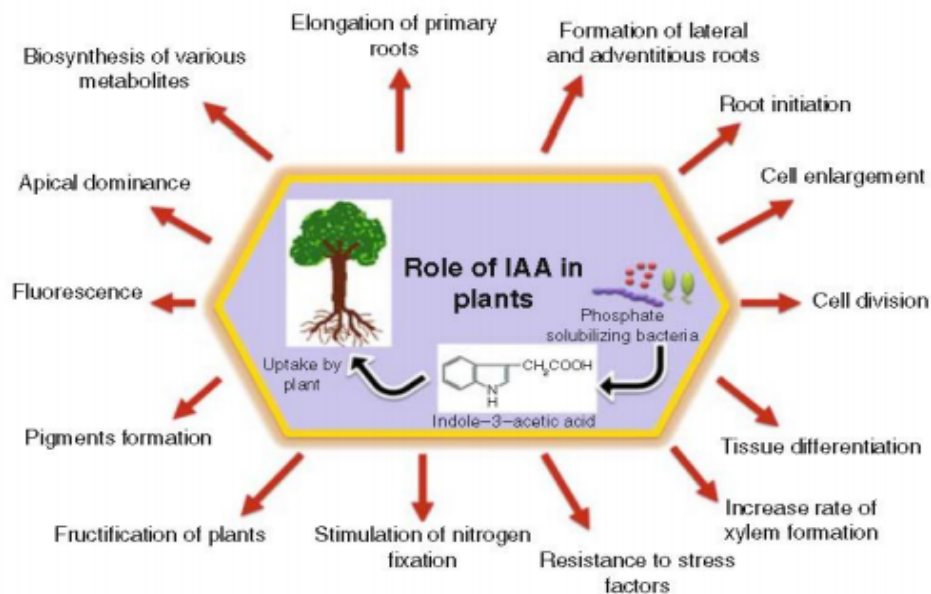


Figure 05: Rôle de l'acide indole acétique dans l'amélioration de la croissance végétale (Khan et al., 2009).

Synthèse bibliographique

b. Cytokinine

Les cytokinines (CK) sont des molécules de signalisation importante impliquée dans la régulation de la croissance et du développement des plantes.

Cette hormone végétale joue un rôle crucial dans divers processus de développement, y compris la dominance apicale, la germination des graines, la formation de nodules, le développement des fleurs et des fruits, l'allongement des racines et le développement vasculaire (Osugi et Sakakibara, 2015). Les genres bactériens tels que *Bacillus*, *Escherichia*, *Agrobacterium*, *Methylobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas* et *Klebsiella* peuvent produire des cytokinines (Maheshwari et al., 2015). La voie de la biosynthèse de la cytokinine implique la formation de N6-isopentényleadénosine monophosphate d'adénosine monophosphate (AMP) et le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP). Alors que chez les bactéries, la synthèse implique le transfert de la isopentényle de l'hydroxyl diméthyl butényl diphosphate (HMBDP) à l'AMP (Wong et al., 2015). Les bactéries synthétisent et libèrent de la cytokinine dans la rhizosphère, en augmentant par la suite le contenu de cytokinine dans la solution du sol et la croissance des plantes qui conduit à la stimulation de la croissance des plantes. En plus, ces PGPR peuvent atténuer l'effet des stress par la production des cytokinines comme pour le cas de *Bacillus subtilis* qui a diminué le stress hydrique chez les plantes de *Platycladus orientalis* (Liu et al., 2013). La cytokinine serait également impliquée dans les systèmes de la défense de la plante contre les agents pathogènes, par exemple, les cytokinines produites par *P. fluorescens* contrôlaient efficacement l'infection de *P. syringae* chez *Arabidopsis* (Großkinsky et al., 2016).

c. Gibbérelline

Les gibbérellines (AG) sont des hormones végétales impliquées dans presque toutes les étapes de la croissance et du développement des plantes, y compris l'embryogenèse, l'élongation de la tige, la floraison, l'expansion des feuilles et la maturation des fruits (Binenbaum et al., 2018). Comme les auxines et la cytokinine, les bactéries possèdent également la capacité de synthétiser les GA. Parmi les bactéries, la caractérisation des gibbérellines (GA1, GA4, GA9, et GA20) a été signalé pour la première fois chez *Rhizobium meliloti* (Atzorn et al., 1988). Depuis, plusieurs genres bactériens comme *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Bacillus* et *Pseudomonas* ont été caractérisés pour la production d'AG (Maheshwari et al., 2015).

Synthèse bibliographique

La fonction des AG chez les bactéries n'est toujours pas connue mais ils pourraient agir comme des molécules de signalisation vers les plantes. Cependant, la stimulation de la croissance et du rendement des plantes est mise en évidence grâce à divers études. Par exemple, l'inoculation de *Solanum lycopersicum* avec la souche *Promicromono spora* a régulé à la hausse la voie de biosynthèse de l'AG tout en régulant à la baisse la synthèse d'acide abscisique chez la plante (**Kang et al., 2012**). La rhizobactérie *Leifsonia soli* a montré la capacité de production de GA et a stimulé la croissance des plants de concombre, de radis et de tomate (**Kang et al., 2014a**). Une autre souche de *Leifsonia xyli* productrice de GA a maintenu la croissance de *Solanum lycopersicum* sous contrainte de cuivre (Cu) (**Kang et al., 2017**). Le rôle des AG dans la diminution du stress thermique a également été signalé (**Kang et al., 2015**). De même, *Bacillus tequilensis* a amélioré la biomasse végétale du soja en produisant du GA1, GA3, GA5, GA8, GA19, GA24 et GA53 sous le stress de haute température (**Kang et al., 2019b**).

d. Régulation d'éthylène et production d'ACC désaminase

Au cours de ces dernières années, un nouveau mécanisme de promotion de la croissance des plantes impliquant l'éthylène a été proposé (**Burdman et al., 2000**). Certains PGPR produisent de l'ACC désaminase, une enzyme qui pourrait cliver l'ACC, le précurseur immédiat de l'éthylène dans la voie de biosynthèse de l'éthylène chez les plantes. L'activité de l'ACC désaminase diminuerait la production d'éthylène (qui affecte négativement de nombreuses étapes physiologiques des plantes : Une augmentation de la production d'éthylène agissant comme hormone sensitive stimule la maturation des fruits et le vieillissement des fleurs) (**Oldroyd et al., 2001; Van Loon et al., 2006**).

Les PGPR produisant cette enzyme soulageraient ainsi la plante de plusieurs stress causés par des infections, l'absorption de métaux lourds, la salinité élevée et même la sécheresse (**Glick et al., 1998**).

Le rôle de l'ACC désaminase chez les PGPR est actuellement bien établi. Elle intervient dans la régulation de l'éthylène chez les plantes. Les PGPR s'attachent aux racines et utilisent les exsudats racinaires tels que le tryptophane et le transforment en auxines particulièrement en AIA. Cet AIA rhizobactérien ainsi que l'AIA endogène de la plante peuvent induire l'activité de l'ACC-synthase qui produit de l'ACC (**Penrose et Glick, 2001**). Une partie de l'ACC de la plante est excrétée et dégradée par l'ACC-désaminase des rhizobactéries en ammoniac et

Synthèse bibliographique

en α -cétobutyrate, composés rapidement métabolisés par les bactéries (**Holguin et Glick, 2001**), par conséquent la diminution de l'ACC entraîne l'abaissement du taux d'éthylène dans la plante.

En réponse à une infection pathogène, les plantes accumulent plusieurs hormones, y compris l'éthylène, qui active les stress comme le stress oxydatif et la carence nutriments, entraînant une diminution de croissance, ce qui aboutit finalement à la mort des plantes (**Premachandra et al., 2016**). La capacité des microbes du sol à produire de l'ACC désaminase est la caractéristique clé qui diminue le niveau d'éthylène et ses effets délétères ultérieurs et aide les plantes à surmonter le stress, parmi les genres bactérien produisant l'ACC désaminase, il y a *Bacillus* et *Pseudomonas* (**Ali et al., 2020**). Durant le stress, la concentration d'ACC augmente dans les racines de la plante. Les populations microbiennes produisant l'ACC désaminase-hydrolyse l'ACC exsudé en ammoniac et en α -cétobutyrate, ce qui réduit finalement la production d'éthylène (**Saraf et al., 2010**).

3.3.1.4. Formation de sidérophores

Les Micro-organismes ont la capacité de synthétiser des composés s'appropriant les ions ferriques présents dans la rhizosphère et les rendent ainsi indisponibles pour les champignons pathogènes entraînant ainsi une diminution de sa croissance.

Bien que le fer soit l'un des minéraux les plus abondants sur terre. Dans le sol, il est indisponible pour l'assimilation directe par les microorganismes car l'ion ferrique (Fe^{+3}), forme prédominante dans la nature, est peu soluble (**Neilands et al., 1987**). La quantité de fer soluble dans le sol est beaucoup trop faible soit environ 10^{-18}M à pH 7,4, pour assurer la croissance microbienne, les microorganismes du sol sécrètent des molécules de faible poids moléculaire (~ 400-1000 daltons) appelés sidérophores qui lient le Fe^{+3} avec une très forte affinité ($K_d = 10^{-20}$ à 10^{-50}) (**Castignetti et Smarrelli, 1986**) et le transportent vers la cellule microbienne où il est repris par l'intermédiaire d'un récepteur cellulaire puis utilisé durant la croissance microbienne (**Neilands et Leong, 1986; Briat, 1992**). Contrairement aux phytopathogènes microbiens, les plantes ne sont généralement pas lésées par l'épuisement du fer dans le sol. La plupart des plantes peuvent croître à des concentrations de fer beaucoup plus faibles (environ 1000 fois) (**O'Sullivan et O'Gara, 1991**). En outre, un certain nombre de plantes ont des mécanismes pour lier le complexe fer-sidérophore bactérien, le transportent

Synthèse bibliographique

à travers la plante puis le libèrent sous sa forme réduite utilisable (**Bar-Ness et al., 1992; Wang et al., 1993**).

Ainsi, même si une PGPR est un agent efficace suppresseur du pathogène dans des conditions contrôlées, son comportement sur le terrain est extrêmement difficile à prédire. Malgré cela, cette mise en garde suppose que la capacité des bactéries produisant des sidérophores inhibant les organismes phytopathogènes est un trait important qui pourrait avoir un impact agronomique important.

Parmi les bactéries capables de synthétiser des sidérophores sont : *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Azotobacter* (**Ahmad et al., 2008**). Les bactéries ayant un grand pouvoir de chélation du fer peuvent reconnaître et utiliser les sidérophores produits par d'autres souches, en privant ces dernières de son utilisation. Cette particularité peut favoriser la souche dans le processus de la colonisation et la compétition pour le substrat mieux que d'autres microorganismes dans la rhizosphère (**Ongena et al., 2002**). D'autre part, bien que la production des sidérophores soit un mécanisme important pour l'activité des PGPR, elle est rarement essentielle dans le biocontrôle (**Ongena et al., 2000; Meziane et al., 2005**). Un grand nombre de facteurs environnementaux (pH, température et la source de carbone) influence leur production (**Duffy et Défago, 1999**). De plus, étant donné que les sidérophores soient principalement spécifiques du fer, ils peuvent aussi complexer d'autres métaux lourds pour atténuer leur toxicité ou posséder d'autres fonctions biologiques (Figure 6) (**Khan et al., 2009**).

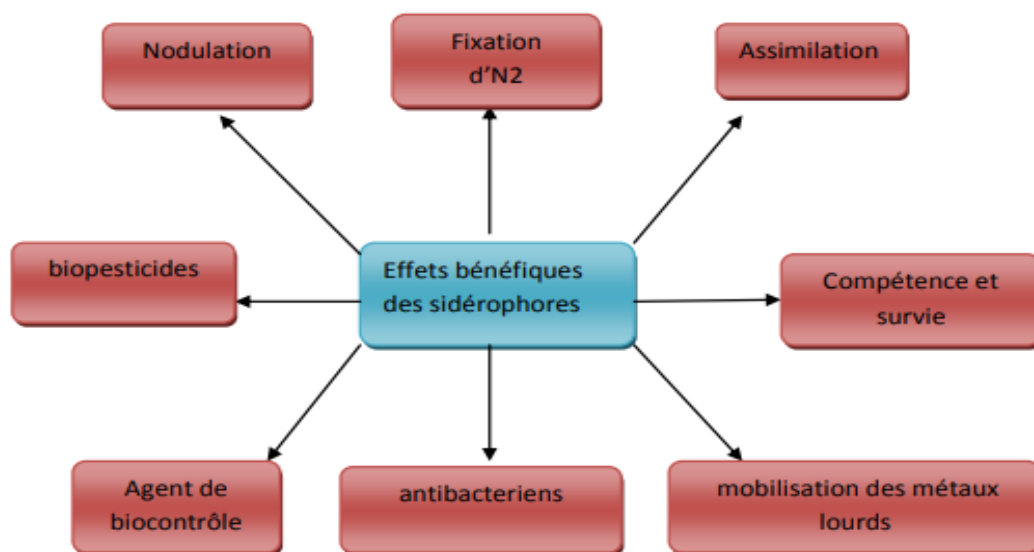


Figure 06: Fonctions biologiques des sidérophores (**Khan et al., 2009**).

3.3.2. Mode indirect

Les effets indirects des PGPR incluent les actions de biocontrol, donc tout ce qui concerne la protection contre les phytopathogènes, afin de subvenir à protéger la plante, les PGPR adoptent plusieurs voies dont : la concurrence pour les nutriments dans la rhizosphère, production des substances antagonistes (comme les antibiotiques), la résistance systémique induite et la production d'enzymes hydrolytiques , (**Basu, A.; Prasad, P et al., 2021**).

En général, les principaux modes de bio-contrôle attribués aux rhizobactéries sont :

3.3.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables par les micro-organismes pathogènes et, par conséquent, amélioration indirect de la croissance des plantes (**Piano et al., 1997**).

Les rhizobactéries peuvent aussi éliminer les pathogènes fongiques par une compétition pour le carbone et les sources d'énergie (**Kamilova et al., 2005**).

La compétition pour l'espace et les nutriments est l'interaction indirecte dans laquelle les pathogènes présents dans la rhizosphère sont en concurrence les uns avec les autres pour la nourriture et pour l'occupation physique du site. L'environnement de la rhizosphère est souvent limité en nutriments, et pour que les microbes réussissent à coloniser et à survivre, ils occupent les sites où l'eau et les nutriments sont assimilables. Ainsi, pour que les microbes puissent survivre dans un tel environnement, ils sécrètent des sidérophores qui ont une forte affinité avec le fer, en le rendant moins disponible aux pathogènes et en inhibant leur croissance dans la rhizosphère (**Tabassum et al., 2017**).

3.3.2.2. Antibiose

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (**Angélique , 2011 ; Belkadi et Koliai, 2016**). C'est le mode d'action le plus étudiés et le plus puissant contre les microbes pathogènes, qui est généralement la production d'antibiotiques par des souches rhizobactériennes. La production d'antibiotiques est un mécanisme extrêmement efficace des rhizobactéries pour inhiber les infections pathogènes dans la rhizosphère des plantes (**Hakim et al., 2021**). Les antibiotiques sont des

Synthèse bibliographique

toxines de bas poids moléculaire produites par les communautés bactériennes qui peuvent tuer et/ou empoisonner d'autres microbes. Cependant, plusieurs antibiotiques et des toxines ont été identifiées à partir de la population bactérienne vivant dans la rhizosphère (**Tabassum et al., 2017**).

3.3.2.3. Résistance systémique induite (ISR)

La résistance systémique induite (ISR) est un état de résistance active qui dépend des barrières chimiques ou physiques de la plante hôte, est une forme de résistance stimulée par les PGPR Il n'est pas facile de distinguer les (ISR) des acquis systémiques résistances (SAR) parce que les deux utilisent des composés similaires pour supprimer les pathogènes, sachant que le SAR est activée chez les pathogènes pour éliminer d'autres pathogènes. (**Tabassum et al., 2017**)

L'ISR s'est avérée être induite par des microorganismes variés et plus particulièrement par des rhizobactéries. Celles-ci incluent des bactéries Gram+ ou des bactéries Gram- qui sont les plus étudiées dans le contexte de l'ISR. Ainsi, l'induction des rhizobactéries produisent un signal qui se propage de façon systémique à l'intérieur de la plante et augmente la défense, et la capacité des tissus d'éloigner l'infection causée par les agents pathogènes, (**Jourdan et al, 2008 ; Benhamou et Rey, 2012**).

3.3.2.4. Production d'enzymes hydrolytiques

La production d'enzymes lytiques utilisés par les agents de lutte biologique contre des pathogènes cibles consiste à produire des enzymes dégradant les parois cellulaires telles que la déshydrogénase, les chitinases, la β -glucanase, les protéases, les phosphatases, les lipases sécrétées par les souches de bio-contrôle de PGPR (**Raafat and Sahl, 2009**). Cette action des enzymes lytiques, protègent les plantes contre plusieurs pathogènes tels que les champignons pathogènes comme *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora* sp. et *Rhizoctonia solani*. (**Hakim et al., 2021**).

De plus, *Bacillus cereus* et *Bacillus cepacia* produisent de l'amylase, de la β -1,3-glucanase, de la cellulase, de la protéase, de la xylanase et de la lipase, qui rompent les parois cellulaires de plusieurs microbes pathogènes du sol (**Hakim et al., 2021**).

3.4. Différents genres des PGPR

3.4.1. *Azospirillum*

Le genre *Azospirillum* appartient à la sous-classe α des Protéobactéries et a été considéré comme un genre important parmi les bactéries favorisant la croissance des plantes. C'est une bactérie mobile, à Gram négatif. La présence d'espèces d'*Azospirillum* est répandue dans l'environnement, y compris les régions tropicales, subtropicales et tempérées; la plupart d'entre eux ont été décrits à partir de racines de plantes et d'échantillons de rhizosphère. Certains membres du genre *Azospirillum* sont reconnus comme biofertilisants en raison de leurs activités favorisant la croissance des plantes, telles que la fixation biologique de l'azote, la production d'hormones, la solubilisation des phosphates et la production de sidérophores. En outre, *Azospirillum* a une activité de contrôle biologique des phytopathogènes. Toutes ces caractéristiques rendent certaines espèces d'*Azospirillum* parmi les meilleurs biofertilisants cultures agricoles importantes.

L'association entre *Azospirillum* et la plante produit des changements morphologiques et physiologiques dans les racines. La bactérie produit des hormones de croissance, l'acide indole-3 acétique (AIA), qui favorise l'augmentation de la surface des racines, entraînant une augmentation de l'absorption de l'eau et des minéraux. De plus, cette association permet la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (jusqu'à 50 kg de N/ha/ans), ce qui favorise la croissance et le rendement des cultures (**Bashan et al., 2004**). Les *Azospirillum* se fixent à la surface des racines, dans la zone d'élongation, ou au niveau des poils absorbants.

3.4.2. *Pseudomonas*

Le *Pseudomonas* est un bacille fin sous forme de bâtonnet de 1 à 5 μm de longueur et 0,5 à 1 μm de largeur (**Chaker, 2012**). Elles sont des bactéries Gram négatives, avec des flagelles polaires et en forme de bâtonnet. Ce genre bactérien appartient aux phyla Proteobacteria, à la classe Gamma proteobacteria et à la famille *Pseudomonadaceae*. Des espèces de *Pseudomonas* et leurs produits ont été utilisés pour leurs applications en biotechnologie (**Anayo et al., 2016**).

Elles sont des bactéries ubiquistes, rencontrées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (**Saharan et Nohra, 2011**). Les *Pseudomonas* sont des bactéries métaboliquement polyvalentes, vivant dans divers habitats, elles ont été étudiées de manière

Synthèse bibliographique

intensive surtout pour leur potentiel à produire divers produits d'intérêt industriel (**Justyna Mozejko-Ciesielska, 2021**).

Ces bactéries sont mobiles, elles sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme sources de carbone et d'énergie (**Höfte et de Vos, 2006**).

3.4.3. *Bacillus*

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à Gram positif, appartenant à la famille des *Bacillaceae*. Le genre *Bacillus*, principal représentant des bactéries aérobies formant des endospores, est l'un des genres les plus diversifiés, composé actuellement de 273 espèces validées. Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. C'est le genre le plus abondant dans la rhizosphère, l'activité PGPR de certaines de ces souches a été connue depuis plusieurs années (**Probanza et al., 2002**). Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique (**Nagórska et al., 2007**) et capables de solubiliser le phosphate, produire de l'AIA, les sidérophores et les antifongiques (**Charest et al., 2005**).

3.4.4. *Rhizobium*

Le terme *Rhizobium* vient du grec Rhiza=racine et bios=vie et provient de la première appellation au XIXème siècle du premier genre bactérien vivant dans le sol et pouvant noduler les légumineuses. (**Frank, 1889**).

Les *Rhizobium*, ou Rhizobia, sont des bactéries aérobies du sol appartenant à la famille des *Rhizobiaceae* (**Schultze et Kondorosi, 1998, Albercht et al., 1999**). Ils sont Gram négatifs, non sporulantes, de forme bacilles et sont mobiles. Ce sont des microorganismes aérobies de petite taille dont la température de croissance optimale est de 28°C et le pH optimal est de 6 à 7. (**Burton et Elkan, 1985**).

Elles peuvent produire des phytohormones, des siderophores et de l'HCN, avec la capacité de coloniser les racines de plusieurs types de plantes non légumineuses et de stimuler leur croissance. Les Rhizobia ont manifesté un grand intérêt lors de leur utilisation comme agents de bio-control (**Antoun et Prévost, 2005**).

La mise en place d'une interaction non spécifique des Rhizobia avec les racines des plantes non légumineuses a ouvert la voie de leurs applications comme PGPR sur des plantes non

Synthèse bibliographique

légumineuses. Les Rhizobia, en plus de leur activité fixatrice d'azote, ils contribuent aussi à l'amélioration de la disponibilité des phosphates pour la plante par mobilisation de formes organiques et inorganiques (**Saharan et Nohra, 2011**).

Généralement les *Rhizobium* sont connus par leur symbiose avec légumineuses, cette symbiose se traduit par la formation sur les racines de la plante hôte des nodules (nodosités). Les nodosités sont le lieu d'une activité symbiotique: la plante fournit les substances carbonées aux bactéries, et les bactéries fournissent à la plante les substances azotées synthétisées à partir de l'azote atmosphérique (**Downie, 2005**). Le processus de la fixation symbiotique d'azote aide la plante à survivre et à rivaliser efficacement sur les sols pauvres en azote. **Akhtar et Siddiqui (2009)** ont montré que l'inoculation des légumineuses par *Rhizobium* sp. entraîne une augmentation dans la croissance, le rendement et le nombre de nodules formé au niveau des racines par rapport aux plantes sans inoculation. En plus de leur activité bénéfique de fixation d'azote avec les légumineuses, les Rhizobia peuvent améliorer la nutrition des plantes par la mobilisation du phosphate organique et inorganiques.

3.4.5. *Frankia*

Frankia sont des actinobactéries fixatrices d'azote à Gram positif qui peuvent vivre à l'état libre dans la rhizosphère ou en association symbiotique avec des plantes actinorhiziennes non légumineuses (**Didier Bogusz ; Claudine Franche., 2020**). Cette association confère une capacité particulière à coloniser les sols pauvres en azote, les plantes actinorhiziennes sont capables d'agir comme des pionniers dans la régénération des jachères (culture en jachère) (**Thanh Van Nguyen, Daniel Wibberg et al., 2019**). Il s'agit plus précisément d'un actinomycète en raison de ses caractéristiques morphologiques et biochimique (**Duhoux et Nicole, 2004**).

Le développement d'outils génomiques et moléculaires à la fois chez *Frankia* et dans des plantes actinorhiziennes modèles, notamment *Alnus glutinosa* et *Casuarina glauca*, a fait progresser la compréhension de ce micro-organisme et sa capacité à développer une endosymbiose racinaire (**Didier Bogusz et Claudine Franche, 2020**).

4. Réponse de la plante à l'inoculation par des PGPR

La réponse des cultures végétales à l'inoculation par des PGPR est étudiée dans de nombreuses expériences menées à travers le monde aux champs et sous serres. Sur la base des données obtenues, il est évident que l'inoculation a entraîné des augmentations significatives des rendements de différentes cultures, sous différentes conditions. Elles peuvent affecter la croissance et le rendement d'une large gamme de cultures telles que les céréales ou les légumes. Les traitements avec les PGPR augmentent le pourcentage de germination, la vigueur des plantules, l'émergence, le développement des racines et des tiges, la biomasse totale des plantes, le poids des semences, la floraison précoce et les rendements de fruits et des graines (**Van Loon et al., 1998**).

Suite à l'apparition des exsudats racinaires produits par les plantes, les PGPRs commencent à se multiplier et par conséquent affectent positivement les plantes. Plusieurs compagnies développent actuellement des inoculants contenant des PGPRs, surtout afin de réduire l'utilisation des pesticides et des engrais chimiques pour les utiliser en agriculture (**Beauchamp, 1993**). L'inoculation des semences avec ces rhizobactéries se traduit généralement par des accroissements de rendement d'environ 10 à 30% (**Suslow, 1982**).

La réponse d'une plante à l'inoculation par des PGPR varie selon la compétence écologique de la bactérie, le stade de croissance de la plante, son interaction avec l'inoculum et les conditions biotiques et abiotiques de l'environnement (**Bendjida et Aouadi 2019**)

5. Intérêt des PGPR pour l'agriculture

L'amélioration de l'agriculture est devenue d'une grande nécessité. Parmi les stratégies qui ont été employées pour améliorer l'agriculture et sa production durable et saine. Nous citons l'utilisation des biofertilisants, des biopesticides ainsi que la sélection de matériel génétique plus adapté.

L'utilisation des rhizobactéries (PGPR) pour améliorer la croissance des plantes par une grande variété de mécanismes tels que la solubilisation du phosphate, la production de sidérophores, la fixation biologique de l'azote, l'ingénierie de la rhizosphère, la production de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase (ACC), l'interférence du signal de détection de quorum (QS), l'inhibition de la formation de biofilm, la production de phytohormone, la production de composés organiques volatils (COV), l'induction d'une résistance systémique et

Synthèse bibliographique

la promotion de symbioses végétales-microbes bénéfiques, constitue un moyen miracle pour remplacer l'utilisation d'engrais chimiques, de pesticides et d'autres suppléments. Les substances favorisant la croissance sont susceptibles d'être produites en grandes quantités par ces micro-organismes de la rhizosphère qui influencent indirectement la morphologie globale des plantes. Les progrès récents dans notre compréhension de la diversité des PGPR dans la rhizosphère ainsi que de leur capacité de colonisation et de leur mécanisme d'action devraient faciliter leur application en tant que composant fiable dans la gestion d'un système agricole durable.

Chapitre 2

matériel et méthode

Matériel et Méthodes

1-Matériel biologique

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire GBBV (Génétique ; Biochimie et Biotechnologie Végétale) de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

Nous avons travaillé sur 30 souches bactériennes qui ont été déjà isolées à partir de la rhizosphère et le rhizoplan (sols et racine) du blé dur (*Triticum durum*) cultivés dans deux régions de Constantine (Figure 7): Ain Abid et El Khroub (collection de Dr KECHID M).



Figure 07 : Sites d'isolement des souches du Rhizoplan et de la Rhizosphère.

Les souches isolées de la région d'El khroub sont 13 bactéries dont 5 de la rhizosphère et 8 du rhizoplan, et celles isolées de la région de Ain Abid sont 17 bactéries dont 11 bactéries de la rhizosphère et 6 du rhizoplan (Tableau 1).

Tableau 1 : différentes souches bactériennes des deux régions

	Rhizosphère	Rhizoplan
El Khroub	KS1, KS2, KS3, KS4, KS5	KR1, KR2, KR3, KR4, KR5, KR6, KR7, KR8
Ain Abid	AS1, AS2, AS3, AS4, AS5, AS6, AS7, AS8, AS9, AS10, AS11	AR1, AR2, AR3, AR4, AR5, AR6

Matériels et méthodes

Les différentes souches ont été conservées au congélateur -80°C, afin de les utiliser, elles ont étéensemencées en surface sur milieu GN (Gélose nutritive).

2- Caractérisation morphologique

2-1- Test de mobilité

Pour déterminer la mobilité, on utilise des cultures de bactéries fraîches, on prend une goutte d'eau distillée stérile et la met sur une lame stérile puis on rajoute une partie de colonie de bactérie, ensuite on rajoute la lamelle et on fait l'observation microscopique (Grossissement 100). Généralement les souches de *Rhizobium* sont mobiles.

3- Estimation de la concentration bactérienne

Chaque souche bactérienne, a une taille bien déterminée ainsi qu'un temps de génération, les différentes souches peuvent donner des absorbances différentes, mais la même absorbance ne correspond pas toujours à la même concentration bactérienne, c'est pour cette raison il est important de déterminer la concentration bactérienne de chaque souche pour une absorbance déterminée.

Afin de réaliser ceci, nous avons réalisé une estimation de la concentration pour chaque souche.

3-1- Préparation d'une préculture

Chaque souche bactérienne est repiquée sur un milieu liquide (milieu LB, Annexe 1.3) (figure 8), les tubes sont ensuite mis dans une étuve à agitation, pendant 18 h à une température de 30°C.

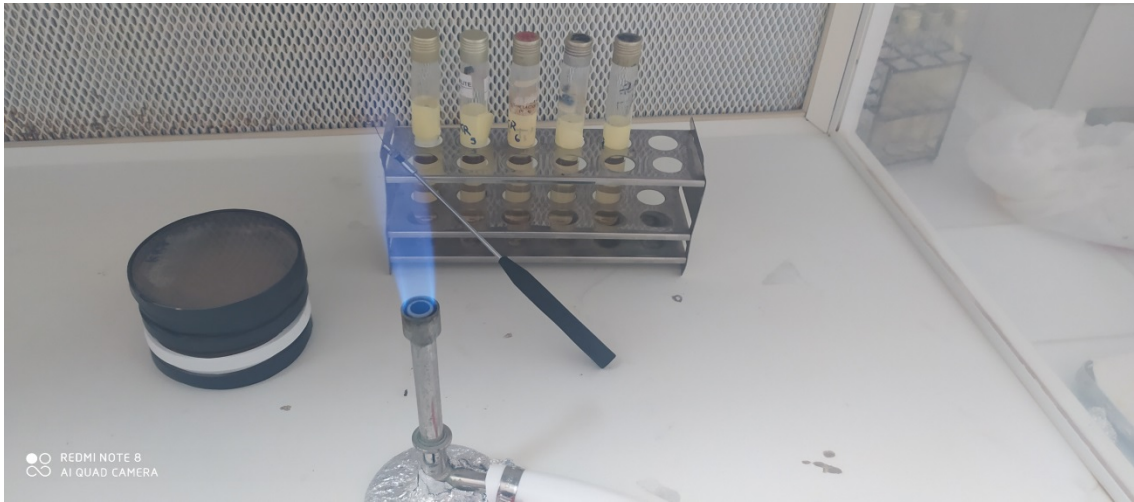


Figure 08 : Repiquages des souches bactériennes.

3-2-Dilution des souches bactériennes

Après 18 h de croissance de la préculture, on va réaliser des dilutions, le but de cette étape est de réduire la concentration bactérienne de la préculture, afin de pouvoir réaliser un dénombrement; pour réaliser ceci, on prend 1 ml de la solution mère (préculture) puis on la met dans 10 ml de l'eau physiologique stérile pour avoir la dilution 10^{-1} , ensuite on prend 1ml de la dilution 10^{-1} et on la met dans un 2ème tube qui contient 10 ml de l'eau physiologique pour avoir la dilution 10^{-2} ; on répète cette méthode jusqu'on obtient la dilution de 10^{-5} , ces dilutions sont réalisées pour chaque souche.

Après la réalisation des dilutions, on réalise des ensemencements dans la masse pour chaque dilution (figure 9). 1ml de chaque dilution est mis dans des boites de pétri, ensuite, on ajoute la gélose nutritive liquéfiée et en surfusion et on a fait des mouvements circulaires pour mélanger la dilution avec le milieu de culture, après solidification des milieux, les boites sont fermées et incubées dans une étuve à 30°C pendant 48h.



Figure 09 : Ensemencement des bactéries dans les boîtes pétri.

4-Caractérisation des modes d'action des PGPR

4-1-Production d'ammoniac

Les différentes souches bactériennes sont repiquées sur milieu liquide BK (annexe 1.9), elles sont ensuite incubées en agitation à 30°C pendant 3 jours, après la période d'incubation, on prélève avec une pipette 2ml de chaque culture BK et on ajoute 0,5 ml du réactif de Nessler (annexe 1.11), une coloration jaune orange après l'ajout du réactif de Nessler est l'indicateur de la production d'ammoniac; le principe de cette technique est de détecter la production d'ammoniac qui constitue un indice de la capacité de la bactérie à inhiber la croissance d'autres bactéries pathogènes.

4-2-Solubilisation de phytate

Le phytate est parmi les sources de phosphore dans le sol, qui sont non assimilées par la plante, le principe de cette méthode est de savoir si les bactéries sont capables de dégrader le phytate pour le rendre sous forme assimilable et ceci par le biais de la phytase.

Nous avons ensemencé chaque bactérie en strie dans une boîte de pétri qui contient le milieu NBRIB ou la seule source de phosphore est le phytate (annexe 1.5), les boîtes sont ensuite, mises dans l'étuve à une température de 30°C pendant 5 à 7 jours. Les bactéries capables de dégrader le phytate forment un halo transparent autour de la colonie.

Les bactéries dégradant le phytate représentent un moyen important pour solubiliser le phytate présent dans le sol et le rendre accessible à la plante pour l'utiliser facilement.

4-3-Mise en évidence de la production de la pyoverdine et la pyocyanine

Après la préparation de milieu King A et King B (annexe 1.6 ; 1.7), nous avonsensemencé chaque souche sur le milieu King A et King B. Les boîtes sont ensuite, mises dans l'étuve à une température de 30°C. Après 48heures, on commence la lecture des boîtes sous UV :

King A : si les bactéries émettent une fluorescence jaune au vert ça veut dire qu'il ya la production de pyoverdine, indicateur de l'appartenance de la bactérie à *Pseudomonas fluorescens*.

King B : si les bactéries émettent une fluorescence bleu verte ça veut dire que la bactérie produit la pyocyanine, indicateur de bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

4-4-Caractérisation des souches sur milieu YMA

Nous avons préparé le milieu Yeast-Manitol Agar (YMA) + rouge congo (RC) (Annexe 1.4 ; 1.4.1). Chaque souche bactérienne estensemencée en surface du milieu YMA plus rouge de Congo, les boîtes sont ensuite mises en incubation à 28°C pendant 48 h.

Ce test est réalisé pour déterminer, si parmi les souches étudiées. Il y a plusieurs genres n'absorbé pas le rouge congo comme le rhizobium et donne des colonies translucides.

4-5-Caractérisation des souches sur milieu Burk's N Free

Les bactéries fixatrices d'azote sont des bactéries libres, qui sont capables d'utiliser l'azote atmosphérique. Afin de déterminer si nos souches sont capables d'utiliser l'azote atmosphériques, chaque souche estensemencé en surface du milieu solide Burk's N Free (annexe 1.8). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 à 7 jours.

Les bactéries capables de pousser sur le milieu Burk's N Free ont la possibilité d'utiliser l'azote atmosphérique et par conséquent elles peuvent fixer l'azote atmosphérique.

4-6-Production d'auxine

Pour voir si nos souches sont capables de produire l'auxine. Chaque souche est ensemencé dans un tube contenant le milieu liquide (LB) + 0,5 g/l de Tryptophane (annexe 1.3.1), les tubes sont incubés à 30°C et en agitation pendant 24h.

Après 24h, on a pris 2 ml de chaque tube contenant les bactéries on les met dans les tubes eppendorfs ; ces tubes sont placés dans la centrifugation pendant 5 min à 30000 rpm (figure 10).



Figure 10: Centrifugeuse

Nous récupérons le surnageant et nous prenons 1,8 ml du surnageant de chaque bactérie et on le met dans un autre tube, on rajoute la même dose de la solution salkowski (annexe 1.10). Les tubes sont enveloppés avec du papier d'aluminium afin qu'ils ne soient pas exposés à la lumière et sont incubés pendant 20 min à température ambiante et à l'obscurité totale. Puis mesurer l'absorbance de la couleur rose résultante. L'auxine a été lue à une longueur d'onde de 530nm avec un spectrophotomètre.

Chapitre 3

Résultat et discussion

Résultats et discussion

1-Caractérisation morphologique

Une observation microscopique pour déterminer la morphologie des bactéries plus une coloration de Gram est réalisée pour déterminer la forme et le Gram des différentes bactéries et préciser le caractère Gram+ ou Gram-.

Si les bactéries sont Gram positive, elles apparaissent en violet foncé tandis que si les bactéries Gram négatives elles apparaissent colorées en rose (Figure 11).

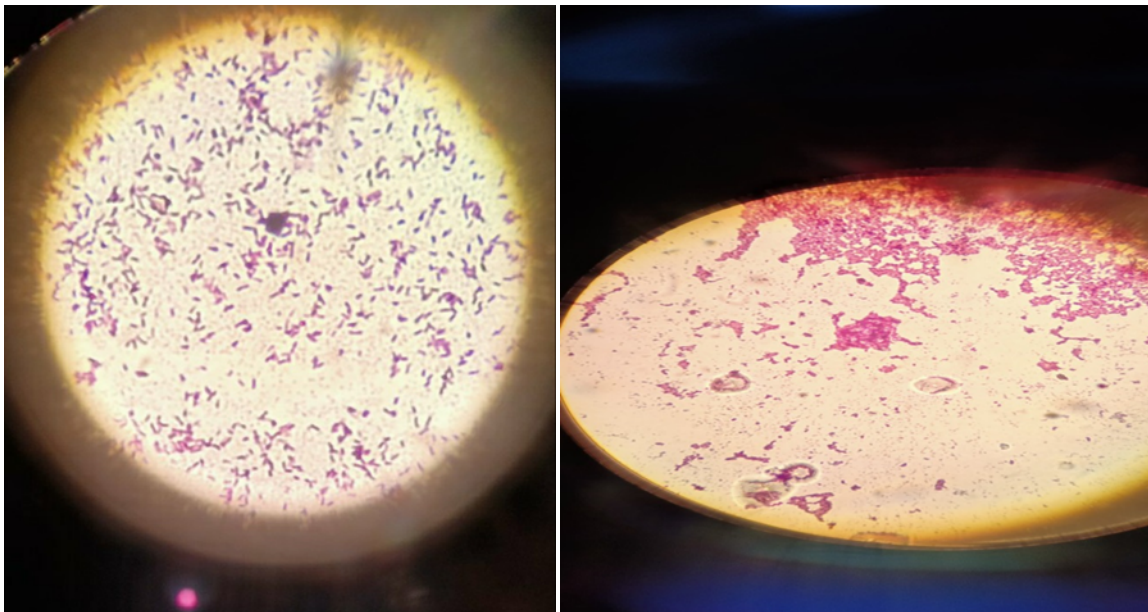


Figure 11: Résultats de la coloration de Gram. Bactéries Gram plus (à droite) et Gram négatif (à gauche).

Après une observation microscopique (Grossissement 100) on a remarqué une diversité dans les formes et tailles des 30 souches (Tableau 2).

Le tableau 2 montre que la majorité des bactéries sont bacilles et Gram positif. Toutes les bactéries sont mobiles à l'exception deux souches qui sont immobiles (AS1 et AS3).

Résultat et discussion

Tableau 02: Caractérisation morphologique des 30 souches.

Bactéries	Gram	Forme	Mobilité	Bactéries	Gram	Forme	Mobilité
AS1	Gram +	bacille	Immuable	KS1	Gram +	Bacille	Mobile
AS2	Gram -	Cocci	Mobile	KS2	Gram +	Bacille	Mobile
AS3	Gram +	bacille	Immuable	KS3	Gram +	Bacille	Mobile
AS4	Gram -	Cocci	Mobile	KS4	Gram +	Cocci	Mobile
AS5	Gram +	Bacille	Mobile	KS5	Gram -	Cocci	Mobile
AS6	Gram +	Bacille	Mobile	KR1	Gram +	Cocci	Mobile
AS7	Gram +	Bacille	Mobile	KR2	Gram +	Cocci	Mobile
AS8	Gram +	Bacille	Mobile	KR3	Gram -	Bacille	Mobile
AS9	Gram +	Bacille	Mobile	KR4	Gram -	Bacille	Mobile
AS10	Gram +	Bacille	Mobile	KR5	Gram +	Bacille	Mobile
AS11	Gram +	Bacille	Mobile	KR6	Gram +	Bacille	Mobile
AR1	Gram +	Bacille	Mobile	KR7	Gram+	Bacille	Mobile
AR2	Gram +	Cocci	Mobile	KR8	Gram +	Cocci	Mobile
AR3	Gram +	Cocci	Mobile				
AR4	Gram +	Bacille	Mobile				
AR5	Gram +	Bacille	Mobile				
AR6	Gram +	Cocci	Mobile				

Les bactéries à Gram négatif isolées de la région d'AIN Abid sont les 2 souches de rhizosphère (AS2 et AS4). Les autres bactéries isolées de la même région sont tous Gram positif.

Les bactéries à Gram négatif isolées de la région d'EL Khroub sont les souches KR3, KR4 et KS5, les autres sont toutes à Gram positif.

Les bactéries soit du sol ou de racine sont très diversifiées ; parmi nos souches, la plus part sont celles qui sont Gram + avec une forme bacille ou Coccobacille

Ces bactéries sont fréquemment retrouvées au voisinage des racines des plantes ou certaines espèces ont un rôle dans la fixation d'azote.

2- Estimation de la concentration bactérienne

Le dénombrement des différentes souches a révélé que la même absorbance ne correspond pas à la même concentration (Tableau 3), ce résultat est prévisible car toutes les bactéries n'ont pas les mêmes caractéristiques morphologiques. Parmi les 30 souches étudiées, 13 souches ont présenté une concentration entre 2×10^5 et 9×10^5 UFC/ml pour l'absorbance 1, 11 souches avec des concentrations entre 1×10^6 et 6×10^6 UFC/ml, 3 souches avec des

Résultat et discussion

concentrations comprises entre $1 \cdot 10^7$ et $6 \cdot 10^7$ UFC/ml et 3 souches avec des concentrations dans l'intervalle de $2 \cdot 10^4$ et $9 \cdot 10^4$ UFC/ml (Tableau 3).

Tableau 03: Correspondance entre la concentration bactérienne et l'absorbance 1.

Souches Ain Abid	Concentration / Abs 1 (UFC/ml)	Souches El Khroub	Concentration / Abs 1 (UFC/ml)
AR1	$2,31 \cdot 10^5$	KR1	$2,12 \cdot 10^6$
AR2	$6,22 \cdot 10^6$	KR2	$3,43 \cdot 10^6$
AR3	$6,68 \cdot 10^5$	KR3	$1,71 \cdot 10^7$
AR4	$8,21 \cdot 10^5$	KR4	$7,60 \cdot 10^5$
AR5	$5,29 \cdot 10^6$	KR5	$1,77 \cdot 10^5$
AR6	$2,05 \cdot 10^5$	KR6	$3,59 \cdot 10^6$
AS1	$7,19 \cdot 10^5$	KR7	$8,70 \cdot 10^5$
AS2	$6,41 \cdot 10^5$	KR8	$4,87 \cdot 10^5$
AS3	$1,95 \cdot 10^6$	KS1	$2,83 \cdot 10^6$
AS4	$2,98 \cdot 10^4$	KS2	$7,12 \cdot 10^5$
AS5	$4,21 \cdot 10^6$	KS3	$3,92 \cdot 10^6$
AS6	$9,44 \cdot 10^4$	KS4	$1,07 \cdot 10^5$
AS7	$2,27 \cdot 10^7$	KS5	$6,20 \cdot 10^7$
AS8	$1,15 \cdot 10^6$		
AS9	$9,03 \cdot 10^4$		
AS10	$1,02 \cdot 10^6$		
AS11	$5,79 \cdot 10^5$		

3- Caractérisation des modes d'action des PGPR

3-1- Caractérisation des bactéries sur milieux YMA

Ce teste a été fait pour voir si nos souches sont capables d'absorber le rouge de Congo rajouté sur le milieu Yeast Mannitol Agar, ce test nous permet de caractériser les souches qui peuvent être de plusieurs genres, comme des souches de *Rhizobium* n'ont pas la capacité de l'absorber.

Nous avons remarqué que la majorité des bactéries n'absorbent pas le rouge Congo sauf les 7 souches suivantes d'Ain Abid (AR2, AS2, AS3, AS4, AS6, AS7 et AS9) et 4 souches d'EL Khroub (KR4, KR6, KS3 et KS4) (Figure 12).

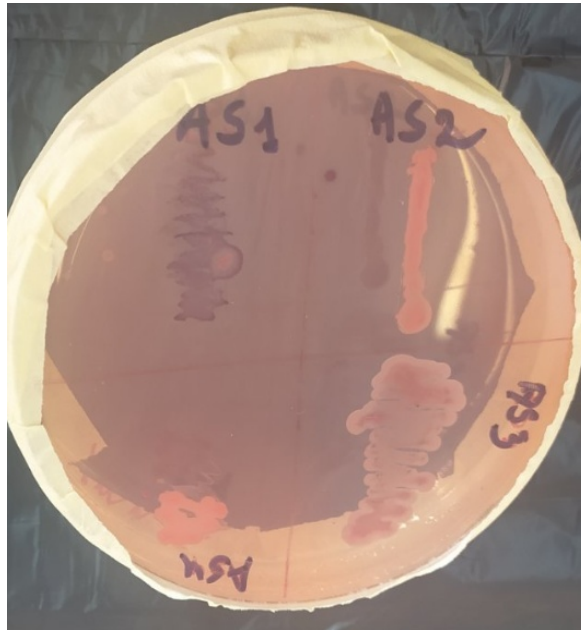


Figure 12: Absorption du rouge de Congo par les bactéries.

3-2- Mise en évidence de la production de pyoverdine et de pyocyanine :

Pour vérifier si il ya parmi nos souches une *Pseudomonas*, on a fait un ensemencement sur les milieux king A et king B, alors dans :

Le milieu King A : si les bactéries présentent une fluorescence en jaune à vert ça veut dire il y a la pyoverdine et cela c'est l'indicateur de l'appartenance de la bactérie *Pseudomonas fluorescens*. Le résultat dans ce test est négative pour tous les souches sauf AS5 (Figure 13)

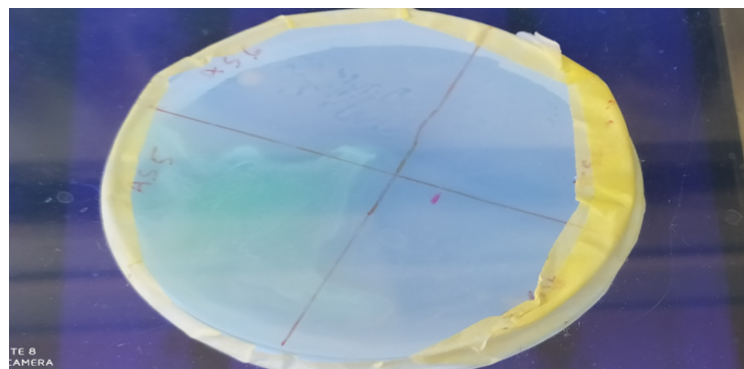


Figure 13: Fluorescence de la souche (AS5) sur King A.

Sur le milieu King B : si les bactéries présentent une fluorescence en bleu vert, ça veut dire qu'il y a présence de la pyocyanine indicateur de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Le résultat pour ce test est négatif pour toutes les souches (Figure 14).

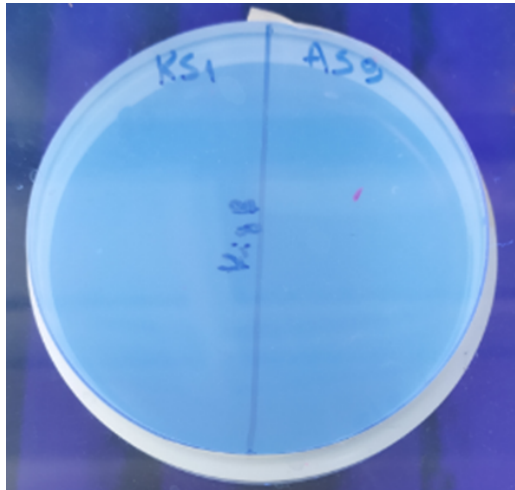


Figure 14: Résultat négatif sur milieu King B.

3-3- Caractérisation des bactéries sur milieu Burk's N free

La fixation biologique de l'azote, dont la symbiose Rhizobia-légumineuses est l'exemple type, est donc elle est d'importance majeure pour la production agricole et pour le cycle biogéochimique de l'azote, nécessaire au maintien de la vie sur la terre (**Perry et al., 2004**).

Le milieu Burk's N free se trouve recommandé pour détecter les micro-organismes fixateurs d'azote tels que les bactéries fixatrices d'azote dans le sol (**Subbarao, 1977**).

Dans ce milieu nous avons trouvé que la majorité des bactéries ont trouvé des difficultés à pousser sauf les bactéries (AR1, KS1, AS9, AS10 et AS11).

3-4- Production d'ammoniaque

Les PGPR sont des bactéries qui vivent en symbiose avec les plantes donc ils sont capables d'aider les plantes pour se protéger contre les pathogènes, la production d'ammoniaque chez les bactéries est un indicateur de biocontrol.

Cette expérience a été réalisée sur un milieu BK (annex 11), après l'ajout du réactif Nessler. Nous avons détecté la production d'ammoniaque qui constituer une capacité de la bactérie à inhiber la croissance d'autre bactérie pathogène.

Le résultat montre que tous les tubes préparés sont devenus orange, après l'ajout du réactif de Nessler, ça veut dire que le test est positif pour la production d'ammoniaque (Figure 15).



Figure 15: Résultat positif de la production d'ammoniaque.

3-5- Solubilisation de phytate

Tout d'abord, un micro-organisme ne pourra pousser sur un milieu contenant que les phytates comme seule sources de phosphore, que s'il a une capacité à libérer une phytase extracellulaire ou par l'absorption du phytate à travers la membrane externe et sa déphosphorylation ultérieure dans le cytoplasme (**Hill et Richardson, 2007**).

Il y a des plantes qui ne sont pas capables de solubiliser le phosphore donc il existe des bactéries qui sont capables de dégrader le phosphore en forme soluble pour ces plantes par le biais de la phytase comme enzyme.

Cette méthode a été réalisée sur un milieu contenant le phytate comme seule source de phosphore, les bactéries qui croissent sur ce milieu, indique leur capacité à solubiliser la phytate ; ce test est un test qualitatif.

Les 30 souches des bactéries obtenues du rhizoplan et de la rhizosphère ont été ensemencées dans un milieu solide qui contient le phytate comme source de phosphore.

Parmi les bactéries de la région d'Ain Abid il y a 12 sur 17 souches qui ont pu pousser sur ce milieu contenant que le phytate comme source de phosphore sauf pour les souches: AR1; AS5 ; AS9 ; AS10 et AS11.

Parmi les bactéries de la région d'EL Khroub il y a 9 sur 13 souches qui ont pu pousser sur ce milieu contenant que le phytate comme source de phosphore sauf pour les souches : KR2, KR3, KR4 et KS2 (Figure 16).

Résultat et discussion

Ce résultat indique que la majorité des souches de la rhizosphère et de rhizoplan ont pu dégrader le phytate, donc sont capables de produire des enzymes appelées phytases. Ces enzymes vont permettre de libérer les ions phosphates à partir des phytates, et seront ainsi disponibles pour les racines des plantes.

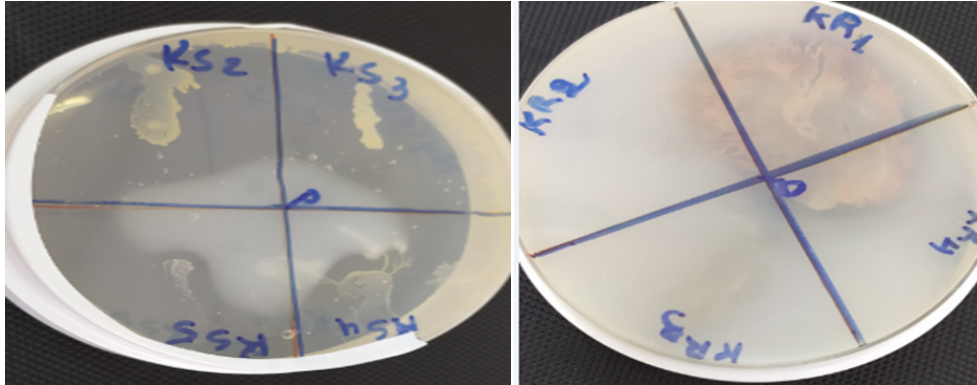


Figure 16: Test qualitatif de croissance des bactéries sur un milieu contenant le phytate comme seule source de phosphore.

Alors dans le sol les bactéries solubilisant et minéralisant le phosphore inorganique et organique, et permettent ainsi de libérer des phosphates solubles aux racines c'est le même principe qu'elle a fait dans le milieu phytate (dégradation de milieu).

Ces bactéries ont d'autres propriétés, liées à leur nature de micro-organismes vivants, qui sont aussi bénéfiques pour les plantes : production de phytohormones, structuration du sol, amélioration de l'activité microbiologique du sol, etc ...

3-7- Production d'auxine

La capacité des 30 souches bactériennes à produire de l'auxine a été testée, donc c'est une hormone de croissance et développement des plantes. Cette hormone joue un rôle dans la croissance des bactéries.

La production d'auxine à partir du tryptophane ajouté dans le milieu LB conduit à une coloration rose après avoir ajouté le réactif Salkawski, l'intensité de la couleur dépend du taux d'AIA produit. On a mesuré le taux d'auxine produit à une longueur d'onde de 530nm pour toutes les souches bactériennes, en plus de la souche de référence *Azospirillum brasilens* (AB) (Figure 17).

Résultat et discussion

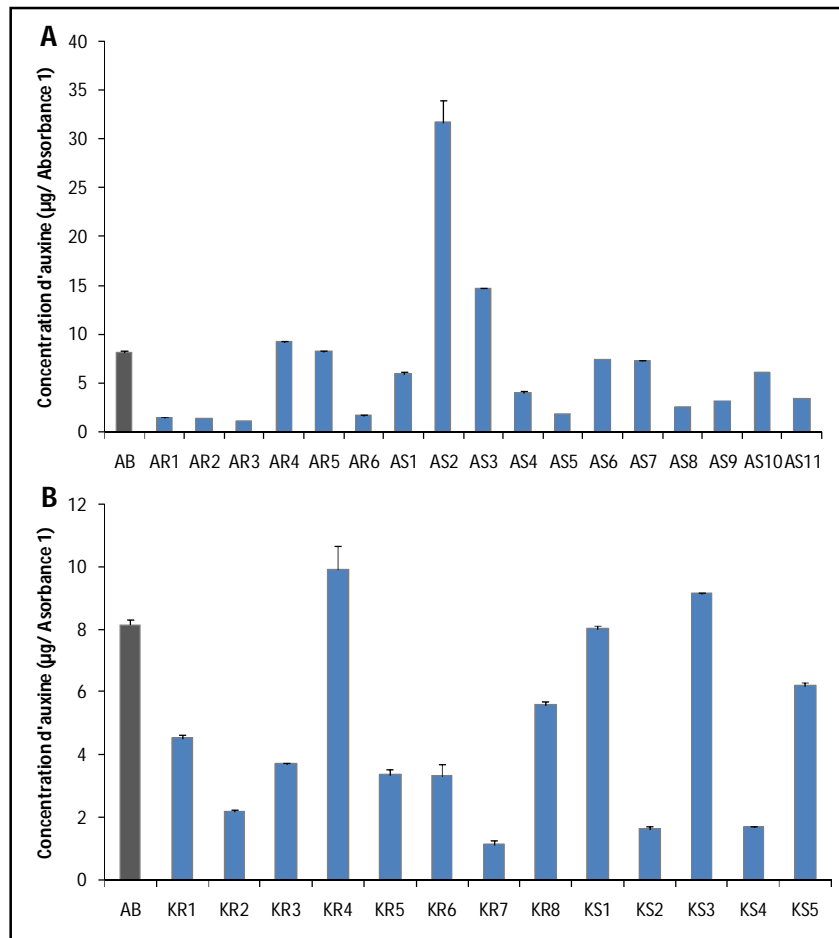


Figure 17: Taux de production d'auxines chez les différentes souches. A : Souches de Ain Abid, B : Souches d'El Khroub, AB : *Azospirillum brasilens*.

Toutes les souches ont produit de l'auxine avec des taux variables d'une souche à l'autre (Figure 17.A), les souches isolées de la région de Ain Abid ont présenté deux souches capables de produire des taux d'auxines plus élevée que la souche de référence et sont les souches AS2 et AS3.

Quant aux souches isolées de la région d'El Khroub, ce sont les souches KR4 et KS3 qui ont présenté des taux élevés d'auxine par rapport à la souche de référence (Figure 17. B).

Conclusion

Conclusion Générale

La rhizosphère est la région du sol directement formée et influencée par les racines et les micro-organismes associés, cet environnement particulier comprend une microflore microbienne qui inclut autant des micro-organismes bénéfiques que pathogènes. Certaines bactéries du sol ont la capacité de favoriser le développement des cultures agricoles en stimulant leur croissance à travers la production de métabolites impliqués directement dans leur fonctionnement ou en réduisant les dommages causés par les agents pathogènes. Les bactéries peuvent également influencer la symbiose entre les plantes et d'autres microorganismes co-environnants, stimulant indirectement leur croissance.

Cet effet bénéfique peut être direct, lorsque la bactérie stimule la croissance de la plante ou active, ou indirect lorsque la bactérie participe à développer les réponses de défense contre les pathogènes. Au niveau appliqué, l'effet PGPR offre des possibilités intéressantes en agronomie (accroissement du rendement, réduction de l'utilisation des intrants azotés et produits phytosanitaires, lutte biologique et amélioration de la santé des plantes).

Dans cette étude, 30 souches bactériennes déjà isolées et purifiées à partir de la rhizosphère et le rhizoplan de deux régions de la wilaya de Constantine (Ain abid et El khroub), ont été testées. La caractérisation de leurs propriétés morphologiques (Gram, formes des bactéries et la mobilité) et la détermination de quelques modes d'action des pgpr; nous avons déterminé parmi les 30 souches testées, celles qui ont la capacité de solubiliser la phytate, de produire l'auxine et produire l'ammoniaque.

Dans cette expérience nous avons commencé par l'étude des caractéristiques morphologiques, nous avons remarqué que la majorité des bactéries sont de forme Bacille et mobiles.

Puis nous avons caractériser des modes d'action spécifiques aux PGPRs, les 30 souches de bactéries étudiées avaient montré leur aptitude à croitre dans milieu ou la seule source de phosphore est la phytate, à produire des quantités très élevées d'auxine, à produire l'ammoniaque et même la possibilité à fixer l'azote atmosphérique.

Dans la région d'Ain Abid : AS2 AS4 AS6 AS7 et dans la région d'El Khroub : KS3 KS4 et KR6 sont les souches communes les plus performantes.

Conclusion Générale

Dans le milieu king B, la recherche de pyocyanine, a montré que toutes les souches ont un résultat négatif par contre sur le milieu king A sauf la souche AS5 qui a présenté une fluorescence de pyoverdine positive donc possibilité qu'elle soit une *Pseudomonas fluorescens*. Toutes les souches sont productrices d'auxine et d'ammoniaque.

Ce travail vise à sélectionner les bactéries qui ont des caractéristiques des PGPR, pour les inoculer ensuite avec le blé dur, afin d'étudier leur capacité à stimuler la croissance du blé dur (*Triticum durum*) et d'améliorer les paramètres de sa croissance. Ces souches, peuvent donc être inoculés et voir leur capacité à améliorer la croissance des plantes afin de sélectionner les plus performantes.

Référence
Bibliographique

Référence Bibliographique

AGRITECH - Organic Farming, 2014. Organic Inputs and Techniques :Biofertilizers [enligne]. Disponible sur Internet :<http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html> [consulté le 02.12.2014].

Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 163 (2) : 173-181.

Akhtar. M.S ; Siddiqui. Z.A, (2009). Effect of plant growth promoting rhizobacteria, nematode parasitic fungi and root-nodule bacterium on root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* and growth of chickpea Biocontrol Sci Technol, pp. 511-521.

Ali, S., Hameed, S., Shahid, M., Iqbal, M., Lazarovits, G., and Imran, A. (2020). Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity. *Microbiol. Res.* 232:126389. doi: 10.1016/j.micres.2019.126389

Anayo, O.F.; Scholastica, E.C.; Peter, O.C.; Nneji, U.G.; Obinna, A.; Mistura, L.O. The beneficial roles of *Pseudomonas* in medicine, industries, and environment: A review. In *Pseudomonas Aeruginosa-An Armory Within*; IntechOpen: London, UK, 2016.

Angélique B. (2011). Molécules antifongiques et activité antagoniste de deux souches de *Pseudomonas* envers *Helminthosporium solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre. Mémoire de maîtrise. Université Laval. Québec.

Antoun H. and Prévost D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. Z. A.Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. p 1–38

Ashrafuzzaman, M., F.A. Hossen., M.R. Ismail., M.A. Hoque., M.Z. Islam ., S.M. Shahidullah et S. Meon (2009). Efficiency of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *Afri. J. Biotechnol.*, 8 : 1247-1252.

Atzhorn, R., A. Crozier, C.T. Wheeler et G. Sandberg (1988). Production of gibberellins and indole- 3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. *Planta* 175:532–538 (Maheshwari et al., 2015).

Bano, S. A., and Iqbal, S. M. (2016). Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. *Int. J. Agric. Innov. Res.* 4, 596–599. Available online at: <https://ijair.org/index.php/issues?view=publication&task=show&id=665>

Bar-Ness, E., Y. Hadar, Y. Chen, V. Romheld et H. Marschner (1992). Short-term effects of rhizosphere microorganisms on Fe uptake from microbial siderophores by maize and oat. *Plant Physiol.* 100: 451-456.

Référence Bibliographique

- Bashan Y., Holguin G. and de-Bashan L. E (2004).** Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can J Microbiol.* 50:521-577.
- Basu, A.; Prasad, P.; Das, S.N.; Kalam, S.; Sayyed, R.Z.; Reddy, M.S.; El Enshasy, H. 2021.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability* 2021, 13, 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>.
- Beauchamp, C.J. 1993.** Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent. *PHYTOPROTECTION* 74: 19-27.
- Beeckman, F., Motte, H., and Beeckman, T. (2018).** Nitrification in agricultural soils: impact, actors and mitigation. *Curr.Opin.Biotechnol.* 50, 166–173.doi: 10.1016/j.copbio.2018.01.014
- BENDJIDA Habiba, AOUADI Salma. 2019.** Effet promoteur des bactéries PGPR sur la croissance de la fève (*vicia faba* L). Conclusion. Université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued. <http://dspace.univ-eloued.dz/bitstream/123456789/4307/1/574.01.057.pdf>
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35, 1044–1051.
- Binenbaum, J., Weinstain, R., and Shani, E. (2018).** Gibberellin localization and transport in plants. *Trends Plant Sci.* 23, 410–421. doi: 10.1016/j.tplants.2018.02.005
- Burdman, S., E. Jurkevitch et Y. Okon (2000).** Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture, In: *Microbial Interactions in Agriculture and Forestry*. N. S. Subba Rao and Y. R. Dommergues, eds., Science Publishers, Enfield, USA, Vol II, pp. 229-250.
- Burton, M. Elkan, G. 1985.** Multiple antibiotic resistance in *Rhizobium japonicum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 ; 867- 870.
- Calvo Fran, Carbonell Xavier & Johnsen Sarah, (2019).** Information and communication technologies, e-Health and homelessness: A bibliometric review, *Cogent Psychology*, 6:1, 1631583, DOI: 10.1080/23311908.2019.1631583. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311908.2019.1631583>
- Castignetti, D. et J.Jr. Smarrelli (1986).** Siderophores, the iron nutrition of plants, and nitrate reductase. *FEBS Lett.* 209:147-151

Référence Bibliographique

CHAKER H. 2012. Regulation de l'adaptation de la bacterie *Pseudomonas aeruginosa* a son hôte : implication des metabolites du tryptophane.

Charest. MH, Beauchamp. CJ, Antoun.H(2005). Effects of the humic substances of deinking paper sludge on the antagonism between two compost bacteria and *Pythium ultimum*. *FEMS Microbiology Ecology*.52: 219-227

Chelius MK, EW. Triplett (2000). Immunolocalization of dinitrogenase reductase produced by *Klebsiella pneumoniae* in association with *Zea mays* L. *Appl. Environ. Microbiol.*66:783–787.

Didier Bogusz ; Claudine Franche , 2020. *Frankia* and the actinorhizal symbiosis. *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818469-1.00030-4>. Pages 367-380.

Dobereiner, J (1997). Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. *Soil Biol. Biochem.* 29:771–774.

Downie, JA (2005). Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Curr Biol.* 15: 6.

Duffy, B.K. et G. Defago (1999). Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 2429– 2438.

Duhoux E., NICOLE MICHEL, Selosse M.A. (préf.). (2004). *Biologie végétale : associations et interactions chez les plantes : premier cycle, prépas, CAPES, Pharmacie*. Paris : Dunod, 166 p. (Sciences Sup : Série Atlas). ISBN 2-10-006930-6.

Ezawa, T., SE. Smith et FA. Smith (2002). P metabolism and transport in AM fungi. *Plant Soil*, 244: 221–230.

Figueiredo, VB., Burity HA., Martinez CR., Chanway CP. (2008). Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). by co-inoculation with *Paenibacilluspolymyxa* and *Rhizobium tropici*. *Appl. Soil Ecol.* 40:182–188

Frank, B., 1889. Uber die pilzsymbiose der leguminosen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 7 : 332-346

García Lucas, J.A., Schloter, M., Durkaya, T., Hartmann, A. Gutierrez-Maero, F.J (2003). Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. *BiolFertil Soils* 37(6): 381-385.

Référence Bibliographique

Glick., B.R., D.M. Penrose et L. Jiping (1998). A model for the lowering plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190:63–68.

Graham, P. H (1988). Principles and Application of Soil Microbiology, pp: 322–345.

Großkinsky, D. K. et al. (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.* 6, 23310; doi: 10.1038/srep23310.

Hakim S, Naqqash T, Nawaz M S, Laraib I, Siddique MJ, Zia R, Mirza MS and Imran A., (2021) : Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:617157. doi: 10.3389/fsufs.2021.61715.

Hill Joseph, Richardson James A., Eva van Rooij, Lillian B. Sutherland, Xiaoxia Qi, Eric N. Olson. 2007. Control of Stress-Dependent Cardiac Growth and Gene Expression by a MicroRNA. Vol. 316, Issue 5824, pp. 575-579. DOI: 10.1126/science.1139089

Hiltner, L. (1904). Über neuere erfahrungen und probleme auf dem gebiete der bodenbakteriologie unter besonderer berücksichtigung der gründung und brache. *Arb DLG* 98, 59–78.

Holguin G., and Glick B. R (2001). Expression of the ACC deaminase gene from *Enterobacter cloacae* UW4 in *Azospirillum brasilense*. *Microbial Ecology.* 41: 281–288.

Jourdan, E., M. Ongena, et P. Thonart. , 2008. Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 437-449.

Justyna Mozejko-Ciesielska, 2021. Microbial cell factories engineering for production of biomolecules, chapter 10 *pseudomonas putida*-based cell factories. 2021, 165-181. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821477-0.00025-8>

Kamilova. F., S. Validov, T. Azarova, I. Mulders, et B. Lugtenberg., 2005. Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environ. Microbiol.* 7: 1809–1817 .

Kang, S.-M., Khan, A. L., Hamayun, M., Hussain, J., Joo, G.-J., You, Y.- H., et al. (2012). Gibberellin-producing *Promicromonospora* sp. SE188 improves *Solanum lycopersicum* plant growth and influences endogenous plant hormones. *J. Microbiol.* 50, 902–909. doi: 10.1007/s12275-012-2273-4

Kang, S.-M., Khan, A. L., Waqas, M., Asaf, S., Lee, K.-E., Park, Y.-G., et al. (2019b). Integrated phytohormone production by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus*

Référence Bibliographique

tequilensis SSB07 induced thermotolerance in soybean. *J. Plant Int.* 14, 416–423. doi: 10.1080/17429145.2019.1640294

Kang, S.-M., Khan, A. L., Waqas, M., You, Y.-H., Hamayun, M., Joo, G.-J., et al. (2015). Gibberellin-producing *Serratia nematodiphila* PEJ1011 ameliorates low temperature stress in *Capsicum annuum* L. *Eur. J. Soil Biol.* 68, 85–93. doi: 10.1016/j.ejsobi.2015.02.005

Kang, S.-M., Khan, A. L., You, Y.-H., Kim, J.-G., Kamran, M., and Lee, I.-J. (2014a). Gibberellin production by newly isolated strain *Leifsonia soli* SE134 and its potential to promote plant growth. *J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 106–112. doi: 10.4014/jmb.1304.04015.

Kang, S.-M., Waqas, M., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, A. L., Kim, A.-Y., et al. (2017). Gibberellins and indole-3-acetic acid producing rhizospheric bacterium *Leifsonia xyli* SE134 mitigates the adverse effects of copper-mediated stress on tomato. *J. Plant Int.* 12, 373–380. doi: 10.1080/17429145.2017.1370142

Kechid, M., Desbrosses, G., Rokhsi, W., Varoquaux, F., Djekoun, A. and Touraine, B. (2013), The *NRT2.5* and *NRT2.6* genes are involved in growth promotion of *Arabidopsis* by the plant growth-promoting rhizobacterium (PGPR) strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196. *New Phytol.* 198: 514-524. <https://doi.org/10.1111/nph.12158>

Khan, M.S., Zaidi, A., Wani, P.A., Oves, M., 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Lett.* 7, 1–19.

Kloepper, JW., CM. Ryn et S. Zhang (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* sp. *Phytopathol.*, 94: 1259-1266.

Kucey, R.M.N., H.H. Janzen et M.E. Legget (1989). Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.* 42:199–228.

Kumar, V. et N. Narula (1999). Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacterchroococcum* mutants. *Biol. Fert. Soils*, 28(3):301-305.

Liu, F., Xing, S., Ma, H., Du, Z. & Ma, B, (2013). Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 9155–9164.

Loper, J.E et M.N. Scroth (1986). Influence of bacterial sources on indole-3 acetic acid on root elongation of sugarbeet. *Phytopathology*, 76: 386-389.

Maheshwari, D. K., Dheeman, S., and Agarwal, M. (2015). “Phytohormoneproducing PGPR for sustainable agriculture,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (Cham: Springer), 159–182. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_7

Référence Bibliographique

- Maheshwari, D. K., Dheeman, S., and Agarwal, M. (2015).** “Phytohormoneproducing PGPR for sustainable agriculture,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (Cham: Springer), 159–182. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_7
- Mcneer, DH Jr. (2013).** La rhizosphère-racines, le sol et tout le reste. *Nat. Educ. Knowl.* 4:1.Disponible en ligne à: <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-rhizosphere-roots-soil-and-67500617> Google Scholar
- 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.
- Nagorska.K, Bikowski.M, Obuchowski.M (2007).** Multicellular behavior and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrôle agent. *Acta Biochimica Polonica*, 54: 495-508.
- Narula, N., A. Deubel, W. Gans, RK.Behlet W. Merbach (2006).** Paranodules and colonization of wheat roots by phytohormone producing bacteria in soil. *Plant Soil Environ.*, 52: 119–129
- Neilands, JB. et SA. Leong (1986).** Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 37: 187-208.
- Neilands, JB., K. Konopka, B. Schwyn, M. Coy, , RT. Francis, BH. Paw (1987).** Comparative biochemistry of microbial iron assimilation. In: *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals*. Winkelmann, G., van der Helm, D., and Neilands, J.B. (eds). Weinheim: VCH-Verlagsgesellschaft, pp. 3-33.
- O’Brien, J. A., Vega, A., Bouguyon, E., Krouk, G., Gojon, A., Coruzzi, G., et al.(2016).** Nitrate transport, sensing, and responses in plants. *Mol. Plant* 9, 837–856. doi: 10.1016/j.molp.2016.05.004
- Oldroyd, GE., EM. Engstrom, SR. Long (2001).** Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*. *Plant cell.*13:1835–1849.
- Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., and Vangronsveld, J. (2020).** Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: a methodical review. *Sci. Total Environ.* 743:140682. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140682
- Ongena, M., A. Giger, P. Jacques, J. Dommes et P. Thonart (2002).** Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean by *Pseudomonas putida* BTP1. *Euro. J. Plant Pathol.*, 108: 187-196.

Référence Bibliographique

- Ongena, M., Daayf, F., Jacques, P., Thonart, P., Benhamou, N., Paulitz, T. C. and Bélanger, R. R (2000).** Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent *Pseudomonads*. *Plant Pathol.* 49:523-530.
- Osugi, A., and Sakakibara, H. (2015).** Q&A: how do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol.* 13:120. doi: 10.1186/s12915-015-0214-5
- O'Sullivan, D. J., & O'Gara, F. (1991).** Regulation of iron assimilation: nucleotide sequence analysis of an iron-regulated promoter from a fluorescent pseudomonad. *Mol. Gen. Genet.* 228: 1-8.
- Penrose, D.M. et Glick BR (2001).** Levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in exudates and extracts of canola seeds treated with plant growth-promoting bacteria. *Can. J. Microbiol.*47:368–372.
- Perry J.J., staley J.T., Lory S., (2004).** *Microbiologie*. Edition Dunod, Paris.
- Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q. and Gullino, M.L., 1997.** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3):131-140.
- Podile, AR. et GK. Kishore (2006).** Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam SS (ed) *Plant-associated bacteria: rhizosphere bacteria*. Springer, Netherlands, pp 195–230
- Premachandra, D., Hudek, L., and Brau, L. (2016).** Bacterial modes of action for enhancing of plant growth. *J. Biotechnol. Biomat.* 6, 1–8. doi: 10.4172/2155-952X.1000236
- Probanza.A, Lucas Garcia.JA, et a l(2002).** Pinus pineal seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus*. *Applied Soil Ecology*, 20: 75-84.
- Raafat, D., and Sahl, H.-G. (2009).** Chitosan and its antimicrobial potential - a critical literature survey. *Microb. Biotechnol.* 2, 186–201
- Rodríguez, H. and Fraga, R. (1999).** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17 (4-5) : 319–339.
- Ryu, R. et C.L. Patten (2008).** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am. Soc. Microbiol.*, 19: 1-35.
- Saharan BS. et V. Nehra (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, Volume 2011: LSMR-21.

Référence Bibliographique

Sahin F, R. Cakmakci et F. Kantar (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant Soil*, 265:123–129.

Saraf, M., Jha, C. K., and Patel, D. (2010). “The role of ACC deaminase producing PGPR in sustainable agriculture,” in *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*, edD. Maheshwari (Berlin, Heidelberg: Springer), 365–385. doi: 10.1007/978-3-642-13612-2_16

Saxena, A.K et KVBR. Tilak (1998). Free-living nitrogen fixers: Its role in crop production. In: *Microbes for Health, Wealth and Sustainable Environment*, Malhotra Publ Co, New Delhi. Edited by Verma AK, 25–64.

Schultze et Kondorosi, 1998. Rhizobium produces a family of sulfated lipodigosaccharides exhibiting, USA, 89 : 192-196 pp

Seshadri, B., Bolan, N.S. & Naidu, R. (2015). Rhizosphere-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation, Centre for Environmental Risk Assessment and Remediation, University of South Australia, *M Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15(2): 524-548.

Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar R. Sharma (2007). Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seed and seedling growth. *J. Herb. Med. Toxicol.*, 1: 61-63.

Subba Rao N. S. 1977, In: *Soil Microorganisms and Plant Growth*, Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi, Pages 254-255.

Subbarao, N.S (1988). Phosphate solubilizing micro-organism. In: *Biofertilizer in agriculture and forestry*. Regional Biofertilizer Development Centre, Hissar, India, pp 133–142.

Suslow, T.V. 1982. Rôle of root-colonizing bacteria in plant growth. Pages 187-222 in M.S. Mount et G.H. Lacy. (réds.), *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 1. Académie Press, New York.

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., and Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102–117.

Thanh Van Nguyen, Daniel Wibberg, Theoden Vigil-Stenman, Fede Berckx, Kai Battenberg, Kirill N Demchenko, Jochen Blom, Maria P Fernandez, Takashi Yamanaka, Alison M Berry, Jörn Kalinowski, Andreas Brachmann, Katharina Pawlowski. 2019. Frankia-Enriched Metagenomes from the Earliest Diverging Symbiotic

Référence Bibliographique

Frankia Cluster: They Come in Teams. *Genome Biology and Evolution*, August 2019, Pages 2273–2291, <https://doi.org/10.1093/gbe/evz153>

Thomas, J., Kim, H. R., Rahmatallah, Y., Wiggins, G., Yang, Q., Singh, R., et al. (2019). RNA-seq reveals differentially expressed genes in rice (*Oryzasativa*) roots during interactions with plant-growth promoting bacteria, *Azospirillum*

Van Loon, L.C; Bakker, P.A; Pieterse, C.M. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.

Vessey, J.K (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255: 571–586.

Wong, W., Tan, S., Ge, L., Chen, X., and Yong, J. (2015). “The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, ed D. Maheshwari (Cham: Springer), 105–158. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_6

Annexe

Annexes

Listes des annexes

Annexe 1: composition des milieux de cultures

1.1.Milieu GN (gélose déshydraté nutritive)

H ₂ O	2.5L
Gélose déshydraté nutritive (GN)	57.5g

1.2.L'eau physiologique

Eau distillée	1.6L
NaCl	14.4 g/L

1.3.Milieu LB liquide

Eau distillée	1.1L
NaCl	11g
Peptone	11g
Extrait de levures	5.5g
PH	7

1.3.1 Milieu LB liquide + tryptophane

Milieu LB liquide	400 ml
tryptophane	0.2 g

1.4.Yeast-Mannitol-Agar (YMA)

K ₂ HPO ₄	0.2 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.08 g
NaCl	0.04 g
Mannitol	4 g
Extrait de levures	0.2 g
Eau distillée	400 ml
Agar	6 g
PH	6.9

Annexes

1.4.1 Yeast-Mannitol-Agar (YMA) + Rouge Congo

Yeast-Mannitol-Agar (YMA)	200 ml
Rouge Congo	10 ml

1.5. Milieu NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate)

Glucose	4 g
Mgcl ₂ H ₂ O	2 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.1 g
Kcl	0.08 g
(NH ₄) SO ₄	0.4 g
Phytate	2 g
H ₂ O	400 ml
Agar	6 g
PH	7

1.6. Milieu king A

Peptone	4 g
Glycérol	2 ml
K ₂ SO ₄	2 g
Mgcl ₂	0.28 g
H ₂ O	200 ml
Agar	3 g
PH	7.1

1.7. Milieu king B

Peptone	4 g
Glycérol	2 ml
K ₂ HPO ₄	0.3 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.3 g
H ₂ O	200 ml
Agar	3 g

Annexes

PH	7.2
----	-----

1.8. Burk's N free

K ₂ HPO ₄	0.2 g
KH ₂ PO ₄	0.16 g
Na ₂ (SO ₄)	0.02 g
Cacl ₂	0.08 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.04 g
Fe SO ₄ 7H ₂ O	0.002 g
Molybdate	0.0012 g
H ₂ O	400 ml
Agar	6 g
PH	7

1.9. Milieu BK 131

Peptone	4 g
NaCl	2 g
K ₂ HPO ₄	1.424 g
KH ₂ PO ₄	0.6 g
H ₂ O	400 ml
PH	7

1.10. Dosage d'auxine

Acide sulfurique	44.4 ml
Fe cl ₃	1.2 g
H ₂ O	55.6 ml

1.11. Réactif de nessler

KI	1.75 g
Hgl ₂	2.5 g
NaOH	4 g
H ₂ O	25 ml

Annexes

1.12. Résultats des la réponse des bactéries sur différents milieux

Souches	YMA	King A	King B	Phytate	Burk's
KR1	+	-	-	+	+
KR2	+	-	-	-	+
KR3	+	-	-	-	+
KR4	-	-	-	-	+
KR5	+	-	-	+	+
KR6	-	-	-	+	+
KR7	+	-	-	+	+
KR8	+	-	-	+	+
KS1	+	-	-	+	-
KS2	+	-	-	-	+
KS3	-	-	-	+	+
KS4	-	-	-	+	+
KS5	+	-	-	+	+
AR1	+	-	-	-	-
AR2	-	-	-	+	+
AR3	+	-	-	-	+
AR4	+	-	-	+	+
AR5	+	-	-	+	+
AR6	+	-	-	+	+
AS1	+	-	-	+	+
AS2	-	-	-	+	+
AS3	-	-	-	+	+
AS4	-	-	-	+	+
AS5	+	+	-	-	+
AS6	-	-	-	+	+
AS7	-	-	-	+	+
AS8	+	-	-	+	+
AS9	-	-	-	-	-
AS10	+	-	-	+	-
AS11	+	-	-	-	-

Annexe : coloration de gram (Hans Christian Gram, 1884)

Déposer une goutte d'eau sur une lame bien propre.

2. Prélever un échantillon de colonie à l'aide d'une anse et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur flamme d'un bec benzène.

3. Couvrir les frottis par violet de gentiane pendant 60 seconds.

4. Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.

5. Couvrir avec du lugol pendant 30 secondes.

6. Laver à l'eau distillée pendant 5secondes.

Annexes

7. Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool-acétone ou avec de l'éthanol en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette.
8. Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
9. Couvrir avec la fuschine (ou sarfanine) pendant 60 secondes.
10. Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes et mettre la lame inclinée sur du papier absorbant.
11. Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement. Les cellules Gram+ absorbant la couleur du violet de gentiane et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

CaraCtérisation de quel ques modes d'action des PGPR chez des souches isol ées des deux régions de l a wil aya de constantine

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Résumé :

Le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'échanges intenses entre la plante et le milieu environnant ou se trouve des bactéries qui colonisent les racines de façon intense appelés les rhizobactérie. Certaines bactéries sont reconnues pour posséder certaines caractéristiques bénéfiques pour les plantes soit au niveau du contrôle des pathogènes soit au niveau de l'augmentation et l'amélioration de la croissance. Plusieurs genres bactériens sont reconnus pour être capables d'aider la croissance des plantes et sont regroupés sous le nom de PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Il est possible d'utiliser les PGPR comme des biofertilisants ou des biopesticides pour les plantes pour remplacer l'utilisation des produits chimiques et sauver l'environnement et la santé du consommateur.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à caractériser 30 souches bactériennes isolées à partir de la rhizosphère et le rhizoplan de blé dur (*Triticum durum*), à partir des deux régions de Constantine (El Khroub et Ain Abid), dans le but de caractériser leur propriétés morphologiques et phénotypiques, ainsi que leurs caractéristiques de PGPR. Nous avons réalisé plusieurs tests et nous avons déterminé les souches capables de produire l'auxine, de solubiliser la phytate et de produire l'ammoniaque. Les résultats obtenus vont nous servir pour sélectionner et classer les bactéries les plus performantes pour stimuler la croissance de la plante.

Mots clés : PGPR, Modes d'action, Rhizosphère, Rhizoplan.

Laboratoire de recherche : Génétique, biochimie et biotechnologies végétales

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. MAOUGAL R. T (M.C.B – INATAA UFM Constantine),
Encadrant : Dr. KECHID M (M.C.B -INATAA UFM Constantine),
Examineur : Mr. TEMAGOULT M. (M.A.A – SNV UFM Constantine).

Date de soutenance : 08/07/2021