

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Effets des PGPR et les méthodes utilisées pour leur  
caractérisation**

---

Présenté par : RAHIM Ines

Le 29/06/2022

FETIMI Feyrouz

Jury d'évaluation:

Encadreur : RIAH Nassira

(MCA-UFM Constantine 1)

Examineur 1 : BOULTIFAT Linda

(MCB-UFM Constantine 1)

Examineur 2 : MEGHNOUS Ouissem

(MAB-UFM Constantine 1)

Année universitaire  
2021 - 2022

## Remerciements

A première vue, louange à Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Nos remerciements les plus chaleureux et les plus profonds, un merci spécial à notre encadreur Mme. RIAH Nassira, de nous avoir suivi et dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Aussi, nous la remercions pour sa disponibilité permanente, pour son orientation efficace et pour ses idées originales qui ont servi à enrichir ce mémoire.

Nous remercions sincèrement Mme BOULTIFAT Linda, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée d'examiner notre travail.

Nous tenons également à remercier Mme MEGHNOUS Ouissem pour sa participation à l'évaluation du présent travail.

Nos dernières pensées sont les parents qui ont souffert dans les coulisses...Merci pour l'intérêt que vous portez à notre travail, votre patience, soutien et vos encouragements à travers les mots doux et les prières, nous ont permis de ne jamais baisser les bras et d'atteindre notre but.

Enfin, nous remercions très sincèrement tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

## DEDICACES

*C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :*

*A l'être le plus cher de ma vie, à la source d'amour incessible, à ma mère qui ma  
bénie par ces prières.*

*A mon support dans ma vie, mon père.*

*Ce projet de fin d'étude représente l'aboutissement du soutien et des encouragements  
de mes parents qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité, et qui sont  
l'origine de ma réussite que dieu les garde et les protège.*

*A mes tantes Sakina ,Souhaila,A mon frère Ahmed et mes sœurs ( Houda, Doaa  
.Assil) qui m'ont toujours encouragé.*

*A mon encadreur Mme Nassira Riach qui m'a dirigé tout au long de ce travail et  
m'avoir fait bénéficier de son expérience et de ce  
Précieux conseils.*

*A tous mes enseignants que je leurs préserve beaucoup de respect et de  
Considération.*

*A mon chère ami Aya et toutes mes amies surtout Nihad .*

*A toutes mes cousines (Amira , Leila , Chaima )*

*A tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenu.*

*Feyrouz*

## DEDICACES

*En ces moments précieux, je tiens à dédier ce travail fruit de labeur et sueur  
A mon papa, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années  
des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de  
l'aide et à me protéger.*

*A ma MAMAN chérie qui m'a beaucoup aidée dans mes études et qui a  
toujours été présente dans les moments sombres de ma vie. Elle m'a apporté  
soutient, amour, tendresse et douceur.*

*Que dieu les garde et les protège.*

*A mes chères sœurs : La gracieuse SAMIA et ses adorables filles SIRINE et  
ARIDJE.*

*Chère LAMIA et ses merveilleux enfants ANIS et ASSIL.*

*Mon âme sœur MERIEM ma meilleure amie et son mari TAKI.*

*A mon unique frère ABD EL HAMID.*

*Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon encadreur Mme Nassira Rjah qui m'a dirigé tout au long de ce travail  
et m'avoir fait bénéficier de son expérience et de ces Précieux conseils.*

*A ma meilleure amie MARWA.*

*A tous mes cousins et cousines spécialement RAHMA*

*À tous ceux qui me sont chers.*

*À tous ceux qui m'aiment.*

**INES**

## Résumé

Les rhizobactéries sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère connues sous le terme de PGPR « *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* ». Elles interviennent positivement sur la croissance des plantes. Cette étude est une revue bibliographique des recherches menées sur les PGPR (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Frankia*, *Rhizobium*, etc.), leur mode d'action et quelques méthodes utilisées pour leur caractérisation. Les PGPR stimulent directement le métabolisme de la plante, en augmentant la biodisponibilité des éléments nutritifs du sol, comme le fer, le phosphore l'azote, et la production des phytohormones (AIA, cytokinines et gibbérellines). Certaines PGPR stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste, en produisant des antibiotiques, des enzymes lytiques, ainsi que le contrôle de la croissance des pathogènes par la compétition nutritionnelle (compétition pour le fer). Elles augmentent aussi la résistance des plantes contre les agents pathogènes par l'activation de la résistance systémique induite (ISR pour *Induced Systemic Resistance*). Dans ce travail, certaines méthodes de caractérisation de quelques modes d'action des PGPR ont aussi été décrites.

**Mots clés :** PGPR, rhizosphère, modes d'action des PGPR, méthodes de caractérisation des PGPR.

## **Abstract**

Rhizobacteria are defined as bacteria present in the rhizosphere, known as PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). They have a positive effect on plant growth. This study is a bibliographic review of the research conducted on PGPR (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Frankia*, *Rhizobium*, etc.), their mode of action and some of the methods used to characterize them. PGPR directly stimulate plant metabolism, increasing the bioavailability of soil nutrients such as iron, phosphorus and nitrogen, and the production of phytohormones (IAA, cytokinins and gibberellins). Some PGPR indirectly stimulate plant growth through their antagonistic effect, producing antibiotics, lytic enzymes, as well as controlling pathogen growth through nutritional competition (competition for iron). They also increase plant resistance against pathogens by activating Systemic Induced Resistance (SIR). In this work, we describe methods to characterize some modes of action of PGPR.

**Keywords :** PGPR, rhizosphère, modes of action of PGPR, methods for characterizing PGPR.

## ملخص

تُعرّف الريزوبيكتيريا على أنها البكتيريا الموجودة في منطقة الجذور والتي يطلق عليها PGPR "الريزوبيكتيريا المعززة لنمو النبات". تتميز بالتأثير الإيجابي على نمو النبات. هذه الدراسة عبارة عن مراجعة بيليوغرافية للبحوث التي أجريت على PGPR (*Bacillus*، *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Frankia*، *Rhizobium*، إلخ)، ودراسة طريقة عملها وكذا بعض الطرق المستخدمة في توصيفها. تعمل PGPR على تحفيز عملية التمثيل الغذائي بشكل مباشر، عن طريق زيادة التوافر البيولوجي لمغذيات التربة، مثل الحديد والفسفور والنيروجين بالإضافة إلى إنتاج الهرمونات النباتية (AIA)، السيبتوكينينات والجبريلينات). بعض PGPR تحفز بشكل غير مباشر نمو النبات من خلال تأثيرها المضاد، عن طريق إنتاج المضادات الحيوية، والإنزيمات المحللة، وكذلك السيطرة على نمو مسببات الأمراض عن طريق المنافسة الغذائية (التنافس على الحديد). كما أنها تزيد من مقاومة النباتات ضد مسببات الأمراض من خلال تنشيط المقاومة الجهازية المستحثة (ISR). في هذا العمل، تم أيضًا وصف طرق معينة لتوصيف بعض أساليب عمل PGPR.

الكلمات المفتاحية: PGPR، الريزوسفير، طرق العمل PGPR، طرق توصيف PGPR.

## Table des figures

Figure 1: Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère .....	3
Figure 2: Mécanismes directs (Biofertilisation, Solubilisation des nutriments et phytostimulation).	12
Figure 3: Mécanismes de biocontrôle des phytopathogènes.....	13
Figure 4: Rôle de l'AIA dans l'amélioration de la croissance végétale .....	16
Figure 5: Mécanisme d'action de l'ACC désaminase sur la production de l'éthylène par la plante sous stress abiotiques . .....	18
Figure 6: Fonctions biologiques des sidérophores . .....	21
Figure 7: Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu liquide.....	23
Figure 8: Résultats de quelques isolats à produire l'ammoniac (NH <sub>3</sub> ).....	27



## Liste des abréviations

**ACC** : AminoCyclopropane-1-Carboxylate

**AIA** : Acide indole acétique

**BNF** : *Biological Nitrogen fixation*

**CK** : . Cytokinine

**COV** : Composés organiques volatils

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

**GA** : Gibbérelline

**ISR** : Résistance systémique induite

**MOS** : Matière organique du sol

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**: Ammonium

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**: Nitrate

**PGPR** : *Plant growth promoting rhizobacteria* (Bactéries promotrices de la Croissance des Plantes)

**PSB** : Phosphate-solubilizing bacteria

**SAR** : Résistance systémique acquise

## Table des matières

Remerciements	
DEDICACES	
DEDICACES	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Table des figures	
Liste des abréviations	

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
---------------------	----------

### **Chapitre I : Généralités sur la rhizosphère**

1. Sol	2
2. Définition de la rhizosphère	3
3. microorganismes de la rhizosphère	4
3.1. Bactéries de la rhizosphère	5
3.2. Champignons	5
4. Interactions dans la rhizosphère	5
4.1. Interactions entre les microorganismes	5
4.2. Interaction plantes –microorganismes	6
5. Intérêt agronomique de la rhizosphère	6
5.1. Assimilation des éléments nutritifs	6
5.2. Structuration des sols propice aux cultures	6
5.3. Production de molécules bénéfiques au développement de la plante	7
5.4. Résistance aux stress abiotiques	7
6. Effet rhizosphérique	7
6.1. Exsudats racinaires	8
6.2. Lysats	8
6.3. Mucilage	8
6.4. Les gaz	8

## Chapitre II : Effets directs et indirects des PGPR

1. Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)	9
1.1. Historique	9
1.2. Définition	9
1.3. Différents genres des PGPR	9
1.3.1. <i>Azospirillum</i>	9
1.3.2. <i>Bacillus</i>	10
1.3.3. <i>Pseudomonas</i>	10
1.3.4. <i>Rhizobium</i>	10
1.3.5. <i>Frankia</i>	11
2. Mode d'action des PGPR	11
2.1. Mode d'action direct	13
2.1.1. Fixation d'azote	13
2.1.2. Solubilisation du phosphate	13
2.1.3. Solubilisation du potassium	14
2.1.4. Production des phytohormones	15
2.1.4.1. Acide indoleacétique (AIA)	15
2.1.4.2. Gibbérelline (GA)	16
2.1.4.3. Cytokinine(CK)	17
2.1.4.4. Régulation d'éthylène et production d'ACC désaminase	17
2.2. Mode indirect	18
2.2.1. Synthèse des antibiotiques et des enzymes lytiques	18
2.2.2. Compétition dans la rhizosphère	19
2.2.3. Résistance systémique induite (ISR)	19
2.3. Composés à double activité (directe et indirecte)	20
2.3.1. Sidérophores	20
2.3.2. Composés organiques volatils (COV)	21
3. Caractéristiques d'une PGPR idéale	21
4. Effet des PGPR sur la croissance végétale	21
4.1. Rendement	22
4.2. Enracinement des boutures	22
4.3. Absorption des nutriments	22

### **Chapitre III : Méthodes utilisées pour la caractérisation des PGPR**

1. Production de l'acide indole acétique (AIA)	23
1.1. Estimation de la production d'AIA	23
1.2. Quantification de l'AIA	23
2. Solubilisation de la phytate	24
3. Solubilisation du phosphate	24
4. Production de sidérophores sur milieu liquide et solide	25
4.1 Production de sidérophores sur milieu liquide	25
4.2 Production de sidérophores sur milieu solide	25
5. Fixation d'azote	26
6. Dosage de l'activité nitrate réductase	26
7. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)	27
8. Production d'ammoniac (NH <sub>3</sub> )	27
<b>Conclusion</b>	<b>29</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>30</b>
<b>Annexes</b>	<b>35</b>

# *Introduction*

Le sol est un réservoir de microorganismes, en termes de diversité et de densité. Il a été estimé qu'un gramme de sol est constitué de  $10^{10}$  à  $10^{11}$  bactéries, et de 6 000 à 5 000 espèces bactériennes (Horner-Devine et al., 2003). Parmi les microorganismes établissant une symbiose associative avec la plante, se trouve un ensemble de bactéries à effets bénéfiques, il existe notamment des bactéries dont l'effet global favorise la croissance des plantes, appelées PGPR (Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes), elles sont présentes dans une zone d'interface entre la plante et le sol, appelée rhizosphère (Qureshi, 2012).

Ces rhizobactéries libres ou liées, colonisent les racines, stimulent la croissance des plantes et augmentent leur rendement. Certaines de ces bactéries PGPR sont utilisées en tant qu'inoculum pour améliorer le développement des racines. De nombreux travaux ont montré que ces rhizobactéries interviennent aussi dans le biocontrôle de la plante par la diminution des effets délétères des phytopathogènes, et l'activation de la résistance systémique induite chez la plante (Fischer *et al.*, 2009).

Les PGPR interviennent directement ou indirectement dans la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes. Les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement son métabolisme en améliorant la biodisponibilité des éléments nutritifs (azote, phosphate, potassium) et synthétisant des phytohormones (auxine, cytokinine...). Tandis que les mécanismes indirects sont généralement ceux qui se produisent en dehors de la plante. Ils permettent l'inhibition des pathogènes par l'antagonisme en produisant des antibiotiques et des enzymes lytiques. Ainsi qu'ils contrôlent la croissance des pathogènes par la compétition pour les éléments nutritifs (compétition pour le fer...) et l'activation de la résistance systémique induite chez la plante hôte.

Dans ce travail, nous avons abordé une étude bibliographique sur les effets des PGPR et les méthodes utilisées pour leur caractérisation. Ce manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités sur la rhizosphère
- Le deuxième représente les méthodes des effets directs et indirects des PGPR.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation des méthodes utilisées pour la caractérisation des PGPR.

# *Chapitre I :*

## *Généralités sur la rhizosphère*

## 1. Sol

Le sol est la couche supérieure de la croûte terrestre, composée de matière minérale, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes. Il dispose de son atmosphère interne, ainsi que d'une flore et d'une faune spécifiques. Le sol est un réservoir microbien important, qui contient une flore microbienne complexe et diversifiée, joue un rôle important dans l'écosystème terrestre et les organismes multicellulaires qui y vivent. Les plantes bénéficient de l'influence directe et/ou indirecte des micro-organismes, notamment la flore de la rhizosphère (Munees et Mulugeta, 2014).

## 2. Définition de la rhizosphère

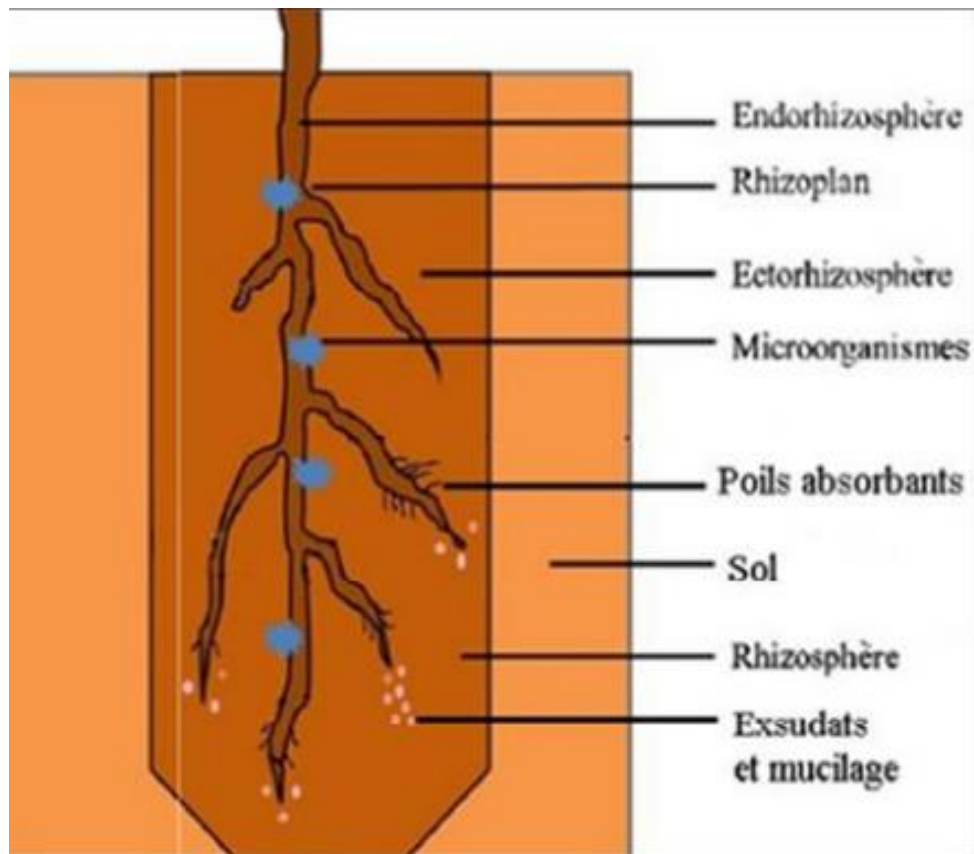
Le terme rhizosphère a été introduit par Lorenz Hiltner en 1904 (Bactériologiste du sol et professeur d'agronomie à Munich), qui a défini la rhizosphère comme étant le volume du sol entourant les racines influencé directement par les racines des plantes vivantes. La rhizosphère est l'un des écosystèmes les plus complexes, hétérogène, dynamique et interactif où les microorganismes et les plantes interagissent pour utiliser des quantités limitées de micro et macronutriments dans le sol, affectant ainsi la croissance des plantes (Gholami *et al.*, 2012).

Cependant, cette mince couche peut être affectée par les contraintes du sol, sa salinisation, son eutrophisation ou sa pollution, ou encore par des phénomènes d'acidification.

La rhizosphère comporte trois zones, qui interagissent ensemble (Figure 1) :

- L'ectorrhizosphère ou sol rhizosphérique : correspond à la fine couche de sol qui adhère fermement aux racines. Cette zone est influencée par les exsudats racinaires qui influencent l'activité microbiologique.
- Le rhizoplan ou surface des racines dont la microflore est extraite par agitation vigoureuse des racines.
- L'endorrhizosphère ou tissus racinaires ; dans cette zone certains microorganismes sont capables de coloniser les racines et influencer leur (Seshadri et al., 2015) croissance .





**Figure 1:** Diagramme d'une racine et structure de la rhizosphère (Seshadri *et al.*, 2015)

### 3. Microorganismes de la rhizosphère

La rhizosphère est une niche écologique, riche en glucides, acides aminés, acides organiques, isoflavones, régulateurs de croissance et enzymes libérés par les plantes, faisant de ce microenvironnement un site d'activité biologique importante et riche en vers de terre, nématodes, protozoaires, algues, champignons et bactéries (Pierson et Pierson, 2000).

Les bactéries et les champignons sont les deux principaux groupes en quantité et en diversité de microorganismes trouvés dans la rhizosphère. Ils se répartissent en familles, genres et espèces, mais aussi en communautés et groupes physiologiques constitués de diverses populations possédant en commun une ou plusieurs activités métaboliques bien définies. Ils mettent en œuvre des stratégies nutritionnelles et énergétiques très diverses qui leur permettent d'utiliser des produits organiques (microorganismes dits chimioorganotrophes ou hétérotrophes) et des composés minéraux (bactéries dites chimiolithotrophes ou autotrophes), en présence et en absence d'oxygène (Lemanceau, 1992).

De nombreux micro-organismes jouent un rôle significatif sur la santé des plantes. Parmi les interactions bénéfiques aux plantes, on peut citer la symbiose *Rhizobium*-légumineuse et la

symbiose mycorhizienne qui est contractée par les racines des végétaux avec certains champignons du sol. Toutefois, certains microorganismes sont nuisibles, d'autres semblent n'avoir aucun effet (Germida *et al.*, 1998).

D'une façon générale, la structure des racines et la composition des exsudats racinaires changent durant le développement de la plante et sous l'effet des conditions environnementales telles que la salinité ; le stress hydrique, la température etc. En effet, les plantes, grâce à l'émission des signaux spécifiques, exercent une pression sélective qui tend généralement à réduire la diversité microbienne et à favoriser des espèces ou des souches particulières (Bertrand *et al.*, 2000).

### **3.1. Bactéries de la rhizosphère**

Les bactéries de la rhizosphère, dits rhizobactéries, sont capables de coloniser l'intérieur ou l'extérieur des racines de nombreuses espèces des plantes. Diverses bactéries sont capables de fixer l'azote atmosphérique, le rendant disponible pour les plantes. Certaines font des relations symbiotiques avec les légumineuses (Exemple : *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, etc.), tandis que d'autres vivent librement dans l'environnement (*Azospirillum* spp, *Bacillus* spp et *Pseudomonas* spp) (Lemanceau, 1992).

Certaines bactéries sont étroitement associées à la surface de la racine et résident dans les racines, elles sont généralement très compétitives capables de coloniser le système racinaire riche en éléments nutritifs, elles sont souvent mentionnées comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, connues sous le terme RFCP (Beauchamp, 1993), en anglais PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Kloepper *et al.*, 1989). D'autres bactéries jouent également un rôle important dans le cycle de certains éléments fertilisants, comme les bactéries nitrifiantes (*Nitrosomonas* et *Nitrobacter*) ou les bactéries acidifiantes du cycle du soufre (*Thiobacillus*).

Diverses bactéries sont pathogènes et peuvent causer de graves dommages aux cultures, telles que : *Erwinia* sur les carottes, *Xanthomonas* sur les fraises, *Pseudomonas* sur les cucurbitacées, *Streptomyces scabies* sur la pomme de terre, *Agrobacterium tumefaciens* sur diverses plantes.

### **3.2. Champignons**

Les champignons (*Aspergillus*, *Penicillium*, etc.) représentent plus de 50 % de la microflore totale rhizosphérique. Divers composés acides sont produits dans la rhizosphère au cours de la

biodégradation de matières organiques d'origine végétale, qu'ils utilisent comme source de carbone et d'énergie .

#### **4. Interactions dans la rhizosphère**

Il existe différentes interactions dans la rhizosphère. Les processus racinaires impliqués dans ces interactions sont entre autres la rhizodécomposition, la respiration de la racine, l'absorption d'eau et des nutriments (Bazot, 2005).

##### **4.1. Interactions microorganismes-microorganismes**

Les microorganismes, en particulier les bactéries, sont souvent impliqués dans de nombreuses interactions avec d'autres microbes, notamment au niveau de la rhizosphère. Ces interactions sont généralement nutritionnelles, un micro-organisme dépend d'un autre pour dégrader un produit ou un substrat spécifique, ou différents microorganismes se font concurrence pour le même substrat.

Dans d'autres cas, un microorganisme peut avoir des effets délétères sur d'autres microorganismes, par exemple en produisant des antibiotiques ou des composés toxiques. Les interactions entre les populations microbiennes peuvent être considérées comme négatives (compétitives), positives (symbiotiques) ou positives pour une population et négatives pour une autre (parasitisme ou prédation) (Trevors *et al.*, 1997).

##### **4.2. Interaction plantes –microorganismes**

La plupart des études sur la microbiologie de la rhizosphère, en particulier celles décrivant les interactions symbiotiques plante-microorganismes, se concentrent uniquement sur les bactéries et les champignons. Par conséquent, il a été rapporté par Clémentine (2013) que ces deux microorganismes ont des habitudes nutritionnelles différentes, et diverses relations saprophytes ou symbiotiques, qu'elles soient nocives (pathogènes) ou bénéfiques (mutuelles),.

Les bactéries et les champignons saprophytes bénéfiques favorisent la croissance et la santé des plantes. Les symbiotes mutualistes bénéfiques pour les plantes comprennent les bactéries fixatrices d'azote (N<sub>2</sub>) et les champignons mycorhiziens arbusculaires (Barea *et al.*, 2005).

## **5. Intérêt agronomique de la rhizosphère**

Le sol est un milieu vivant dans lequel évoluent de nombreux organismes. Sa qualité dépend en grande partie de l'activité, de la diversité et de l'équilibre existant entre les différents organismes vivants qui le composent. Du plus grand au plus petit, chacun remplit des fonctions primordiales à la vie du sol, et donc à celle de la plante. Chaque micro-organisme est différent et possède ses propres caractéristiques. Par les mécanismes qu'ils mettent en œuvre, ils provoquent des réactions spécifiques chez la plante, en fonction de leur nature. Quatre grands types d'effets peuvent être observés (Agronutrition, 2022).

### **5.1. Assimilation des éléments nutritifs**

Certains éléments nutritifs sont présents dans le sol mais ne sont pas physiquement disponibles pour la plante, car ils se présentent sous une forme non assimilable, ou car ils sont matériellement trop éloignés des racines. Des microorganismes comme les bactéries solubilisatrices du phosphore ou les bactéries fixatrices d'azote permettent de rendre ces éléments biodisponibles pour la plante, grâce à leur propriété et leur action dans le sol. D'autres comme les champignons endomycorhiziens, permettent d'agrandir indirectement le réseau racinaire dans le but de rapprocher les nutriments de la plante (Agronutrition, 2022).

### **5.2. Structuration des sols propice aux cultures**

Au moyen des différentes molécules qu'ils secrètent ou par le biais de leur propre morphologie (bactéries filamenteuses,...), les microorganismes telluriques permettent d'améliorer la structure du sol, leurs mouvements et interactions créent une meilleure aération et cohésion du sol, ce qui assure un environnement plus propice au développement de la plante et permet ainsi de limiter les phénomènes de lessivage et d'érosion (Agronutrition, 2022).

### **5.3. Production de molécules bénéfiques au développement de la plante**

Les micro-organismes libèrent dans leur environnement des molécules ayant des effets bénéfiques pour la plante (Agronutrition, 2022) :

- Les auxines : agissent sur l'élongation cellulaire, la croissance des apex et des racines (principales, secondaires et poils absorbants).
- Les gibbérellines : initient le bourgeonnement, la croissance des tiges, la floraison et la croissance des fruits.

- Les cytokinines : ont une action beaucoup plus centralisée autour de la feuille (activation de la production de chlorophylle, ouverture des feuilles, croissance cellulaire, morphogénèse, etc.).

#### **5.4. Résistance aux stress abiotiques**

Les micro-organismes agissent de manière positive sur l'état nutritionnel, la croissance et l'environnement de la plante. Ces améliorations permettent aux cultures de devenir plus résistantes aux divers stress biotiques qui les entourent : piétinement, sécheresse, salinité, chaleur, etc. En « boostant » son environnement et son état général, la plante devient ainsi naturellement plus résistante (Agronutrition, 2022).

### **6. Effet rhizosphérique**

L'effet rhizosphérique est déterminé par la libération de différents composés organiques regroupés sous le terme rhizodéposition. La rhizodéposition comprend différents composés organiques, certains libérés de façon active (sécrétions, mucilages,) d'autres de façon passive (exsudats, lysats, mucigel) (Stengel *et al.*, 1998).

Le sol, est milieu vivant composé de nombreux microorganismes de nature hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils ont besoin d'une source de carbone organique pour leur croissance. Le carbone organique libéré dans la rhizosphère est une source importante de nutriments pour ces microorganismes (Clémentine, 2013).

Les racines des plantes sont le principal composant biologique du système souterrain et le principal formateur du sol. Les processus largement contrôlés ou directement influencés par le système racinaire sont souvent appelés processus de la rhizosphère. Ces processus peuvent inclure l'exsudation, l'absorption d'eau, la mobilisation des nutriments, la décomposition de la matière organique du sol (MOS) associée à la rhizosphère et la respiration de la rhizosphère (Chang, 2008).

#### **6.1. Exsudats racinaires**

Les exsudats racinaires représentent la partie la plus importante des substances libérées par les racines. Ces exsudats sont les plus rapidement métabolisés par les microorganismes. Ils sont généralement composés de sucres, d'acides aminés, de facteurs de croissance, de vitamines, d'enzymes et d'acides organiques. Ils agissent en stimulant ou en inhibant certaines espèces.

Les sécrétions sont principalement composées de composés carbonés issus des produits de la photosynthèse, qui peuvent représenter 30 à 40 % des propriétés photosynthétiques d'une plante. L'exsudation des racines, également connue sous le nom de dépôt de la rhizosphère, affecte de manière significative la croissance des plantes et l'écologie du sol, et est également impliquée dans les processus de la rhizosphère, y compris l'acquisition de nutriments tels que le fer et le zinc (Bertin *et al.*, 2003).

D'après Plassard (2015), la composition des exsudats racinaires peut varier le long du système racinaire. Les exsudats racinaires agissent comme des messagers qui stimulent la communauté microbienne. Certains composés de la plante favorisent la croissance des bactéries bénéfiques ; d'autres affaiblissent et repoussent les bactéries nuisibles. Ils jouent un rôle important dans de nombreuses associations végétales et microbiennes, comme la symbiose des rhizobiums avec les racines des légumineuses.

## **6.2. Lysats**

Les lysats sont constitués des produits d'autolyse de cellules épidermiques sénescents et desquamées. La dégradation microbienne des parois permet de libérer le contenu cytoplasmique des cellules. On trouve dans ces produits une grande quantité de carbone organique, source d'énergie pour les microorganismes (Clémentine, 2013).

## **6.3. Mucilage**

Les mucilages sont des substances végétales, constituées d'un composé gélatineux formé de polysaccharides de poids moléculaire élevé, libérés principalement au niveau des apex voire même des poils absorbants, qui gonflent au contact de l'eau en prenant une consistance visqueuse, parfois collante (Bazot, 2005).

## **6.4. Gaz**

Les racines libèrent des composés volatils tels que le CO<sub>2</sub>, l'éthylène (phytohormone), les alcools (éthanol, méthanol) et des aldéhydes (formaldéhyde, acétaldéhyde, propionaldéhyde), qui peuvent influencer à distance la germination de spores fongiques.

Les substances libérées par les racines varient aussi bien quantitativement que qualitativement d'une variété de plante à l'autre. Elles sont d'autre part fortement influencées par tous les facteurs influençant l'activité photosynthétique et la croissance de la plante : lumière, température, teneur en eau du sol, structure du sol.

# ***Chapitre II :***

***Effets directs et indirects des PGPR***

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

### 1.1. Historique

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 (Kloepper 1981), que des souches *Pseudomonas fluorescens* ont amélioré le rendement des cultures de pommes de terre en produisant des sidérophores et des chélateurs de fer, privant les bactéries pathogènes indigènes de fer (Garcia *et al.*, 2003).

### 1.2. Définition

Les PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère, pour lesquelles un effet positif sur la physiologie végétale est reconnu. Les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, se multiplier et être compétitives vis-à-vis des autres micro-organismes, tout en stimulant la croissance des plantes (Dey *et al.*, 2004).

Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver au niveau intra ou extracellulaire (Gray et Smith, 2005). Quatre effets principaux ont été identifiés chez ces PGPR. Elles peuvent augmenter la disponibilité des éléments nutritifs, réguler la production de phytohormones, augmenter la tolérance aux stress abiotiques et inhiber les bioagresseurs par compétition (Souza, 2015).

### 1.3. Différents genres des PGPR

#### 1.3.1. *Azospirillum*

*Azospirillum* est une bactérie mobile, à Gram négatif, appartenant à l'ordre des Rhodospirillales, elle est associée avec les racines des monocotylédones, notamment des cultures importantes comme le blé, le maïs et le riz. Cette bactérie a été initialement sélectionnée par sa capacité fixatrice de l'azote atmosphérique représente un bon candidat PGPR (Antoun et Prévost., 2005).

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 (Antoun et Prévost., 2005).



### 1.3.2. *Bacillus*

Le genre bactérien *Bacillus* pourrait être intéressant à utiliser comme PGPR. C'est le plus abondant dans la rhizosphère, Ce genre bactérien appartient à la famille des *Bacillaceae* de l'ordre des Bacillales dans l'embranchement des Firmicutes. Les *Bacillus* sont des bactéries Gram positif en forme bâtonnet que l'on retrouve seul ou en pair, parfois en chaîne et occasionnellement en long filaments. Ils sont capables de la dénitrification et de la fixation d'azote (Vessey, 2003).

Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. L'activité PGPR de certaines souches a été connue depuis plusieurs années. Elles sont potentiellement utiles comme agents de lutte biologique (Nagorska *et al.*, 2007), des producteurs d'antibiotiques et capables de solubiliser le phosphate, produire de l'AIA, sidérophores et les antifongiques (Charest *et al.*, 2005).

### 1.3.3. *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* appartiennent au phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des Pseudomonales. Ce sont des bacilles à Gram négatif, droits et fins, aux extrémités arrondies, d'une taille moyenne de 2 sur 0,5 µm. Ces bactéries sont mobiles grâce à une ciliature polaire monotriche ou multitriche, elles sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme sources de carbone et d'énergie .

Les *Pseudomonas* ont une capacité élevée à coloniser la rhizosphère ainsi que les racines des plantes, elles sont capables de former des associations intimes avec leurs hôtes (Hoft et Vos, 2006). Les effets bénéfiques de la bactérisation des graines sont observés lors de l'inoculation des graines de pomme de terre (*Solanum Tuberosum*) par *P.fluorescens* et *P. putida*. Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquistes, rencontrées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (Saharan et Nohra, 2011).

### 1.3.4. *Rhizobium*

Le terme *Rhizobium* vient du grec *Rhiza* = racine et *bios* = vie, il provient de la première appellation au XIXème siècle du premier genre bactérien nodulant les légumineuses. Les *rhizobiums*, ou rhizobia, sont des bactéries aérobies du sol appartenant aux familles des *Rhizobiaceae*. Les rhizobiums sont des bactéries à Gram négatif, possédant une forme de bâtonnets de 0,6 à 0.9 µm de largeur et de 1.2 à 3 µm de longueur et non sporulant. Ceux sont des bactéries mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles pétriques (Jordan., 1984).

Elles sont capables d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des plantes de la famille des 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). Les espèces de *Sinorhizobium meliloti* ont manifesté une excellente activité antagoniste vis à vis de l'espèce fongique *Fusarium oxysporum* (Antoun et Prévost, 2005).

### 1.3.5. *Frankia*

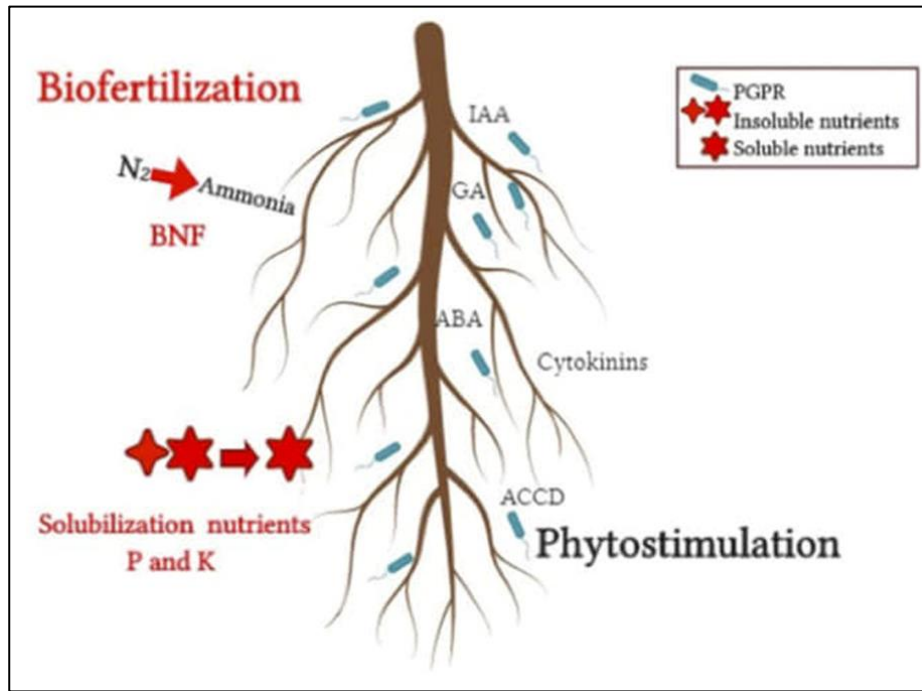
Le microsymbiote *Frankia* est une actinobactérie Gram-positive, filamenteuse peut vivre à l'état libre dans la rhizosphère ou en association symbiotique avec des plantes actinorhiziennes (Pawlowski, 2008).

## 2. Mode d'action des PGPR

Les PGPR améliorent la croissance des plantes de façon directe ou indirecte. Les mécanismes impliqués directement sont la sécrétion d'hormones (auxines, gibberellines, cytokinines, etc.) ou en facilitant l'absorption des nutriments (fixation d'azote, solubilisation de phosphate ou de potassium et synthèse de sidérophores). Indirectement, les PGPR vont aider la croissance des plantes *via* la sécrétion d'antibiotiques ou d'enzymes limitant les phytopathogènes (Antoun et Prévost, 2005).

Les PGPR sont classées en fonction de leurs activités fonctionnelles en différents groupes selon leur mode d'action soit les biofertilisants, les phytostimulateurs et les biopesticides (agent de biocontrôles).

- Un biofertilisant peut être défini comme une substance contenant des micro-organismes vivants ayant la possibilité de coloniser la rhizosphère ou l'intérieur des plantes (endophyte) et de promouvoir la croissance des plantes. Les biofertilisants améliorent l'acquisition des éléments nutritifs dans la rhizosphère, telles que la fixation biologique de l'azote, la solubilisation des phosphates etc. (Vessey, 2003) (Figure 2).
- Un phytostimulant est capable de produire des phytohormones, et des molécules organiques agissant comme régulateurs de la croissance, qui se trouvent en très faibles concentrations, telles que l'IAA, les cytokinines, les gibbérellines ou encore la production d'ACC désaminase (enzyme réduisant les niveaux d'éthylène) (Figure 2).



**Figure 2 :** Mécanismes directs (Biofertilisation, Solubilisation des nutriments et phytostimulation)

- Agents de biocontrôle (biopesticide) : sont définis comme les microorganismes capables de promouvoir la croissance des plantes principalement par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques permettant le contrôle des phytopathogènes en dégradant les polluants organiques et en luttant contre les maladies (Antoun et Prévost, 2005) (Figure 3). D'autres mécanismes peuvent être utilisés comme la compétition pour les nutriments, l'induction de la résistance systémique (ISR) et la production des sidérophores, qui sont aussi un trait de biofertilisant.

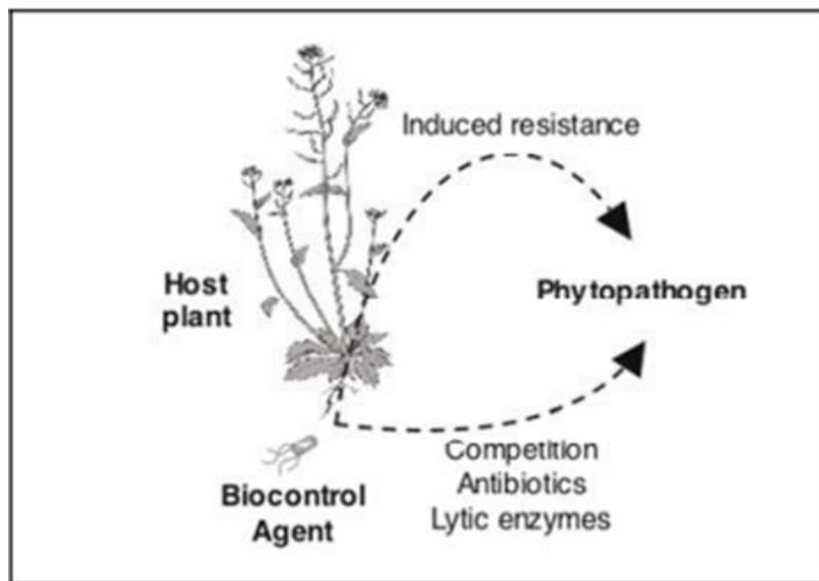


Figure 3 : Mécanismes de biocontrôle des phytopathogènes.

## 2.1. Mode d'action direct

### 2.1.1. Fixation d'azote

L'azote est un nutriment important pour plusieurs activités chez la plante et souvent un facteur limitant pour leur croissance. La fixation d'azote par les micro-organismes vivant librement, ou en association avec les plantes ou vivant en symbiose représentent la source la plus importante d'azote dans les écosystèmes naturels (Burgmann *et al.*, 2004).

Les plantes peuvent acquérir l'azote sous deux formes minérales, soit le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) ou l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) (Mantelin et Touraine, 2004). La fixation biologique de l'azote « *Biological Nitrogen fixation* » (BNF) est un processus qui utilise un système enzymatique complexe pour convertir l'azote atmosphérique en ammoniac, qui peut être utilisé par les plantes grâce à une série de réactions chimiques entre les procaryotes et les plantes.

La BNF représente environ 65 % de l'azote actuellement utilisé en agriculture. Les légumineuses peuvent produire de la BNF et répondre à leurs propres besoins en azote. La majeure partie de l'azote fixé par les légumineuses est récoltée sous forme de grains, tandis que le sol et les cultures ultérieures bénéficient également de l'azote sous forme de résidus de racines et de pousses. La plantation de légumineuses réduit considérablement la demande d'azote provenant de sources externes.

Cependant, l'efficacité de la fixation de l'azote des légumineuses varie en fonction des génotypes de l'hôte, de l'efficacité des rhizobiums, des conditions du sol et des facteurs climatiques (Gopalakrishnan *et al.*, 2015).

### 2.1.2. Solubilisation du phosphate

Le phosphore (P) est, après l'azote et le potassium, l'un des éléments nutritifs essentiels pour la croissance et le développement des végétaux. Bien que le phosphore ne soit pas rare dans les sols, il est majoritairement présent sous des formes insolubles (complexes organiques, apatite), non disponibles pour le prélèvement par les plantes. La solubilisation du phosphore représente une solution pour augmenter la concentration de P sous des formes biodisponibles ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) sans apport exogène d'engrais minéral.

Il existe pour cela des bactéries capables de solubiliser le phosphore inorganique, dites *phosphate-solubilizing bacteria* (PSB) (Zaidi *et al.*, 2015). Elles mettent en jeu des molécules de faible poids moléculaires telles que l'acide citrique, l'acide gluconique ou l'acide oxalique (Glick, 2012). Leur production est contrôlée par des métabolites secondaires libérés par les bactéries. Leur production est contrôlée par des métabolites secondaires libérés par les bactéries. Donc les microorganismes bénéfiques solubilisant le phosphore convertissent les formes insolubles en formes directement assimilable par les plantes lors de sécrétion d'acides organiques qui diminuent considérablement la valeur du pH de la rhizosphère et entraîne la dissociation des liaisons dans les composés phosphorés insolubles tels que le  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , contenu dans les sols calcaires (Afzal et Bano, 2008).

Un deuxième mécanisme de mise à disposition du P organique est réalisé *via* des phytases. Ces molécules sont des phosphatases capables d'hydrolyser des complexes organiques, les phytates, dans lesquels le P est piégé. Leur hydrolyse permet la libération de P inorganique sous forme de groupement phosphate. Des bactéries du genre *Pseudomonas*, *Bacillus*, par exemple, ont été identifiées comme contenant des phytases.

### 2.1.3. Solubilisation du potassium

La concentration du K soluble dans le sol est généralement très faible et plus de 90 % existe sous forme de roches et de silicates minéraux insolubles. Sans potassium adéquat, les plantes ont des racines mal développées, poussent lentement, produisent de petites graines et ont des rendements plus faibles. La solubilisation de K est réalisée par un grand nombre de rhizobactéries (*Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus circulans*,

*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Paenibacillus* spp.) et des souches fongiques (*Aspergillus* spp. et *Aspergillus terreus*). Le mécanisme principal de ces bactéries saprophytes est de dissoudre la roche de K en produisant et en sécrétant des acides organiques, qui favorisent la croissance des plantes (Meena *et al.*, 2014).

#### 2.1.4. Production des phytohormones

Les phytohormones sont des molécules signal qui jouent un rôle important en tant que régulateurs au cours des différentes étapes de la croissance et du développement des plantes. De même, les facteurs biotiques et abiotiques peuvent être un signal pour que les plantes régulent leurs niveaux hormonaux internes afin de réduire les effets stressants.

Cependant, en plus des plantes, plusieurs espèces de rhizobactéries produisent également des phytohormones et présentent des manifestations similaires à celles des phytohormones produites par les plantes. Traditionnellement, les hormones végétales ont été divisées en cinq classes différentes : l'auxine, les cytokinines, les gibbérélines, les acides abscissiques et l'éthylène.

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 (Kang *et al.*, 2015).

##### 2.1.4.1. Acide indole acétique (AIA)

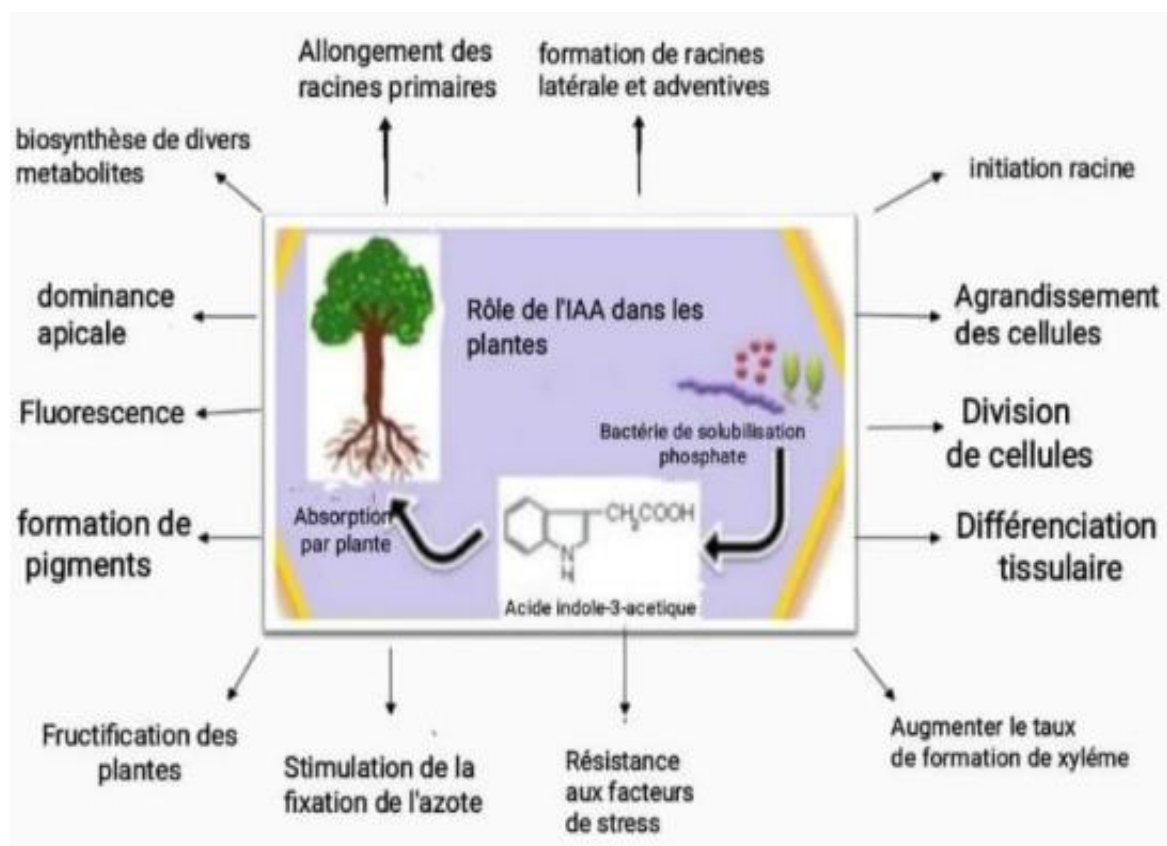
L'AIA est l'une des phytohormones les plus importantes produites par les plantes et les PGPR. Il est impliqué dans presque tous les aspects de la croissance et du développement chez la plante, tels que la germination des graines, l'initiation des racines, la division, la résistance des plantes au stress et l'élargissement cellulaire (Vessey, 2003).

La production d'AIA a été détectée chez plus de 80 % des bactéries en provenance de la rhizosphère. Parmi les espèces bactériennes capables de produire de l'AIA, on retrouve les genres *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* et *Bacillus* (Yuan *et al.*, 2011). L'IAA produit par les rhizobactéries peut favoriser ou diminuer la croissance des plantes, qui dépend des niveaux d'IAA produits et des niveaux internes d'IAA de la plante spécifique (Glick, 2012). Pour les raisons susmentionnées, il est important de détecter la synthèse d'IAA chez les rhizobactéries en tant que biopromoteurs potentiels de la croissance des plantes.

L'analyse du rôle de l'AIA montre que les bactéries utilisent cette phytohormone pour établir des interactions avec les plantes dans le cadre de leur stratégie de colonisation

notamment la phytostimulation et l'intervention dans les mécanismes de base de défense des plantes (Moustaine *et al.*, 2017) (Figure 4).

L'AIA peut être utilisée à la fois comme inhibiteur et comme stimulateur. La quantité d'AIA requise pour favoriser la croissance des plantes est fortement influencée par les types de plantes et de bactéries (Rehman *et al.*, 2020). 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. 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).



**Figure 4 :** Rôle de l'AIA dans l'amélioration de la croissance végétale (Moustaine *et al.*, 2017)

#### 2.1.4.2. Gibbérelline (GA)

Les gibbérellines 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). Parmi les bactéries, la caractérisation des gibbérellines a été signalé pour la première fois chez

*Rhizobium méniloti* puis chez différents genres bactériens qui peuplent le système racinaire de la plante, à savoir *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Agrobacterium*, *Clostridium*, *Burkholderia*, et *Xanthomonas* (Joo *et al.*, 2009). Le rôle des AG a également été signalé dans la diminution du stress thermique (Kang *et al.*, 2015).

#### 2.1.4.3. Cytokinine (CK)

Cette hormone végétale joue un rôle crucial dans divers processus de développement, y compris la dominance apicale, la germination des graines, le développement des fleurs et des fruits, l'allongement des racines et le développement vasculaire), la division cellulaire, l'initiation et la croissance des pousses, la sénescence des feuilles, l'absorption des nutriments et la nodulation des racines (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). 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, qui conduit à la stimulation de la croissance des plantes.

En plus, ces PGPR peuvent atténuer l'effet du stress par la production des cytokinines comme pour le cas de *Bacillus subtilis* qui a diminué le stress hydrique chez les plantes de *Platyclus orientalis* (Liu *et al.*, 2013).

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

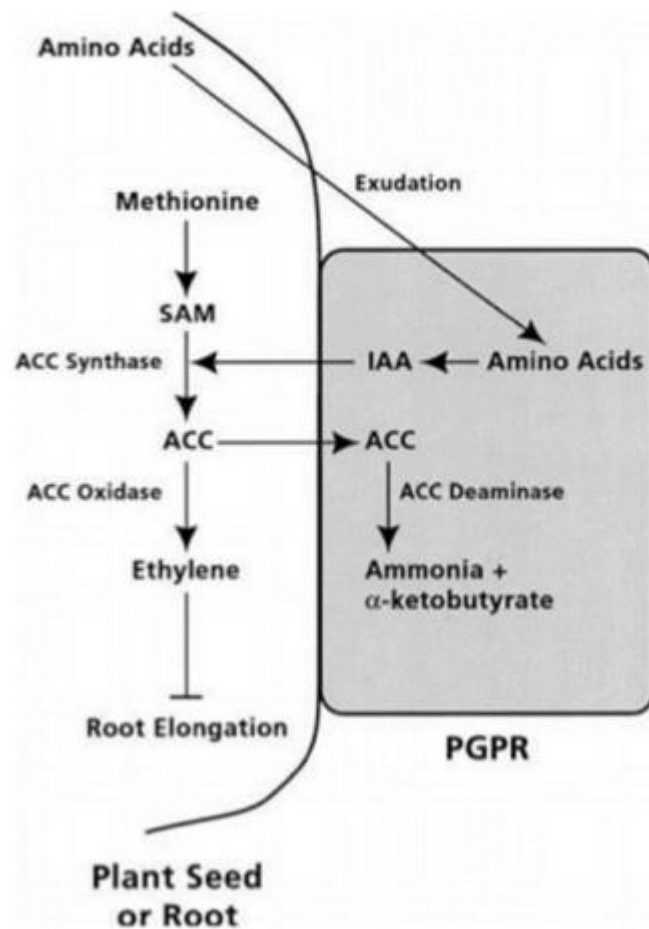
Le 1-AminoCyclopropane-1-Carboxylate (ACC) est le précurseur de l'éthylène, une phytohormone bien connue. En réponse à une infection pathogène, les plantes accumulent plusieurs hormones, y compris l'éthylène, qui active les stress comme le stress oxydatif et la carence nutriments, entraînant une diminution de croissance, ce qui aboutit finalement à la mort des plantes (Premachandra *et al.*, 2016).

La capacité de certains PGPR 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.

L'ACC désaminase joue un rôle bien connu dans la régulation de l'hormone végétale éthylène, sa présence a été largement signalée chez de nombreuses espèces bactériennes comme *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* isolés de la rhizosphère de différents sols ou de différentes plantes. L'ACC désaminase peut réduire ou prévenir certains effets nocifs des niveaux élevés d'éthylène. De même, il agit sur l'ACC et la dégrade en  $\alpha$ -cétobutyrate et en ammonium.



L'éthylène est surproduit en réponse aux stress abiotiques et biotiques, provoquant l'inhibition de la croissance des racines, inhibant ainsi la croissance globale des plantes (Kumar et Dubey, 2012) (Figure 5).



**Figure 5:** Mécanisme d'action de l'ACC désaminase sur la production de l'éthylène par la plante sous stress abiotiques (Glick et al., 1998).

## 2.2. Mode indirect

### 2.2.1. Synthèse des antibiotiques et des enzymes lytiques

L'utilisation de rhizobactéries antagonistes permet de synthétiser une gamme de composés antimicrobiens et d'enzymes qui présentent une activité lytique pour inhiber, éliminer la croissance de divers phytopathogènes dans la rhizosphère des plantes (Liu *et al.*, 2017).

Les bactéries des genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sont en tête de ces études, et plusieurs antibiotiques produits par ces PGPR ont été rapportés, tels que : le 2,4-diacétylphloroglucinol, l'acide phénazine-1-carboxylique, la phénazine-1-carboxamide, la pyolutéorine, la pyrrolnitrine, l'oomycine A, la viscosinamide, les butyrolactones, la kanosamine, la

zwittermicine A, aérugine, rhamnolipides, cépaciamide A, écomycines, acide pseudomonique, azomycine et cépafungines.

En cas d'enzymes lytiques, des chitinases, des cellulases et des glucanases à activité antagoniste ont été signalés dans la dégradation des parois cellulaires (Villarreal-Delgado *et al.*, 2018). Cette action des enzymes lytiques, protège les plantes contre plusieurs pathogènes tels que les champignons pathogènes comme *Sclerotiumrolfsii*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*. Les antibiotiques et les enzymes lytiques possèdent une activité antagoniste contre des phytopathogènes, des virus, des insectes et des helminthes spécifiques et présentent une action phytotoxique, antioxydante, cytotoxique et antitumorale (Martínez-Absalon *et al.*, 2014).

### 2.2.2. Compétition dans la rhizosphère

La rhizosphère est un microenvironnement hautement compétitif car les micro-organismes qui l'habitent, rivalisent pour obtenir les nutriments exsudés par les racines des plantes et occuper les meilleurs espaces et niches. La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance.

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par des bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les microorganismes pathogènes et, par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997). Cependant, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est pas considérée comme une règle générale.

### 2.2.3. Résistance systémique induite (ISR)

De nombreuses PGPR sont capables de déclencher une résistance systémique induite (ISR *Induced Systemic Resistance*) chez la plante hôte, ce qui confère à la plante une résistance contre les pathogènes, même certains insectes et les nématodes. L'ISR est phénotypiquement similaire à la SAR (Résistance systémique acquise). Les voies d'inductions de la SAR et l'ISR sont différentes, même si toutes deux se basent sur la transmission d'un signal conduisant à l'activation d'un ensemble de mécanismes de défense.

Les évènements moléculaires associés à l'ISR sont de mieux en mieux connus. Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (Glazebrook *et al.*, 2003). Cependant, une résistance systémique et mise en alerte de la plante,

lors d'une éventuelle attaque par un pathogène, la plante sera en mesure de répondre plus efficacement à l'agression, lui conférant ainsi une résistance.

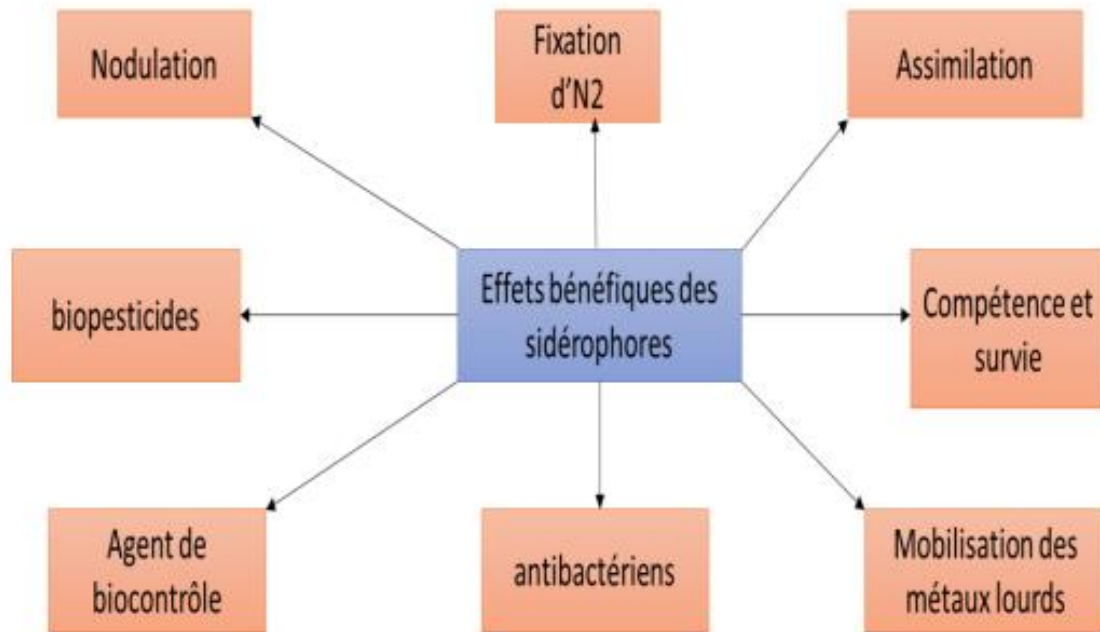
### 2.3. Composés à double activité (directe et indirecte)

#### 2.3.1. Sidérophores

Le fer est l'un des éléments les plus abondants sur terre ; cependant, il n'est pas biodisponible sous toutes ses formes. Le fer est l'un des composants importants de la croissance et du développement des plantes, en particulier la respiration, la fixation de l'azote et la photosynthèse. Bien qu'il existe à la surface de la terre en grand nombre, les plantes l'obtiennent rarement. Par exemple, l'ion ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) est la forme la plus abondante mais aussi la moins assimilable par les plantes (Taylor et Konhauser, 2011).

Par conséquent, la carence en Fe dans les cultures agricoles est un problème mondial. Pour compenser cette carence, divers organismes, dont des bactéries et des plantes bénéfiques, produisent des sidérophores qui leur permettent d'acquérir le Fe sous différentes formes organiques et inorganiques présentes dans le sol. Un autre rôle important des sidérophores produits par les rhizobactéries, est d'augmenter la croissance des plantes, et le biocontrôle.

Klopper *et al.* (1980) ont proposé que la synthèse des sidérophores et la chélation du Fe dans la rhizosphère par les bactéries du genre *Pseudomonas* est un mécanisme qui limite la disponibilité de ce nutriment aux pathogènes potentiels, inhibant ainsi leur croissance. Les sidérophores font l'objet d'applications thérapeutiques agronomiques et environnementales (Figure 6).



**Figure 6 :** Fonctions biologiques des sidérophores (Moustaine *et al.*, 2017).

### 2.3.2. Composés organiques volatils (COV)

Les composés volatils produits par les rhizobactéries jouent également des rôles différents et importants dans la communication. (Bitas *et al.*, 2013). Ryu *et al.* (2003) ont démontré le rôle des composés volatils, principalement le 2,3-butanediol et l'acétoïne, produit par des bactéries bénéfiques dans la promotion de la croissance d'*Arabidopsis thaliana*.

Les COV ont différentes fonctions, y compris des mécanismes directs et indirects pour la promotion de la croissance des plantes. Par exemple, les composés acide cyanhydrique (HCN), disulfure de diméthyle (DMSD) et N, N-diméthylhexadécylamine (DMHDA) sont de puissants inhibiteurs de la croissance du mycélium phytopathogène et présentent simultanément des activités favorisant la croissance des plantes (Rojas-Solís *et al.*, 2018).

De même, les rôles des composés volatils rhizobactériens en tant qu'initiateurs de réponses de défense chez les plantes ont été rapportés. La plupart des composés émis sont spécifiques à l'espèce, mais certains mélanges volatils se chevauchent chez les rhizobactéries telles que *Pseudomonas* et *Stenotrophomonas* (Rojas-Solís *et al.*, 2018).

### 3. Caractéristiques d'une PGPR idéal

Une souche rhizobactérienne est considérée comme une PGPR si elle possède des caractères favorisant la croissance des plantes lors de l'inoculation. La souche doit répondre aux critères suivants (Vejan, 2016) :

- coloniser les racines des plantes en nombre significatif lors de l'inoculation.
- favoriser la croissance des plantes.
- présenter un large spectre d'action.
- être compatible avec les autres bactéries de la rhizosphère.
- être tolérante aux facteurs physico-chimiques tels que la chaleur, la dessiccation, les radiations et oxydants.
- démontrer de meilleures compétences compétitives par rapport aux communautés rhizobactériennes existantes dans la rhizosphère.

### 4. Effet des PGPR sur la croissance végétale

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes exercés par les PGPR dont le mode d'action est direct ou indirect. 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 métabolisme tandis que les mécanismes indirects, en général, sont ceux qui se produisent en dehors des plantes. Sur la base de leurs activités (Somers *et al.*, 2004).

#### 4.1. Rendement

L'augmentation et la qualité de la productivité agricole est indispensable. Les applications des PGPR sont les pratiques les plus fiables offrant de meilleurs rendements des cultures agricoles. Les souches *Pseudomonas* BA et *Bacillus* OSU-142 appliquées sur les feuilles et les fleurs des pommiers ont considérablement amélioré le rendement, la superficie de la section transversale du tronc (de 13,3 à 118,5%), le poids des fruits (4.2 à 7.5%), la longueur des tiges (de 20,8 à 30,1 %), et le diamètre des tiges (9,0 à 19,8%) par rapport au témoin. Le poids moyen des fruits de tomate par plante traitée avec *Rhodopseudomonas* sp (82,7 g) est supérieur par rapport au témoin non inoculé. La teneur en lycopène dans la tomate mûre a augmenté de 48,3% avec l'application de *Rhodopseudomonas* sp. (Lee *et al.*, 2008).

#### 4.2. Enracinement des boutures

Plusieurs facteurs physiologiques et environnementaux influencent la formation des racines, les traitements exogènes des boutures étant particulièrement important (Couvillon, 1998). L'utilisation des PGPR comme *A. rubi*, *B. subtilis*, *B. gladii*, *P. putida*, *B. megaterium*, *B. simplex*, *P. polymyxa*, et *Comamonas acidovorans* ont montré leur efficacité à obtenir des pourcentages élevés d'enracinement des kiwis (Ercisli *et al.*, 2003), de la vigne (Kose *et al.*, 2003), des roses, de la pistache, du thé, et de la menthe (Kaymak *et al.*, 2008).

#### 4.3. Absorption des nutriments

Les PGPR sont considérées comme une composante pour le maintien de la nutrition adéquate des plantes. Les PGPR pourraient favoriser l'absorption des nutriments, réduire ainsi la nécessité de l'apport d'engrais et prévenir l'accumulation de nitrates et de phosphates dans les sols agricoles (Yang *et al.*, 2009). Le phosphore et l'azote sont les nutriments majeur-clé limitant la croissance des plantes. (Kumar, 1999). En outre, certaines PGPR améliorent l'absorption de ces éléments nutritifs en favorisant le développement des racines (Mantelin, 2004) par la production de phytohormones (Kloepper *et al.*, 2007).

# ***Chapitre III :***

***Méthodes utilisées pour la  
caractérisation des PGPR***

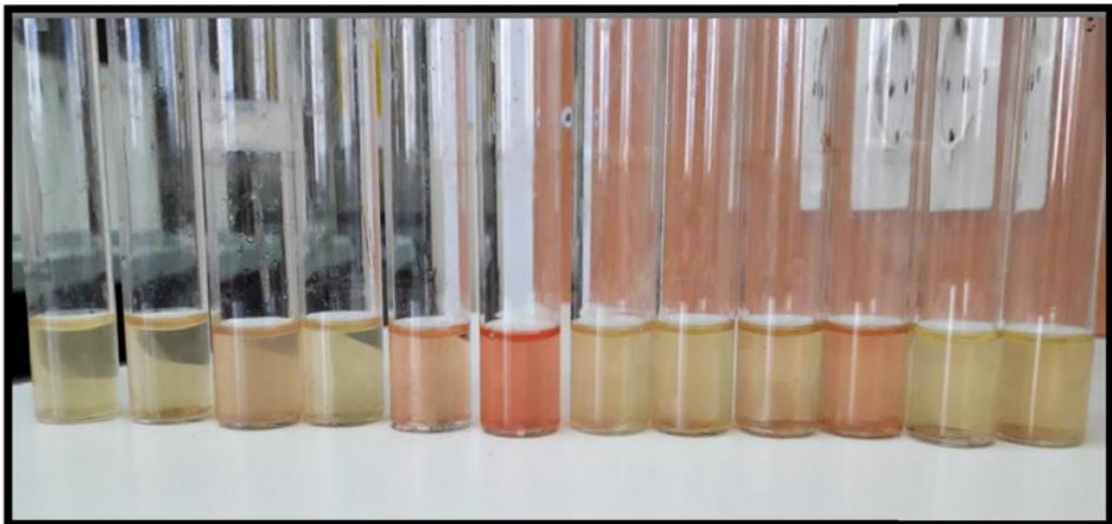
En plus de la pré-identification des souches bactériennes et une attribution approximative au genre approprié, une évaluation méthodique des qualités qualifiant les PGPR pourrait être effectuée afin de pouvoir distinguer les PGPR les plus performantes en biofertilisation, en phytostimulation et en biocontrôle.

## 1. Production de l'acide indole acétique (AIA)

### 1.1 Estimation de la production d'AIA

La production d'auxines est testée sur gélose LB (Lysogeny broth) (Annexe 01) auquel est ajouté 5 ml de L-tryptophane, 1% de glycérol, et 6% de SDS. Le milieu nutritif a été recouvert de disques de papier Whatman n°1 (90 mm de diamètre), puis incubées à 30°C pendant 48 h. Le papier est, ensuite, imprégné de réactif de Salkowski (2% de FeCl<sub>3</sub> à 0.5M dans 35% d'acide perchlorique).

L'apparition d'une couleur rose rouge, après 30 minutes de réaction, est l'indication de la production d'AIA (Figure 7). Cette réaction positive explique l'aptitude de la bactérie à métaboliser le L-tryptophane en AIA ou en d'autres composés analogues.



**Figure 7:** Production de l'AIA par les rhizobactéries sur milieu liquide

### 1.2. Quantification de l'AIA

La quantification de l'AIA par dosage colorimétrique est évaluée selon le protocole décrit par Loper et Scroth (1986). Pour cela, un volume de 20 µl d'une culture fraîche (Absorbance à 600nm = 0.7) est inoculé dans 10 ml du LB liquide et additionné de L-tryptophane (1 g/L). La



culture bactérienne est incubée à 30°C et à l'obscurité pendant 72 heures sous agitation permanente à 150 rpm.

Après séparation des cellules par centrifugation (5000 g/10 min), 1 ml du surnageant est mélangé à 2 ml de réactif de Salkowski (voir estimation de la production d'AIA). Après 20 min de réaction à température ambiante, la densité optique (DO) est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre sur une longueur d'onde de 535 nm. Les valeurs obtenues sont converties en taux d'auxine par le biais d'une courbe d'étalonnage, préalablement établie à partir d'une série de solution de concentration en AIA (Sigma-Aldrich) dans un intervalle de 0 à 10<sup>-5</sup> M. Le développement d'une coloration rose est l'indicateur de la production d'AIA.

## 2. Solubilisation de la phytate

Un milieu spécifique (NBRIP) (Annexe 1), contenant le phytate comme seule source de phosphore, puis chaque bactérie est ensemencé en strie sur une boîte de Pétri contenant ce milieu. Ce traitement permet de voir si la bactérie est capable de dégrader le phytate. Les boîtes sont ensuite, mises dans l'étuve à une température de 28°C jusqu'à deux semaines.

Ces bactéries représentent un moyen important pour solubiliser le phytate présent dans le sol et le rendre accessible à la plante. Un micro-organisme ne pourra pousser sur un milieu ne contenant que le phytate 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). Ce test est un test quantitatif.

## 3. La solubilisation du phosphate

La solubilisation de phosphate inorganique est déterminée qualitativement sur la gélose Pikovskaya (Annexe 1), additionné de tricalcium phosphate comme une source de phosphate insoluble. Les souches sélectionnées promotrices de la croissance sont inoculées dans l'eau distillée stérile pendant un intervalle de temps de 5 minutes, pour l'élimination des débris du milieu de conservation. Ensuite, un volume de 10µl de la suspension bactérienne est inoculé dans un puit sur la gélose Pikovskaya, ensuite incubée à une température de 30°C pendant 7 jours.

Une lecture positive de la solubilisation du phosphate se manifeste par la formation d'une zone claire autour des colonies, la formation des zones claires sur la gélose de Pikovskaya, peut être expliquée par la libération des molécules de phosphates à partir de tricalcium phosphate. Le développement des zones claires sur la surface de la gélose est observé après 4

jours d'incubation à une température 30°C. La mesure de l'index de solubilisation du phosphore est effectuée selon la formule suivante :

- $SI = (\text{diamètre de la colonie} + \text{diamètre de la zone claire}) / \text{Diamètre de colonie}$
- SI : Index de solubilisation

#### 4. Production de sidérophores sur milieu liquide et solide

La production de sidérophores testée en milieu Chrome Azurol S (CAS) sous sa forme solide et liquide (Schwyn et Neilands, 1987).

##### 4.1. Production de sidérophores sur milieu liquide

Le milieu King B liquide, étant donné sa composition exempte de fer, est préconisé pour mettre en évidence la production de sidérophores. L'ensemencement du milieu par 100 µl des cultures et incubé à 30°C / 3 jours. Ensuite les cultures sont centrifugées à 5000 rpm /20min puis 500 µl du surnageant sont mélangés à 500 µl de la solution CAS incubé, 30 min à l'obscurité. La couleur virera du bleu à l'orange selon le taux de production des sidérophores.

La DO est mesurée par spectrophotométrie à 630 nm. Le pourcentage des sidérophores est calculé selon la formule suivante :

- $(St-Se)/St \times 100$
- St : DO de la solution CAS de couleur bleue intense (témoin).
- Se : DO de la solution de l'échantillon de couleur moins bleue à orange selon l'intensité de production.

##### 4.2. Production de sidérophores sur milieu solide

La culture sur milieu gélosé contenant du chrome azurol S (CAS) permet de détecter la sécrétion de sidérophores par les microorganismes (Schwyn et Neilands, 1987). Le principe est que le milieu de culture possède initialement une couleur bleue due au complexe fer-CAS hexadécyl triméthyl ammonium (complexe Fer/CAS/HDTMA) qui vire au rouge-orangé suite au déplacement du fer par le sidérophore produit par le microorganisme (Bertrand, 2009). Le milieu préconisé pour la production des sidérophores sur milieu solide est le milieu King B, qui est ensemencé par un spot de 2 µl de la culture bactérienne et incubé à 30°C/48 h. Après croissance, 15 ml de la gélose au CAS à 45°C (solution CAS + 0.9% agarose) coulés sur la culture bactérienne.

Après contact de quelques heures, un changement de couleur du bleu à l'orange apparaît autour de la colonie productrice des sidérophores. Le changement de couleur est dû au transfert

des ions ferriques du CAS vers les sidérophores. Le calcul du rapport diamètre de halo diamètre de la colonie fongique ou bactérienne permet de comparer les différences de production entre les souches fongiques ou entre les souches bactériennes.

### 5. Fixation d'azote

Afin de sélectionner les bactéries fixatrices d'azote, ces dernières sont cultivées à 30°C pendant 48 h, sur milieu solide exempté d'azote « Burk's N-free » (Annexe 01), Selon le protocole de Park *et al.* (2005). Toute croissance sur ce milieu traduit la capacité des bactéries à fixer l'azote.

### 6. Dosage de l'activité nitrate réductase

L'activité nitrate réductase est détectée par ensemencement des souches en milieu liquide NFB (Nitrogen Free Broth), contenant une concentration de 1g/L de nitrate (Annexe 1), Ainsi, des tubes contenant 10 ml du milieu de culture liquide sont ensemencés avec une colonie bactérienne fraîche de chaque souche. Puis l'ensemble des tubes ont été incubés pendant 2 jours à 28 °C sous agitation, après croissance, l'absorbance des différentes cultures est mesurée à une longueur d'onde de 620 nm.

La révélation de la présence de la nitrate réductase a été réalisée par addition des réactifs Griess 1 et Griess 2 déjà préparé (Annexe1, solution A et B). L'apparition d'une coloration rose indique que le nitrate a été réduit en nitrite, la coloration rose indique la présence de nitrite dans le milieu.

Un résultat négatif nécessite l'addition d'une pincée de zinc métallique, si le milieu ne change pas de coloration, nous disons que la bactérie possède l'enzyme nitrate réductase, par contre l'apparition d'une couleur rose confirme que la bactérie n'a pas la capacité de réduire le nitrate en nitrite donc elle ne possède pas cette enzyme (Beringer, 1974).

### 7. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

La production d'HCN par les souches bactériennes est testée sur milieu solide « KingB » dans lequel on ajoute de la glycine (4.4 g/l) selon la méthode de Lorck (1948). Du papier Whatman n°1 (90 mm de diamètre), imprégné d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium) est déposé à l'intérieur des boîtes de Pétri contenant la culture bactérienne. Ces dernières sont scellées au parafilm et gardées en position inverse dans l'étuve à 30°C/4 jours. Elles sont vérifiées quotidiennement afin d'identifier les souches

HCN<sup>+</sup>. L'apparition d'une couleur orange à rouge traduit la production d'HCN par la bactérie productrice.

### 8. Production d'ammoniac (NH<sub>3</sub>)

La production de NH<sub>3</sub> est sur le milieu BK131 (Annexe 1). La suspension bactérienne de 2 ml a été incubée à 30°C/3jours/150.rpm. L'accumulation de l'ammoniac a été détectée par l'addition de 0.5 ml de réactif de Nessler (1,75g KI +2,5g HgCl<sub>2</sub> +4g NaOH +25ml H<sub>2</sub>O) dans chaque culture bactérienne donnant une couleur jaune à orange (Bakker *et al.*, 1987).

L'aspect du milieu après incubation à 30°C et l'ajout du réactif de Nessler, apparaît en couleur jaunâtre ou orange (Figure 8).



**Figure 8 :** Résultats de quelques isolats à produire l'ammoniac (NH<sub>3</sub>)

La production d'ammoniac par les bactéries est l'un des mécanismes impliqués dans la lutte contre les champignons phytopathogènes (Kavitha *et al.*, 2013). Elle est considérée comme une caractéristique importante des rhizobactéries améliorant indirectement la croissance des plantes.

# *Conclusion*

La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes et soumise à leur influence directe. La libération des composés organiques par les racines (rhizodéposition) favorise la multiplication des micro-organismes (bactéries, champignons microscopiques). De nombreuses interactions sont observées entre la plante et les microorganismes ou entre les microorganismes eux-mêmes. Certaines sont bénéfiques comme par exemple la symbiose entre légumineuses et *Rhizobium* qui permettant à la plante de fixer l'azote, mais il existe également des bactéries pathogènes pour la plante.

Certaines bactéries de la rhizosphère appelées PGPR (Bactéries promotrices de la croissance des plantes) agissent de façon direct ou indirect sur l'amélioration de la croissance et le développement des végétaux à travers la production de métabolites impliqués directement dans leur fonctionnement, le bio contrôle de la plante par la diminution des effets délétères des phytopathogènes, en synthétisant des antibiotiques spécifiques, des enzymes lytiques, etc.

Les PGPR peuvent aussi offrir des applications intéressantes en agriculture telles que : l'accroissement du rendement, réduction de l'utilisation des engrais chimiques et produits phytosanitaires, lutte biologique par les biopesticides et amélioration de la santé des plantes.

*Références  
bibliographiques*

**Afzal A, Bano A. (2008).** *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticumaestivum*). International Journal Of Agriculture & Biology, 85-88.

**Agronutrition (2022).** Infos & usages sur les biofertilisants en agriculture [en ligne]. (Page consultée le 21/06/2022). <http://www.biofertilisants.fr/comprendre-les-biofertilisants/>

**Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. (2008).** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol Res 163:173–181

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

**Bakker P, van Peer R, Schippers B. (1987).** Specificity of siderophore receptors and biocontrol by *Pseudomonas* spp. In: Biological control of soil-borne plant pathogens.

**Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. (2005).** Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: Buscot F, Varma A, editors. microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. Berlin, Heidelberg: Springer-verlag.

**Bazot S. (2005).** Contribution à l'étude de l'allocation des photoassimilats récents dans la plante et la rhizosphère chez une graminée pérenne (*Lolium perenne* L.). Thèse de doctorat en science, Institut National Polytechnique de Lorraine :201.

**Beauchamp CJ. (1993).** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. Phytoprotection. 74(1) :19-27.

**Beringer J E. (1974).** R factor transfer in *Rhizobium leguminosarum*. J Gen Microbiol 84:188–198.

**Bertin Cecile, Xiaohan Yang, Leslie A, Weston. (2003).** The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere, Plant and Soil 256: 67–83.

**Bertrand JC, Caumette P, Lebaron P, Matheron R, Normand P. (2011).** Écologie microbienne : microbiologie des milieux naturels et anthropisés, Ed. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour : 190-194.

**Bertrand S. (2009).** Les sidérophores de *Scedosporium apiospermum* : identification, synthèse et applications (Doctoral dissertation).

**Binenbaum J, Weinstain R, Shani, E. (2018).** Gibberellin localization and transport in plants. Trends Plant Sci. 23: 410–421.

**Bitas V, Kim HS, Bennett JW, Kang S. (2013).** Sniffing on microbes: diverse roles of microbial volatile organic compounds in plant health. Mol Plant-Microbe Interact 26:835–843

**Burgmann H, Widmer F, Von Sigler W, Zeyer J. (2004).** New molecular screening tools for analysis of free-living diazotrophs in soil Appl Environ Microbiol, 70:240-247.



- Chang F T, Tao W, Li J W, Tian X H, Wen F C, Chun T G, Jin G, Wen X. C.(2008).** *Rhizobium fabae* sp. nov., a bacterium that nodulates *Vicia faba*, Systematic and evolutionary Microbiology. 58: 2871–2875.
- Charest M, Beauchamp C, 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.
- Clémentine L. (2013).** Etude des interactions plantes-microbes et microbes microbes, au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale :18.
- Couvillon GA. (1998).** Rooting Responses to Different Treatments. Acta Hort. 227: 187-196.
- Dey R, Pal K, Bhatt D, Chauhan M. (2004).** Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. MicrobioRes. 159: 371-394.
- Downie J. (2005).** Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. CurrBiol.15: 6.
- Ercisli S, Esitken A, Cangiet R, Sahin F. (2003).** Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. Plant Growth Regul.41:133–137.
- Fischer Sonia E, Edgardo C, Paula V, Francisco J, Gutierrez Manero Gladys, Mori B . (2009).** Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi. Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU, Boadilla del Monte, Madrid, Espana
- Garcia L. J, Schloter M, Durkaya T, Hartmann A, Gutierrez-Maero F. (2003).** Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. BiolFertil Soils 37(6): 381-385
- Germida J, Siciliano S D, de Freitas J R, Seid A M.(1998).** Diversity of root-associated bacteria associated with held-grow canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L) FEMS Microbiol.Ecol.26:43-50.
- Gholami A, Biyarib A, Ghilipour M, AsadiRahmani H.(2012).** Growth promotion of maize (*zea mays* L.)By plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. Communications in soil science and plant analysis, 43:1263-1272.
- Glazebrook J, Chen W, Estes B, Chang H, Nawrath C, Metraux J, Zhu T, Katagiri F. (2003).** Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. Plant J. 31: 217–228.
- Glick B R, Penrose D M, LI J. (1998).** A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. Journal of theoretical biology, 190 :63-68.

- Glick B R. (2012).** Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and applications. In: Scientifica. Octobre 2012. Vol. 2012:1-15.
- Gopalakrishnan S, Sathya A, Vijayabharathi R, Varshney R K, Gowda C L, Krishnamurthy L. (2015).** Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *Biotechnologie*, 5:355-377.
- Hill Joseph, Richardson James, Eva van Rooij, Lillian B, Xiaoxia Qi, Eric N. (2007).** Control of Stress-Dependent Cardiac Growth and Gene Expression by a MicroRNA. Vol. 316, Issue 5824, DOI: 10.1126/science.1139089 : 575-579.
- Hoft M, Vos P. (2006).** Plant pathogenic *Peusomonas* species. Dans Plant Association Bacteria PART 3, Springer, Pays-Bas: 507-533
- Horner-Devine M C, Leibold M A, Smith V H, Bohannan B J M. (2003).** Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters* 6(7): 613-622.
- Joo G J, Kang S, Hamayun M, Kim C, Shin D, Lee I J. (2009).** *Burkholderia* sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. *J Microbiol.* 47:167–171.
- Jordan D. (1984).** *Rhizobiaceae*. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1. The Williams & Wilkins, Co., Baltimore: 234-245.
- Kang S, Khan A, Waqas M, You Y, Hamayun M, Joo G. (2015).** Gibberellin-producing *Serratia nematodiphila* PEJ1011 ameliorates low temperature stress in *Capsicum annuum* L. *Eur. J. Soil Biol.* 68: 85–93.
- Kavitha T, Nelson R, Jesi S. (2013).** Screening of rhizobacteria for plant growth promoting traits and antifungal activity against charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina*, *Int. J. Pharm. Bio Sci.* 4: 177-186.
- Kaymak HC, Yarali F, Guvenc I, Donmez M F. (2008).** The effect of inoculation with plant growth rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Menthapiperita* L.) cuttings. *Afr. J. Biotechnol.* 7:4479–4483.
- Kloepper J W, Lifshitz R, Zablutowicz R M. (1989).** Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 39-43.
- Kloepper J, Schroth M. (1981).** Development of a Powder Formulation of Rhizobacteria for Inoculation of Potato Seed Pieces, *Phytopathology.* 71:590-592.
- Kloepper JW, Gutierrez-Estrada A, McInroy A. (2007).** Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 53:159–167.
- Kloepper JW, Ryn C, Zhang S. (2004).** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* sp. *Phytopathol.*, 94: 1259-1266.
- Kose C, Guleryuz M, Sahnet F, Demirtas I. (2003).** Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting of grapevine rootstocks. *Acta Agrobot.* 56:47–52.

- Kumar P, Dubey R. (2012).** Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of *Phaseolus vulgaris*. *Current Perspectives in Applied Microbiology*, 1: 6-38.
- Lemanceau P. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie*, 12 :413-437.
- 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.
- Liu K, Newman M, McInroy JA, Hu CH, Kloepper JW. (2017).** Selection and assessment of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of multiple plant diseases. *Phytopathology* 107:928–936
- Maheshwari D, Dheeman S, Agarwal M. (2015).** “Phytohormone producing PGPR for sustainable agriculture,” in *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*, edD. Maheshwari (Cham: Springer): 159–182.
- Mantelin S, Touraine B. (2004).** Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *J. Exp. Bot.* 55:27–34.
- Martínez-Absalón S et al. (2014).** Potential use and mode of action of the new strain *Bacillus thuringiensis* UM96 for the biological control of the grey mould phytopathogen *Botrytis cinerea*. *Biocontrol Sci Tech* 24:1349–1362
- Meena B R, Maurya J, Verma P. (2014).** Does a rhizospheric microorganism enhance K<sup>+</sup> availability in agricultural soils? *Microbiological Research*. 169: 337-347.
- Moustaine M, Elkahkahi R, Benbouazza A, Benkirane R, Achbani E. (2017).** Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and characterization for direct PGP abilities in Morocco. *International Journal of Environment, Agriculture Biotechnology*, 2: 238-708.
- 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 biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica* 54: 495-508.
- Osugi A, Sakakibara H. (2015).** how do plants respond to cytokinins and what is their importance? *BMC Biol.* 13:120.
- Pawlowski K, Sprent J. (2008).** Comparison between actinorhizal and legume symbiosis. In: **Pawlowski K, Newton W E. (2008).** Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses, Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress. Springer. 6: 261-288.
- Piano S, Neyrotti V, Migheli Q, Gullino M. (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 11(3):131-140.

**Pierson L.S. and Pierson E.A. (2000).** Microbial Gossiping: Signaling in the Rhizosphere. Auburn. University Web Site, Available, <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/pierson2.pdf>, Accessed 24 / 01 / 02

**Plassard C, Robin A, Le Cadre E, Marsden C, Trap J, Herrmann L, Waithaisong K, Lesueur D, Blanchart E, Chapuis-Lardy L, Hinsinger P.(2015).** Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol. *Innovations Agronomiques INRA* .43:115-138.

**Qureshi M, Ahmad Z, Akhtar N, Iqbal A, Mujeeb F, Shakir M. (2012).** Role of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(1): 204-210.

**Rehman F, Kallsoom M, Adnan M, Toor M. (2020).** Plant growth promoting rhizobacteria and their mechanisms involved in agricultural crop production. *Sun Text Review of Biotechnology*, 1: 1-6.

**Rojas-Solís D,Zetter-Salmón E, Contreras-Pérez M, Rocha-Granados MC, Macías-Rodríguez L, Santoyo G. (2018).** *Pseudomonas stutzeri* E25 and *Stenotrophomonas maltophilia* CR71 endophytes produce antifungal volatile organic compounds and exhibit additive plant growth promoting effects. *Biocatal Agric Biotechnol* 13:46–52

**Ryu CM, Farag M, Hu CH, Reddy M, Wei H, Paré PW, Kloepper JW. (2003).** Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. *ProcNatlAcadSci USA* 100:4927–4932

**Saharan BS,Nehra V. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*:21.

**Schwyn B, Neilands J B. (1987).** Universal chemical assay for the detection and determination of sidérophores. *Analytical Biochemistry*.160(1):47-56.

**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.

**Somers E, VanderleydenJ,Srinivasan M. (2004).** Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol*, 304:205-240.

**Souza R, Ambrosini A, Passaglia L. (2015).** Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. In: *Genetics and MolecularBiology*. 2015. Vol. 38 :401 – 419.

**Stengel P, GelinS.(1998).** *Sol : interface fragile, France : Inra. Ed: 214.*

**Taylor KG, Konhauser KO. (2011).** Iron in Earth surface systems: a major player in chemical and biological processes. *Elements* 7:83–88.

**Trevors J T, VanElsas J D.(1997).** Microbial Interactions in soil. In: VanElsasJ d, TrevorsJ.T.&WellingtonE.M.H.(eds)*Modem soil microbiology*. Marcel Dekker, INC newYork:215-243.

**Vejan P, AbdullahR,Khadiran T, Ismail S, Nasrulhaq Boyce A. (2016).** Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability. *Molecules*, 21:573.

**Vessey K. (2003).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. In : *Plant and soil*. Vol. 255: 571-586.

**Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, de los Santos-Villalobos S. (2018).** The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Rev Mex Fitopatol* 36:95–130.

**Yang J, Kloepper JW, Ryu CM. (2009).** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14:1–4.

**Yuan C, Mou C, Wu W, GuoY-B.(2011).** Effect of different fertilization treatments on indole-3-acetic acid producing bacteria in soil. *J Soils Sediments* 11: 322-329.

**Zaidi A, Ahmad E, Khan M S, Saif S, Rizvi A.(2015).** Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. In: *Scientia Horticulturae*. Septembre 2015. Vol. 193: 231-239.

## Annexes

## Annexe 1. Milieux de culture

Pikovskaya Agar (compositions par litre)	
Extrait de levure	0.5g
Glucose	10g
Tricalcium phosphate	5g
Sulfate d'ammonium	0.50g
Chlorure de potassium	0.20g
Sulfate de magnésium	0.10g
Sulfate de manganèse	0.0001g
Sulfate de fer	0.0001g
Agar	15g
pH7.2 ± 0.2 à 25°C	

Gélose nutritive (compositions par litre)	
Peptone	5g
Extrait de viande bovine	3g
Agar	15g
pH 7.0 ± 0.2 à 25°C	

Gélose PDA (compositions par litre)	
Agar	20g
Pomme de terre épluchée	200g
Dextrose	20g
pH7.0 ± 0.5 à 25°C	

Milieu succinate : (compositions par litre)	
Acidesuccinique	4g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 6g	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 3g	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1g	
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (traces)	0.2g
pH7.0 ± 0.2 à 25°C	

Milieu « LB » (Bertani, 1951)	
Tryptone	10g/l
Extrait de levure	5g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Agar bactériologique	15g/l
Eau distillée (qsp)	1000ml
PH du milieu 7.2 ± 0.2	

## Annexes

Milieu « NBRIP »(Nautiyal,1999)
Glucose 10g/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> so <sub>4</sub> 1,7g/l
Mgso <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O 0,25g/l
Insp6 5g/l
NaCl 0,2g/l
Kcl0.2g/l
Eau distillée 1000ml
Agar 15g/l
PH 7

Tampon PBS
Kcl0,2g/l
NaCl 8g/l
Na <sub>2</sub> hpo <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> o 3,51g/l
KH <sub>2</sub> po <sub>4</sub> 0,48g/l
Eau distillée 1000ml
pH 7

Eau physiologique
Eau distillée 1000ml
NaCL 9%

Milieu YMA
Mannitol 10g/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,5g/l
MgSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O 0,2g/l
Extrait de levure 0,5g/l
NaCL 0,1g/l
Eau distillée 1000ml
PH 6,8

Milieu « KingB »(King et al.,1954)
Peptone 20g/l
Glycérol 10ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1,5g/l
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O 1,5g/l
Agar 15g/l
Eau distillée 1000ml
PH 7,2

## Annexes

Milieu « King A » (king et al., 1954)
Peptone 20g/l
Glycérol 10ml
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10g/l
MgCl <sub>2</sub> 1,4g/l
Eau distillée 1000ml
Agar 12g/l
PH 7,1

Milieu « Burk's N-free » (Wilson et Knight, 1952)
Phosphate de potassium Monobasique 0,4 g/l
Phosphate dipotassique 0,5 g/l
Sulfate de sodium 0,05 g/l
Chlorure de calcium 0,2 g/l
Sulfate de magnésium (7H <sub>2</sub> O) 0,1 g/l
Sulfate de fer (7H <sub>2</sub> O) 0,005 g/l
MolybD, Ate de sodium 0,003 g/l
Agar bactériologique 15 g/l
Eau distillée (qsp) 1000 ml
pH du milieu 7,0 ± 0,1

Milieu «BK131»
Peptone 10g/l
Chlorure de sodium 5g/l
Phosphate disodique anhydre 3,56g/l
Phosphate monopotassique 1,50g/l
Eau distillée (qsp) 1000 ml

Milieu « PVK » (Pikovskaya, 1948)
Glucose 10 g/L
Extrait de levure 0,5 g/L
Phosphate tricalcique 5 g/L
Sulfate d'ammonium 0,5 g/L
Sulfate de magnésium 0,1 g/L
Chlorure de potassium 0,2 g/L
Agar bactériologique 15 g/L
Eau distillée (qsp) 1000 ml
pH du milieu 7,0 ± 0,2

La gélose nutritive
xtrait de viande 1g/L
Extrait de levure 2.5g/L
Peptone 5g/L
Nacl5g/L
Agar 15g/L
PH 7



Solution phytate (rajouté dans le milieu NBRIP par filtration)
Phytate 3g
Eau distillée 9ML

Réactifs de Salkowski
Eau distillée 27.8ML
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 22.2ML
FeCl <sub>3</sub> 0.6g

Solution d'auxine
Eau distillée 50ML
Auxine 0.2g

Milieu NFB « Nitrogen Free Broth »
Eau distillée 500mL
Acide malique 2.5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0.25g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O 0.1g
NaCl 2H <sub>2</sub> O 0.01g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O 0.005g
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O 0.002g
Fe EDTA 0.0325g
CaCl <sub>2</sub> 0.01g
KNO <sub>3</sub> 0.5g
PH 6.8

Solution de dosage de nitrite:

Solution A
Eau distillée 43.75ML
Solution HCl 6.25ML
N-(1Naphthyle) ethylènediamine 0.01g

Solution B
Eau distillée 43.75ML
Solution HCl 6.25ML
Acide sulfanique 0.5g

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : RAHIM Ines  
FETIMI Feyrouz

## Effets des PGPR et les méthodes utilisées pour leur caractérisation

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en : Ecologie microbienne

### Résumé :

Les rhizobactéries sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère connues sous le terme de PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria ». Elles interviennent positivement sur la croissance des plantes. Cette étude est une revue bibliographique des recherches menées sur les PGPR (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Frankia*, *Rhizobium*, etc.), leur mode d'action et quelques méthodes utilisées pour leur caractérisation. Les PGPR stimulent directement le métabolisme de la plante, en augmentant la biodisponibilité des éléments nutritifs du sol, comme le fer, le phosphore l'azote, et la production des phytohormones (AIA, cytokinines et gibbérellines). Certains PGPR stimulent indirectement la croissance des végétaux par leur effet antagoniste, en produisant des antibiotiques, des enzymes lytiques, ainsi que le contrôle de la croissance des pathogènes par la compétition nutritionnelle (compétition pour le fer). Elles augmentent aussi la résistance des plantes contre les agents pathogènes par l'activation de la résistance systémique induite (ISR pour *Induced Systemic Resistance*). Dans ce travail, certaines méthodes de caractérisation de quelques modes d'action des PGPR ont aussi été décrites.

**Mots clés :** PGPR, rhizosphère, modes d'action des PGPR, méthodes de caractérisation des PGPR.

<b>Encadreur :</b>	RIAH Nassira	(MCA-UFM Constantine 1)
<b>Examineur 1 :</b>	BOULTIFAT Linda	(MCB-UFM Constantine 1)
<b>Examineur 2 :</b>	MEGHNOUS Ouissem	(MAB-UFM Constantine 1)